

AUTOREFERAT

dr n. med. Agnieszka Żuryń

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii

Wydział Lekarski

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Dane kontaktowe:

dr n. med. Agnieszka Żuryń
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Wydział Lekarski
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. Karłowicza 24
85-092 Bydgoszcz
tel.: (52) 585-37-25
fax: (52) 585-37-34
tel. kom.: 510-159-665
e-mail: azurn@cm.umk.pl

Bydgoszcz, 2017

SPIS TREŚCI

1. IMIĘ I NAZWISKO.....	3
2. WYKAZ POSIADANYCH DYPLOMÓW, STOPNI NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH - Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....	3
3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH.....	3
4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART.16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUK.(DZ.U.2016 POZ. 882 ZE ZM. W DZ.U. 2016 POZ.1311.....	3
4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	4
4.2. WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	4
4.3. OPIS MERYTORYCZNY OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDSTAWIONEGO DO OCENY.....	5
4.3.1. ISTNIEJĄCY STAN WIEDZY W ZAKRESIE TEMATU BADAŃ.....	5
4.3.2. PUBLIKACJA NR 1: EXPRESSION OF CYCLIN B1 AFTER INDUCTION OF SENESCENCE AND CELL DEATH IN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA A549 CELLS. ŻURYŃ A, GAGAT M, GRZANKA AA, GACKOWSKA L, GRZANKA A. FOLIA HISTOCHEM CYTOBIOL, 2012; 50: 58-67.....	9
4.3.3. PUBLIKACJA NR 2: EXPRESSION OF CYCLIN A, B1 AND D1 AFTER INDUCTION OF CELL ARREST IN THE JURKAT CELL LINE EXPOSED TO DOXORUBICIN. ŻURYŃ A, LITWINIEC A, GACKOWSKA L, PAWLIK A, GRZANKA AA, GRZANKA A. CELL BIOL INT, 2012; 36: 1129-1135.....	11
4.3.4. PUBLIKACJA NR 3: EXPRESSION OF CYCLIN D1 AFTER TREATMENT WITH DOXORUBICIN IN THE HL-60 CELL LINE. ŻURYŃ A, LITWINIEC A, KLIMASZEWSKA-WIŚNIEWSKA A, NOWAK JM, GACKOWSKA L, MYŚLIWIEC BJ, PAWLIK A, GRZANKA A.: CELL BIOL INT, 2014; 38: 857-867.	12
4.3.5. PUBLIKACJA NR 4: THE EFFECT OF SULFORAPHANE ON THE CELL CYCLE, APOPTOSIS AND EXPRESSION OF CYCLIN D1 AND P21 IN THE A549 NON-SMALL CELL LUNG CANCER CELL LINE. ŻURYŃ A, LITWINIEC A, SAFIEJKO-MROCZKA B, KLIMASZEWSKA-WIŚNIEWSKA A, GAGAT M, KRAJEWSKI A, GACKOWSKA L, GRZANKA D.: INT J ONCOL, 2016; 48: 2521-2533.....	13
4.3.6. PUBLIKACJA NR 5: EXPRESSION OF CYCLIN A IN INTESTINAL BIOPSIES FROM CHILDREN WITH CELIAC DISEASE. GRZANKA A, SZAFLARSKA-POPŁAWSKA A, ŻURYŃ A, GRZANKA D.: NEOPLASMA, 2008; 55: 507-512.....	15
4.3.7. PUBLIKACJA NR 6: CYKLINY JAKO MARKERY CHOROÓB NOWOTWOROWYCH. STENZEL A, ŻURYŃ A, GRZANKA AA, GRZANKA A.: NOWOTWORY, 2012; 62: 27-34.....	15
4.3.8. PODSUMOWANIE.....	16
5. PREZENTACJA POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ W PRACY NAUKOWO-BADAWCZEJ.....	18
5.1. OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA.....	18
5.2. OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA.....	19
6. PLANY BADAWCZE NA PRZYSZŁOŚĆ.....	21
7. PIŚMIENNICTWO.....	22
8. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO.....	29

1. IMIĘ I NAZWISKO

Agnieszka Żuryń

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

2007	stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu tytuł rozprawy doktorskiej: „ <i>Ekspresja cykliny A w komórkach linii białaczek ludzkich HL-60 i K-562 po indukcji apoptozy wybranymi cytostatykami</i> ” promotor: prof. dr hab. n. med. Alina Grzanka
1997	magister biologii, Uniwersytet Szczeciński w Szczecinie, Wydział Nauk Przyrodniczych

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH

2007 – obecnie	Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; adiunkt
2004 – 2007	Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; asystent
2002 – 2004	Zakład Biologii Eksperymentalnej, Akademia Bydgoska im. Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy; asystent
1998 - 2002	Katedra i Zakład Genetyki Klinicznej, Akademia Medyczna im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy; starszy technik

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART.16 UST.2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM (DZ.U.2016 POZ. 882 ZE ZM. W DZ.U. 2016 POZ.1311)

4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

„Zmienność ekspresji wybranych białek cyklu komórkowego w różnych liniach komórek nowotworowych traktowanych chemioterapeutykami” na podstawie cyklu 6 wybranych publikacji (IF = 8,871; MNiSW = 86,000)

4.2. WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

1. **Żuryń A**, Gagat M, Grzanka AA, Gackowska L, Grzanka A. Expression of cyclin B1 after induction of senescence and cell death in non-small cell lung carcinoma A549 cells. *Folia Histochem Cytobiol*, 2012; 50: 58-67. **(IF=1,101; MNiSW = 15,000)**
2. **Żuryń A**, Litwiniec A, Gackowska L, Pawlik A, Grzanka AA, Grzanka A. Expression of cyclin A, B1 and D1 after induction of cell arrest in the Jurkat cell line exposed to doxorubicin. *Cell Biol Int*, 2012; 36: 1129-1135. **(IF = 1,640; MNiSW = 15,000)**
3. **Żuryń A**, Litwiniec A, Klimaszewska-Wiśniewska A, Nowak JM, Gackowska L, Myśliwiec BJ, Pawlik A, Grzanka A. Expression of cyclin D1 after treatment with doxorubicin in the HL-60 cell line. *Cell Biol Int*, 2014; 38: 857-867. **(IF = 1,933; MNiSW = 15,000)**
4. **Żuryń A**, Litwiniec A, Safiejko-Mrocza B, Klimaszewska-Wiśniewska A, Gagat M, Krajewski A, Gackowska L, Grzanka D. The effect of sulforaphane on the cell cycle, apoptosis and expression of cyclin D1 and p21 in the A549 non-small cell lung cancer cell line. *Int J Oncol*, 2016; 48: 2521-2533. **(IF = 3,018; MNiSW = 25,000)**
5. Grzanka A, Szaflarska-Popławska A, **Żuryń A**, Grzanka D. Expression of cyclin A in intestinal biopsies from children with celiac disease. *Neoplasma*, 2008; 55: 507-512. **(IF = 1,179; MNiSW = 10,000)**
6. Stenzel A, **Żuryń A**, Grzanka AA, Grzanka A. Cykliny jako markery chorób nowotworowych. *Nowotwory*, 2012; 62: 27-34. **(MNiSW = 6,000)**

4.3. OPIS MERYTORYCZNY OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDSTAWIONEGO DO OCENY

4.3.1. ISTNIEJĄCY STAN WIEDZY W ZAKRESIE TEMATU BADAŃ

Cykl komórkowy umożliwia proliferację, czyli pomnażanie liczby komórek. Proces ten polega na replikacji materiału genetycznego, a następnie jego rozdzieleniu do dwóch komórek potomnych. Jednym z najważniejszych zadań podczas cyklu jest utrzymanie stabilności genetycznej w czasie powstawania nowych komórek. Rolą skomplikowanej maszyny enzymatycznej cyklu, jest duplikacja chromosomów, ich ewentualna naprawa oraz rozdział do nowej generacji komórek. Jednym z kluczowych elementów zapewniających prawidłowy przebieg tego procesu są cykliny, które stanowią podjednostki regulatorowe odpowiadających im katalitycznych partnerów, czyli kinaz zależnych od cyklin (CDKs, *ang. cyclin-dependent kinases*), (Suryadinata i wsp., 2010).

Cykliny łącząc się z CDKs regulują ich aktywność i specyficzność substratową. W ostatnich latach rodzina cyklin i CDKs znacząco się powiększyła i w każdej z tych grup możemy znaleźć ponad 20 białek, które w zależności od aktualnej fazy cyklu komórkowego pełnią odmienne role. Powtarzająca się aktywacja i dezaktywacja kompleksów cyklin i kinaz jest ściśle regulowana, a mechanizmy kontroli obejmują interakcję z inhibitorami cyklu, lokalizację wewnątrzkomórkową oraz ściśle określony czas w jakim cykliny są syntezowane i degradowane (Wolgemuth i wsp., 2013). Badania nad czterema głównymi klasami cyklin – cyklinami A, B, D i E, pozwoliły na opracowanie klasycznego modelu cyklu komórkowego, w którym każdy kompleks kinaza/cyklina jest aktywowany w odpowiedniej fazie cyklu. W ciągu ostatnich dwóch dekad stan wiedzy na temat cyklin i kinaz cyklinozależnych znacznie się powiększył. Oprócz powszechnie znanej roli tych białek w regulacji cyklu komórkowego, należy wymienić ich dodatkowe funkcje, takie jak udział w śmierci komórek, ich metabolizmie i różnicowaniu, a także w transkrypcji genów i naprawie uszkodzeń DNA (Hydbring i wsp., 2016). Cykl komórkowy rozpoczyna się po otrzymaniu przez komórkę sygnału mitogenowego, który poprzez czynniki transkrypcyjne uruchamia syntezę cyklin typu D, stanowiących swoisty łącznik pomiędzy środowiskiem komórek, a pozostałymi elementami regulującymi. Cykliny D łączą się z kinazami CDK4/6, a następnie fosforylują białka pRb, p107 i p130. Te z kolei wiążą się do

czynnika transkrypcyjnego E2F, regulując jego działanie, co pozwala na syntezę kolejnych białek niezbędnych do progresji cyklu. Cykliny E (E1 i E2) aktywują z kolei CDK2 oraz w mniejszym stopniu CDK1 i CDK3, co powoduje, że kontynuowana jest defosforylacja czynnika E2F i inicjowana jest ekspresja cyklin mitotycznych. Aktywacja cykliny A2 łączącej się w fazie S z CDK2 zapewnia natomiast wierną replikację DNA, a cyklina B1 w interakcji z CDK1 zapewnia prawidłowy przebieg procesu mitozy (Lim i Kaldis, 2013).

W związku z rolą jaką pełnią kompleksy cyklin i zależnych od nich kinaz w promowaniu przejścia przez cykl komórkowy, ich amplifikacje, rearanżacje genetyczne oraz nieprawidłowa ekspresja obserwowane są w niemal wszystkich typach nowotworów. Przykładowo, gen kodujący cyklinę D1 (*CCND1*) jest drugim najczęściej amplifikowanym locus w chorobach nowotworowych. To wszystko sprawia, że cykliny i ich kinazy stanowią obiecujący cel terapii przeciwnowotworowej (Beroukhim i wsp., 2010; Musat i wsp., 2010; Malumbres i Barbacid, 2009). Brak prawidłowej kontroli nad przebiegiem cyklu komórkowego stanowi cechę charakterystyczną nowotworów i może być spowodowany zarówno przez zbyt niską ekspresję białek supresorowych, jak również nadekspresję czynników promujących proliferację (protoonkogenów). Do protoonkogenów zaliczyć możemy te cykliny i CDKs, których nadekspresja i ciągła aktywacja powoduje niekontrolowaną proliferację, co prowadzi do niestabilności genomowej, a w konsekwencji do nieprawidłowego przebiegu mitozy związanego z nieefektywnie działającymi mechanizmami naprawy DNA i kontroli replikacji (Casimiro i wsp., 2012). W licznych pracach wykazano zmieniony profil ekspresji cyklin oraz podjęto próby wykorzystania cyklin jako markerów pozwalających określić stadium zaawansowania chorób nowotworowych, ich możliwy przebieg i rokowania. W płaskonabłonkowym raku przełyku pokazano m.in., że komórki z wysoką ekspresją cykliny B1 charakteryzowały się mniejszym zróżnicowaniem, większą inwazyjnością oraz naciekaniem nowotworu w kierunku naczyń krwionośnych, a tym samym wyższą śmiertelnością wśród pacjentów (Murakami i wsp., 1999). Inni badacze sugerują przydatność oceny ekspresji cykliny D1 w powyższym nowotworze. Wykazano, że wysoka ekspresja cykliny D1 korelowała z ryzykiem wystąpienia odległych przerzutów, zmniejszając całkowite przeżycie pacjentów oraz czas wolny od wznowy nowotworowej. Stąd, na podstawie poziomu ekspresji cykliny D1 w powiązaniu ze

stopniem zaawansowania nowotworu i poziomem zróżnicowania komórek możliwe jest oszacowanie ryzyka wystąpienia pooperacyjnych odległych przerzutów (Hou i wsp., 2016). Badania nad cykliną D1 sugerują również, że może być ona także potencjalnym markerem choroby resztkowej u pacjentów znajdujących się w IV stadium nerwiaka płodowego, nowotworu umiejscowionego w brodawce Vatera, czy w płaskonabłonkowym nowotworze części ustnej gardła (Cheung i wsp., 2007; Chang i wsp., 2007; Yu i wsp., 2005).

Zatrzymanie cyklu komórkowego, któremu towarzyszy indukcja śmierci stanowi jeden z kluczowych elementów odpowiedzi komórek na różne egzo- i endogenne czynniki stresowe. Do dziś zidentyfikowano wiele rodzajów śmierci komórkowej, m. in. apoptozę, nekrozę, autofagię, czy katastrofę mitotyczną. Jednakże pierwszy z nich został najlepiej poznany, a jego indukcja jest najbardziej pożądana w praktyce klinicznej (Horbay i Stoika, 2011; Stępień i wsp., 2007). W chorobach nowotworowych, w wyniku nadekspresji czynników antyapoptotycznych i obniżonej aktywności białek proapoptotycznych, obserwuje się zaburzenia apoptozy, co pozwala na kontynuowanie proliferacji komórek pomimo uszkodzenia genomu. Istnieje coraz większa liczba dowodów wskazujących na to, że elementy odpowiedzialne za regulację śmierci komórkowej oraz kontrolujące cykl komórkowy przenikają się, tworząc skomplikowaną sieć powiązań, w której role poszczególnych białek mogą się zmieniać w zależności od stanu fizjologicznego komórek oraz warunków środowiskowych. Już wczesne badania wykazały, że ekspresja białek pro- i antyapoptotycznych może być regulowana poprzez szlak pRb/E2F (Dick i Rubin, 2013). W zależności od zastosowanego modelu *in vitro*, nadekspresja cyklin może promować apoptozę lub proliferację komórek. Wykazano, że ektopowa ekspresja cykliny D1 w różnych liniach komórkowych prowadziła do indukcji śmierci komórek, uwrażliwiając je na działanie cytostatyków (Roué i wsp., 2008; Niu i wsp., 2001; Kranenburg i wsp., 1996). Z kolei w białaczkowych limfocytach T, wyciszenie ekspresji cykliny D3 skutkowało indukcją apoptozy (Choi i wsp., 2012). Została także udowodniona bezpośrednia interakcja pomiędzy CDKs i cyklinami, a białkami regulującymi proces apoptozy. W białaczce z komórek płaszcza, cyklina D1 wiąże się z proapoptotycznym białkiem Bax i powoduje jego sekwestrację w cytoplazmie. Z kolei CDK4 oddziałuje z inhibitorem apoptozy – surwiwiną. W wyniku wspomnianej interakcji białko p21, związane wcześniej w kompleksie CDK4/cyklina D1, zostaje

uwolnione i hamuje mitochondrialną prokaspazę 3, co zapobiega aktywacji ścieżki apoptozy związanej z białkiem Fas (Suzuki i wsp., 2000). W związku z tym, że wiedza na temat zaangażowania cyklin w proces apoptozy była niekompletna, postanowiłam podjąć badania zmierzające do wyjaśnienia roli tych białek w śmierci komórek. Na uwagę zasługuje opisana w publikacji mojego autorstwa (Żuryń i wsp., 2007), proapoptotyczna rola cykliny A w linii komórek białaczkowych HL-60 traktowanej doksorubicyną i etopozydem. Z kolei Huang i wsp. (2006), wykazali, że kompleks cyklina E/CDK2 wpływa na śmierć komórki poprzez fosforylację czynnika FOXO1, co skutkuje zwiększoną ekspresją proapoptotycznych białek Fas i Bim. Ponadto, wskazuje się, że cyklina E może także promować przeżycie poprzez fosforylację antyapoptotycznego czynnika MCL-1 (*ang. myeloid leukaemia cell differentiation protein*).

Pomimo nielicznych bezpośrednich dowodów istnieje uzasadnione przypuszczenie, że cykliny i kinazy są konstytutywnymi elementami szlaku kierującego komórki na drogę śmierci apoptotycznej. W badaniach *in vitro* wielokrotnie obserwowano, że zatrzymanie cyklu komórkowego i późniejsza apoptoza związane są ze zmianami w profilu ekspresji cyklin. Przykładowo, w komórkach raka wątroby traktowanych kantarydyną, wykazano korelację obniżonej ekspresji cykliny D1, zwiększonej ekspresji cyklin A2 i B1 oraz zmniejszonej fosforylacji CDK1 z zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie G2/M, obniżeniem frakcji komórek w fazie G1/S oraz indukcją apoptozy (Le i wsp., 2016). W innym badaniu oceniono wpływ APPs (*ang. Auricularia polytricha polysaccharides*) na komórki linii A549 i pokazano, że zwiększające się dawki związku hamowały proliferację komórek i syntezę DNA. Ponadto zaobserwowano zatrzymanie komórek w fazie G0/G1. Wykazano zwiększającą się ekspresję białek p53 i p21 oraz zmniejszającą się ekspresję cyklin A i D, a także CDK2. Indukcja apoptozy związana była z uwolnieniem cytochromu c oraz aktywacją kaspazy 9 i 3. Skuteczność APPs potwierdzono również w badaniach *in vivo* na modelu mysim (Yu i wsp., 2014). Ponadto, w komórkach raka piersi traktowanych kardanołem odnotowano zwiększoną ekspresję kinaz ERK, JNK oraz p38 MAPK, co skutkowało podwyższonym poziomem białka p21 i zmniejszoną ekspresją cykliny D1. Obserwowano również zatrzymanie komórek BT-474 w fazie G1 cyklu komórkowego. W przypadku traktowania powyższych komórek doksorubicyną, zaobserwowano

zależność zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G2/M ze zwiększoną ekspresją E2F1, p21, cykliny A oraz CDK6 i CDK2 (Buahorm i wsp., 2015). Dodatkowo, liczne badania wykazały, że niski poziom cyklin A i B, może również być wyznacznikiem indukcji starzenia. Komórki linii białaczkowych traktowane doksorubicyną wykazywały podwyższony poziom cykliny A, której ekspresja była niezbędna do zainicjowania procesu apoptozy. Natomiast wyciszenie cykliny A powodowało zmniejszenie wrażliwości komórek na winkrystynę (Jackson i Pereira-Smith, 2006; Wang i wsp., 2009; Ehrhardt i wsp., 2011). Z kolei w komórkach raka żołądka traktowanych tymokwinonem (TQ, ang. *Thymoquinone*) zwiększona fosforylacja STAT3 korelowała z obniżoną ekspresją cykliny D, Bcl-2 i surwiwiny, a skuteczność TQ została potwierdzona na modelu mysim (Zhu i wsp., 2016).

Niejednoznaczne dane, często sprzeczne wyniki dotyczące roli cyklin i kinaz cyklinozależnych w indukcji śmierci komórki, a także prawdopodobny udział tych białek w odpowiedzi na zastosowane związki, skłonił mnie do zbadania w jaki sposób zmiana ulega profil ekspresji wybranych cyklin, po traktowaniu linii nowotworowych substancjami o aktywności cytotoksycznej. Cykl prac przedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne, omawia udział cyklin w kontekście zmian ich funkcji z białek regulujących cykl komórkowy do białek zaangażowanych w zatrzymanie cyklu komórkowego, bądź indukcję śmierci komórek.

4.3.2. PUBLIKACJA NR 1: EXPRESSION OF CYCLIN B1 AFTER INDUCTION OF SENESCENCE AND CELL DEATH IN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA A549 CELLS. ŻURYŃ A, GAGAT M, GRZANKA AA, GACKOWSKA L, GRZANKA A. FOLIA HISTOCHEM CYTOBIOL, 2012; 50: 58-67.

Celem niniejszej pracy była ocena ekspresji cykliny B1 w komórkach linii niedrobnokomórkowego raka płuca A549 po traktowaniu niskimi dawkami doksorubicyny (DOX) w aspekcie ich starzenia i śmierci. W badaniach ujętych w przedstawionej publikacji sprawdzono również czy dłuższy czas regeneracji komórek po traktowaniu przyczyni się do bardziej stabilnego procesu starzenia. W odpowiedzi na DOX zaobserwowano m.in. indukcję różnych rodzajów śmierci oraz cechy starzenia w komórkach A549. Wykazano wyraźny wzrost odsetka komórek w fazie G2/M cyklu, a także odsetka komórek poliploidalnych w dawkach 50 i 100 nM DOX, jednakże w dawce 200 nM wystąpił widoczny spadek liczby komórek poliploidalnych, co może tłumaczyć bardziej efektywne zatrzymanie komórek w fazie G2/M lub wzrost

odsetka komórek umierających na drodze katastrofy mitotycznej. Podobnie, przy najwyższej dawce doksorubicyny odnotowano najwyższy odsetek komórek TUNEL-pozytywnych. W dawce 50 nM DOX zaobserwowano, że DNA komórek mogło ulec naprawie, natomiast najwyższa dawka indukowała katastrofę mitotyczną. W przedstawionych badaniach odnotowano także zależny od DOX wzrost intensywności fluorescencji cykliny B1, który może być związany z przejściowo podwyższonym poziomem tego białka w konsekwencji indukcji katastrofy mitotycznej po traktowaniu komórek doksorubicyną. Inni badacze sugerują, że poliploidyzacja powiązana z cechami morfologicznymi starzenia pojawiającymi się po uszkodzeniu DNA, może wynikać z degradacji cykliny B1 (Kikuchi i wsp., 2010). Zatrzymanie cyklu komórkowego może być także powiązane ze zmianami w ekspresji cykliny B1, a jedną z przyczyn katastrofy mitotycznej jest przedwczesne wejście w mitozę, jeszcze przed zakończeniem replikacji DNA, co skutkuje nieprawidłową organizacją chromosomów w obecności wysokiej aktywności kompleksu cyklina B1/CDK1 na terenie jądra komórkowego (Chen i wsp., 2006; Borgne i wsp., 2006). Sugeruje się, że nieprawidłowa mitozą może być związana z aktywacją NF- κ B, który zdolny jest do indukcji wysokiego poziomu cykliny B1 (Curry i wsp., 2007). Podwyższony poziom kompleksu cyklina B1/CDK1 wydaje się także kluczowy dla efektywnej apoptozy (Castedo i wsp., 2002). Wykazano, że jądrowa lokalizacja cykliny B1 jest jednym z czynników decydujących o indukcji apoptozy (Porter i wsp., 2003).

W prezentowanej pracy zaobserwowano, że dłuższy czas regeneracji komórek po traktowaniu DOX, odpowiada wzrostowi liczby komórek zatrzymanych w fazie G2/M oraz będących we frakcji poliploidalnej. Tylko w najwyższej dawce leku zatrzymanie cyklu w fazie G2/M było bardziej skuteczne w porównaniu do poliploidii. Pozwala to sugerować, że otrzymane wyniki odzwierciedlają bardziej stabilny program starzenia. Poziom cykliny B1 wzrastał po traktowaniu DOX za wyjątkiem najwyższej dawki (200 nM), co z kolei może sugerować, że cyklina B1 podlega odmiennej regulacji w katastrofie mitotycznej i w procesie starzenia się komórek.

4.3.3. PUBLIKACJA NR 2: EXPRESSION OF CYCLIN A, B1 AND D1 AFTER INDUCTION OF CELL ARREST IN THE JURKAT CELL LINE EXPOSED TO DOXORUBICIN. ŻURYŃ A, LITWINIEC A, GACKOWSKA L, PAWLIK A, GRZANKA AA, GRZANKA A. CELL BIOL INT, 2012; 36: 1129-1135.

W kolejnej z przedstawianych prac oceniono ekspresję cyklin A, B1 i D1 w linii komórkowej Jurkat traktowanej doksorubicyną. Sugeruje się, że nie tylko sama ekspresja cyklin, ale również ich rozmieszczenie są ważnymi regulatorami homeostazy komórkowej (Pontano i Diehl, 2008). Jądrowa akumulacja cykliny B1 może być ważnym czynnikiem wpływającym na losy komórki, podczas gdy jej obecność na terenie cytoplazmy może skutkować niezdolnością do apoptozy (Porter i wsp., 2003). W niniejszej pracy wykazano, że niewłaściwy poziom cykliny B1 może prowadzić do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G2/M oraz do zmian w lokalizacji tego białka po traktowaniu DOX, szczególnie w powiększonych komórkach. Zaobserwowano również niewielki odsetek komórek apoptotycznych w odpowiedzi na DOX, co powiązane zostało z przeważającą cytoplazmatyczną lokalizacją i słabym jądrowym sygnałem cykliny B1. Ekspresja cykliny B1 wzrastała po traktowaniu doksorubicyną i było to skorelowane ze wzrostem odsetka komórek w fazie G2/M. Może to sugerować akumulację nieaktywnej formy cykliny B1 w cytoplazmie. Ponadto odsetki komórek odpowiednio, w fazie G2/M i poliploidalnych wzrastały, co mogło być wynikiem niewystarczającej ilości cykliny B1 w jądrze. Natomiast szczególnie silne cytoplazmatyczne znakowanie cykliny B1 odnotowano w powiększonych komórkach, które prawdopodobnie zatrzymane były w fazie G2/M cyklu komórkowego.

Analiza cytometryczna wykazała istotne statystycznie zmniejszenie odsetka komórek z pozytywnym barwieniem cykliny B1 po traktowaniu DOX w najwyższej dawce oraz wzrost intensywności fluorescencji tejże cykliny we wszystkich dawkach leku.

Analiza pozostałych cyklin wskazała na wzrost intensywności fluorescencji cykliny A we wszystkich dawkach DOX oraz wzrost poziomu cykliny D1, ale tylko po traktowaniu dawką 0,1 μ M. Nadekspresja cykliny D1 po traktowaniu DOX w stężeniu 0,1 μ M wraz ze wzrastającym odsetkiem komórek w fazie G2/M oraz frakcją komórek poliploidalnych, sugerują aktywację punktu kontrolnego fazy G1 w komórkach o niezredukowanej ilości materiału genetycznego, co jest skutkiem nieprawidłowego przebiegu procesu mitozy.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że dokсорubicyna wpływa na zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M, co koreluje ze wzrostem ekspresji cyklin A, B1 i D1 i może być związane z niskim poziomem apoptozy i/lub katastrofy mitotycznej.

4.3.4. PUBLIKACJA NR 3: EXPRESSION OF CYCLIN D1 AFTER TREATMENT WITH DOXORUBICIN IN THE HL-60 CELL LINE. ŻURYŃ A, LITWINIEC A, KLIMASZEWSKA-WIŚNIEWSKA A, NOWAK JM, GACKOWSKA L, MYŚLIWIEC BJ, PAWLIK A, GRZANKA A.: CELL BIOL INT, 2014; 38: 857-867.

W kolejnej pracy analizowano ekspresję cykliny D1 w linii komórkowej HL-60 traktowanej dokсорubicyną. Ekspresja cykliny D1 oraz jej terapeutyczny efekt są często powiązane z progresją cyklu komórkowego i poliploidyzacją komórek linii nowotworowych. W prezentowanej pracy wykazano, że odsetek komórek linii HL-60 w fazie G0/G1 cyklu komórkowego był odwrotnie proporcjonalny do ekspresji cykliny D1, natomiast pozytywną zależność zauważono pomiędzy ekspresją cykliny D1 a zatrzymaniem komórek w fazie G2/M i wzrostem poliploidii, co sugeruje możliwość udziału cykliny D1 w regulacji endoreduplikacji w odpowiedzi na dokсорubicynę. Szczególnie widoczna była dawkozależna korelacja po traktowaniu komórek 0,15 μ M DOX, gdzie najwyższej ekspresji cykliny D1 odpowiadał najwyższy odsetek komórek we frakcji poliploidalnej w odniesieniu do kontroli. Pod wpływem powyższej dawki DOX, komórki o niezredukowanym DNA mogły być szczególnie skłonne do kontynuowania replikacji oraz do tworzenia populacji poliploidalnej. Może to sugerować, że wzrost poziomu cykliny D1 odpowiada lub promuje wejście tych komórek do fazy S i późniejszą ich proliferację, tym bardziej, że w podwójnym barwieniu cyklina D1/jodek propidyny najwyższe poziomy ekspresji cykliny D1 odpowiadały frakcji G2/M, a szczególnie populacji komórek poliploidalnych. Powyższe wyniki potwierdzają nasze prace na liniach komórkowych Jurkat i A549 (Żuryń i wsp., 2012b; Litwiniec i wsp., 2013), gdzie także wykazaliśmy, że poziom cykliny D1 wzrastał w fazie G2/M i w populacji komórek poliploidalnych po traktowaniu DOX.

Ponadto wyniki badań zaprezentowane w niniejszej publikacji wykazały także, że odsetek komórek we frakcji subG1, jak również we wczesnej i późnej apoptozie znacząco wzrastał po traktowaniu DOX. Obserwowano również spadek odsetka

komórek pozytywnych dla cykliny D1 w fazie G0/G1 oraz w fazie S i G2/M po traktowaniu dawką 0,3 μM DOX, co może świadczyć o indukcji śmierci poprzez redukcję frakcji poliploidalnej. Zanotowany wzrost odsetka komórek apoptotycznych i nekrotycznych po traktowaniu komórek 0,15 i 0,3 μM DOX korelował ze spadkiem poliploidii, co może sugerować bardziej efektywną katastrofę mitotyczną i późniejszą śmierć komórki. Analiza cytometryczna wykazała wzrost intensywności fluorescencji cykliny D1 w dawce 0,15 i 0,3 μM DOX. Na poziomie mRNA wzrost ekspresji cykliny D1 obserwowano przy dawce 0,15 μM DOX. Opierając się na prawdopodobnej zależności pomiędzy poziomem cykliny D1, a indukcją poliploidii, może wydawać się, że kluczowe wydarzenia dla pojawienia się poliploidii w następstwie nieprawidłowej mitozy są prawdopodobnie stymulowane przez wysokie poziomy cykliny D1, co mogłoby sugerować zależną od cykliny D1 regulację punktów kontrolnych poliploidii i endoreduplikacji. Powyższe wyniki badań mogą sugerować również, że rola cykliny D1 w śmierci komórek indukowanej DOX jest niejednoznaczna i zależna w szczególności od linii komórkowej oraz zastosowanych dawek leku. Oprócz mechanizmów związanych z regulacją cyklu komórkowego, cyklina D1 może także oddziaływać na ekspresję specyficznych genów determinujących losy komórki, a zatem wpływać na zatrzymanie cyklu komórkowego, proliferację komórek oraz ich śmierć.

Podsumowując obserwacje na temat różnorodnej regulacji ekspresji cykliny D1 w odniesieniu do procesów śmierci komórek, zmienności cyklu komórkowego i poliploidii w linii komórkowej HL-60 po traktowaniu DOX można wnioskować, że zmiany ekspresji cykliny D1 są kluczowe dla modulacji punktu kontrolnego poliploidii.

4.3.5. PUBLIKACJA NR 4: THE EFFECT OF SULFORAPHANE ON THE CELL CYCLE, APOPTOSIS AND EXPRESSION OF CYCLIN D1 AND P21 IN THE A549 NON-SMALL CELL LUNG CANCER CELL LINE. ŻURYŃ A, LITWINIEC A, SAFIEJKO-MROCZKA B, KLIMASZEWSKA-WIŚNIEWSKA A, GAGAT M, KRAJEWSKI A, GACKOWSKA L, GRZANKA D.: INT J ONCOL, 2016; 48: 2521-2533.

W niniejszej pracy oceniono ekspresję cykliny D1 oraz inhibitora cyklu komórkowego białka p21, w komórkach linii A549 poddanych działaniu sulforafanu (SFN, ang. Sulforaphane). Celem pracy była analiza korelacji ekspresji wyżej wymienionych białek z zaburzeniami cyklu komórkowego oraz indukcją śmierci komórki. Badania ujęte w niniejszej pracy wykazały, że odsetek komórek z

pozytywnym znakowaniem cykliny D1 obniżał się po traktowaniu SFN, ale w tym samym czasie intensywność fluorescencji odpowiadająca cyklinie D1 wzrastała w dawce 30 μ M SFN i obniżała się pod wpływem 60 i 90 μ M SFN. Jeśli chodzi o ekspresję kolejnego badanego białka p21, to odsetek komórek z jego pozytywnym znakowaniem wzrastał po traktowaniu komórek SFN. Najwyższy wzrost ekspresji mRNA p21 oraz intensywności fluorescencji odnotowano w dawce 60 μ M SFN i został on powiązany z zaobserwowanym w niniejszych badaniach nieznacznym wzrostem, w stosunku do najwyższej dawki, odsetka komórek w fazie G0/G1. Z kolei po traktowaniu komórek 30 μ M SFN widoczny był wzrost odsetka komórek w fazie G2/M wraz ze spadkiem frakcji poliploidalnej, co wskazuje funkcjonalne zatrzymanie się cyklu komórkowego w fazie G2/M. Aktywację tego punktu kontrolnego cyklu w odpowiedzi na SFN prawdopodobnie można również powiązać z istotnym wzrostem odsetka komórek z pozytywnym znakowaniem dla p21. Bloku G2/M nie odnotowano natomiast w przypadku dwóch najwyższych stężeń zastosowanego związku, przypuszczalnie z powodu nasilonej indukcji śmierci komórki w tych warunkach. Przeważającym rodzajem indukowanej przez SFN śmierci komórek była nekroza oraz w mniejszym stopniu apoptoza. Dodatkowo transfekcja komórek linii A549 siRNA przeciwko cyklinie D1 skutkowała znaczącym obniżeniem frakcji komórek apoptotycznych i nekrotycznych, co sugeruje z kolei, że cyklina D1 może być ważnym wyznacznikiem terapeutycznego oddziaływania SFN w linii komórkowej A549.

We wcześniejszych badaniach wykazaliśmy, że wysokie poziomy cykliny D1 mogą pełnić kluczową rolę w pojawieniu się komórek poliploidalnych w następstwie nieprawidłowej mitozy w liniach A549 i HL-60 (Litwiniec i wsp., 2013; Żuryń i wsp., 2014a). Niektórzy badacze sugerują również, że jedną ze ścieżek poprzez które SFN wpływa na cyklina D1, może być inhibicja NF- κ B, co dowiedziono w modelu raka gruczołu krokowego u myszy (Shankar i wsp., 2008). Ponadto, negatywna regulacja cykliny D1 w komórkach linii HT-29 traktowanych SFN, może być zależna od indukowanego przez SFN stresu oksydacyjnego oraz modyfikowana przez ścieżkę JNK (Shen i wsp., 2006). W badanych przez nas komórkach linii A549 również mógł wystąpić stres oksydacyjny, czego potwierdzeniem są uszkodzenia komórek obserwowane na poziomie mikroskopu elektronowego.

Odmienna regulacja ekspresji białek cyklu komórkowego tj. cykliny D1 i białka p21, była postrzegana tutaj jako wynik traktowania różnymi dawkami SFN. Cyklina D1 wydaje się być ważnym czynnikiem regulującym i determinującym wynik traktowania np. indukcja śmierci w komórkach A549, która była ewidentną odpowiedzią na SFN. Należy podkreślić, że w niniejszej pracy po raz pierwszy przedstawiono udział cykliny D1 w śmierci komórki, szczególnie w indukcji nekrozy w linii komórkowej A549 traktowanej SFN.

4.3.6. PUBLIKACJA NR 5: EXPRESSION OF CYCLIN A IN INTESTINAL BIOPSIES FROM CHILDREN WITH CELIAC DISEASE. GRZANKA A, SZAFLARSKA-POPLAWSKA A, ŻURYŃ A, GRZANKA D.: NEOPLASMA, 2008; 55: 507-512.

Celem niniejszej pracy była analiza ekspresji cykliny A oraz charakterystyka jej dystrybucji w skrawkach biopsyjnych dzieci z podejrzeniem i potwierdzoną celiakią. Materiał badawczy stanowiło 37 skrawków biopsyjnych. 19 z nich pochodziło od pacjentów z potwierdzoną celiakią, 9 od pacjentów z podejrzeniem celiakii i 9 od zdrowych dzieci, które stanowiły grupę kontrolną. Badania oparte na mikroskopii świetlnej (immunohistochemia) i transmisyjnej mikroskopii elektronowej (technika immunozłotowa) posłużyły do określenia ekspresji cykliny A. Zaobserwowano słabą ekspresję cykliny A w skrawkach u pacjentów z celiakią, jednakże zdarzały się też komórki z silnym znakowaniem cytoplazmatycznej cykliny A w pobliżu jądra komórkowego. Natomiast w grupie kontrolnej i pacjentów z podejrzeniem celiakii, cyklina A występowała w rąbku szczoteczki enterocytów, w jądrze oraz w cytoplazmatycznej przestrzeni wokół jądra.

Przeprowadzone badania pokazały, że spadek ekspresji cykliny A oraz zmiana jej lokalizacji mogą być pomocne w ustaleniu końcowej diagnozy celiakii.

4.3.7. PUBLIKACJA NR 6: CYKLINY JAKO MARKERY CHOROÓB NOWOTWOROWYCH. STENZEL A, ŻURYŃ A, GRZANKA AA, GRZANKA A.: NOWOTWORY, 2012; 62: 27-34.

W ostatniej publikacji z powiązanego tematycznie cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący ekspresji wybranych cyklin w komórkach nowotworowych i ich potencjalne wykorzystanie w diagnostyce oraz ocenie inwazyjności nowotworów.

W niniejszej pracy o charakterze poglądowym omówione zostały główne cykliny (A, B, D i E), które wpływają na aktywność proliferacyjną komórek, a ich nieprawidłowa ekspresja jest często obserwowana w transformowanych komórkach. Liczne badania wykazały wzmożoną oraz zmienną ekspresję cyklin w komórkach nowotworowych, stąd ustalenie poziomu ekspresji tych białek może być pomocne w ocenie odpowiedzi na zastosowane leczenie. Zatem wiedza na temat ekspresji cyklin może w przyszłości przynieść konkretne rozwiązania kliniczne.

4.3.8. PODSUMOWANIE

Przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe dotyczy zmienności ekspresji wybranych białek cyklu komórkowego w różnych liniach komórek nowotworowych traktowanych chemioterapeutykami i stanowi cykl 6 prac o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 8,871.

W pierwszej z prezentowanych prac badano ekspresję cykliny B1 w aspekcie starzenia się i śmierci komórek linii niedrobnokomórkowego raka płuca A549 (Żuryń i wsp., 2012a). Po traktowaniu niskimi dawkami doksorubicyny, zaobserwowano zatrzymanie komórek w fazie G2/M oraz wzrost odsetka komórek poliploidalnych, co może świadczyć o zmiennej regulacji punktów kontrolnych cyklu komórkowego. Zmiany poziomu cykliny B1 mogą sugerować jej zróżnicowany udział w regulacji procesu starzenia i katastrofy mitotycznej.

Kolejne przedstawione prace (Żuryń i wsp., 2012b; Żuryń i wsp., 2014a; Żuryń i wsp., 2016a) stanowią publikacje analizujące ekspresję wybranych cyklin w aspekcie indukcji śmierci komórki, ze szczególnym uwzględnieniem cykliny D1. W komórkach linii Jurkat oceniono wpływ DOX na ekspresję cyklin A, B1 i D1. Wykazano, że doksorubicyna powoduje zatrzymanie komórek w fazie G2/M cyklu komórkowego, czemu towarzyszy zwiększona ekspresja cykliny B1 w cytoplazmie, co może wskazywać na akumulację jej nieaktywnej formy. Wzrost odsetka komórek poliploidalnych oraz znajdujących się w fazie G2/M może świadczyć o niewystarczającej do przejścia przez mitozę puli jądrowej cykliny B1. Ponadto, zaobserwowano wzrost intensywności fluorescencji cyklin A i D1. Reasumując, wraz ze wzrostem dawek cytostatyku nastąpił wzrost ekspresji wszystkich badanych cyklin: A, B1 i D1, który może sugerować ich udział w procesie indukcji śmierci komórek na drodze apoptozy i/lub katastrofy mitotycznej oraz w zatrzymaniu cyklu

komórkowego w fazie G2/M. W kolejnej pracy oceniono wpływ DOX na ekspresję cykliny D1 w linii białaczkowej HL-60. Cytostatyk spowodował wyraźne zatrzymanie komórek w fazie G2/M, co korelowało ze zwiększoną ekspresją cykliny D1. Dodatkowo, praca ta wskazuje na prawdopodobną zależność pomiędzy poziomem cykliny D1, a indukcją poliploidii oraz na rolę cykliny D1 w regulacji procesów kontrolnych poliploidii i endoreduplikacji. Wszystkie wyżej wymienione prace stały się podstawą do powstania publikacji, której celem było określenie ekspresji cykliny D1 i białka p21 w linii niedrobnokomórkowego raka płuca (A549) traktowanej SFN. Warto nadmienić, że w niniejszej pracy po raz pierwszy w swoich badaniach zastosowaliśmy metodę siRNA w celu potranskrypcyjnego obniżenia ekspresji cykliny D1. Wykazano, że sulforafan indukuje w linii A549 nekrozę, najprawdopodobniej związaną ze stresem oksydacyjnym. Po traktowaniu SFN obserwowano zróżnicowaną ekspresję cykliny D1 i białka p21, zależną od zastosowanej dawki. Obniżenie poziomu cykliny D1 skutkowało znaczącym zmniejszeniem się odsetka komórek apoptotycznych oraz nekrotycznych, co wskazuje bezpośrednio na decydującą rolę cykliny D1 w realizacji procesów śmierci komórki, w szczególności nekrozy. Ponadto, wynik ten sugeruje możliwość wykorzystania cykliny D1 jako markera odpowiedzi komórkowej na SFN. W skład osiągnięcia habilitacyjnego wchodzi także praca będąca kontynuacją moich wcześniejszych zainteresowań, związanych z cykliną A, analizująca ekspresję tego białka w skrawkach biopsyjnych pobranych od dzieci chorujących na celiakię. Obserwowano zmniejszoną ekspresję cykliny A w skrawkach od chorych w porównaniu do grupy kontrolnej i grupy pacjentów z podejrzeniem choroby. Ponadto ekspresja badanej cykliny była widoczna głównie na terenie cytoplazmy, podczas gdy preparaty kontrolne i z podejrzeniem celiakii wykazywały pozytywną reakcję w jądrze komórkowym, cytoplazmie i rąbku szczoteczkowym enterocytów. W pracy tej wskazano cyklinę A jako dodatkowy czynnik pomocny w ostatecznym stawianiu diagnozy. Ostatnią publikacją z cyklu jest praca przeglądowa dotycząca cyklin jako potencjalnych markerów prognostycznych pozwalających na dokładniejszą diagnozę lub ocenę inwazyjności nowotworu. Omówiono w niej ówczesny stan wiedzy dotyczący ekspresji wybranych cyklin (A, B, D i E) w komórkach nowotworowych i ich potencjalne wykorzystanie w diagnostyce oraz ocenie inwazyjności nowotworów.

Reasumując, na podstawie przeprowadzonych prac eksperymentalnych oraz w konfrontacji z dostępną literaturą, mogę stwierdzić, że w zależności od modelu badawczego, a także od przypadku klinicznego ekspresja badanych przeze mnie białek cyklu komórkowego jest zmienna. Wynika to, że zróżnicowanej biologii poszczególnych nowotworów, w których w różnym stopniu obserwowana jest nieprawidłowa ekspresja białek odpowiedzialnych za homeostazę komórki.

W świetle przeprowadzonych eksperymentów wchodzących w skład niniejszego osiągnięcia, w których wykazano zróżnicowaną rolę poszczególnych cyklin w procesach starzenia się i śmierci komórki, jak również w różnych modelach badawczych, wydaje się, że dalsze bardziej szczegółowe badania poświęcone znaczeniu cyklin w procesach nowotworzenia mogą skutkować istotnymi klinicznymi rozwiązaniami prognostycznymi i diagnostycznymi. Na uwagę zasługuje nie tylko fakt uznania cyklin za markery, na co wskazują przykładowe badania przeprowadzone dla cykliny D1 w niedrobnokomórkowym raku płuca, ale w szczególności istotne znaczenie funkcjonalnej cykliny D1 w indukowanej śmierci komórek linii A549, co zostało wykazane w niniejszym osiągnięciu po traktowaniu sulforafanem. Może to świadczyć o wielu pełnionych równolegle funkcjach oraz o niejednoznacznej roli cyklin w regulacji procesów nowotworzenia i śmierci komórki.

5. PREZENTACJA POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ W PRACY NAUKOWO-BADAWCZEJ

5.1. OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

W 1998 roku podjęłam pracę na stanowisku technicznym w Katedrze i Zakładzie Genetyki Klinicznej, kierowanej przez Panią profesor Olgę Haus. Zajmowałam się badaniami cytogenetycznymi, które wykonywane były w celach diagnostycznych dla dzieci chorych na białaczkę, noworodków z podejrzeniem aberracji chromosomowych oraz dla par z niepłodnością. Efektem mojej pracy były liczne zespołowe doniesienia na konferencjach naukowych. W 2002 roku zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w kierowanym przez Panią profesor Alinę Grzankę Zakładzie Biologii Eksperymentalnej, Akademii Bydgoskiej (obecnie Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy). Pracując tam napisałam pracę przeglądową dotyczącą embriologii, etiologii i epidemiologii ciąży wielopłodowych, ze szczególnym uwzględnieniem ciąży bliźniaczej monozygotycznej (Żuryń, 2003).

Rozpoczęłam także wówczas badania związane z ekspresją białka cyklu komórkowego cykliny A w liniach białaczkowych traktowanych cytostatykami.

W 2004 roku po objęciu przez Panią profesor Alinę Grzankę kierownictwa Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii, Akademii Medycznej w Bydgoszczy (obecnie Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu), zostałam zatrudniona tam na stanowisku asystenta. W tym okresie prowadziłam badania ujęte w mojej rozprawie doktorskiej, a dotyczyły one ekspresji cykliny A w linii białaczek ludzkich HL-60 i K-562 traktowanych doksorubicyną i etopozydem. Podczas prowadzenia badań związanych z rozprawą doktorską, byłam także współautorem kilku prac skupiających się głównie na rearanżacjach zachodzących w cytoszkielecie komórki pod wpływem działania cytostatyków. Celem jednej z prac, była ocena wpływu taksolu na wimentynę i tubulinę w komórkach linii HL-60 i K-562 (Grzanka i wsp., 2005a). Badania wykazały, że w wyniku działania taksolu, reorganizacji ulega nie tylko cytoszkielet aktynowy, ale także wimentyna. Równocześnie obserwowaliśmy zmiany morfologiczne, charakterystyczne dla procesu apoptozy. Praca wskazywała na białka cytoszkieletu jako potencjalne cele molekularne terapii przeciwnowotworowej. W kolejnej pracy badaliśmy wpływ doksorubicyny na ekspresję cykliny A w linii K-562 (Grzanka i wsp., 2005b). Badania ujęte w pracy sugerują o proapoptotycznych właściwościach cykliny A i były inspiracją dla podjętego przeze mnie tematu rozprawy doktorskiej. Kolejna publikacja dotyczyła wpływu taksolu na reorganizację aktyny w linii K-562 (Grzanka i wsp., 2006a). Traktowanie komórek taksolem spowodowało zwiększenie się cytoplazmatycznej puli aktyny, ze szczególnie silnym znakowaniem na obrzeżach komórki. Ponadto, silniejsza jądrowa ekspresja aktyny w komórkach apoptotycznych wskazała na jej udział w reorganizacji chromatyny. Ostatnią publikacją przed osiągnięciem stopnia doktora była praca, badająca wpływ promieniowania UV na cytoszkielet aktynowy w komórkach linii CHO AA8 (Grzanka i wsp., 2006b). Badania dowiodły, że śmierci komórek wywołanej przez promieniowanie oprócz rearanżacji aktyny, towarzyszą także zmiany na poziomie organelli komórkowych.

5.2. OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

W 2007 roku obroniłam rozprawę doktorską zatytułowaną: „Ekspresja cykliny A w komórkach linii białaczek ludzkich HL-60 i K-562 po indukcji apoptozy wybranymi

cytostatykami”, której promotorem była prof. dr hab. Alina Grzanka. 07.02.2007 roku, zgodnie z postanowieniem Rady Wydziału Lekarskiego, Collegium Medicum UMK im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, uzyskałam stopień naukowy doktora nauk medycznych. Po uzyskaniu stopnia doktora, kontynuowałam swoje zainteresowania badawcze dotyczące ekspresji cyklin w liniach nowotworowych.

Poza pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego, byłam autorką i współautorką wielu publikacji i doniesień zjazdowych. Były to zarówno prace oryginalne (Oncol Rep 2007; 17: 1013-1019; Med Biol Sci 2007; 21: 119-125; Central Eur J Biol 2009; 4: 351-361; Folia Histochem Cytobiol 2009; 47: 453-459; Post Hig Med Dośw 2009; 63: 1-7; Med Biol Sci 2010; 24: 49-55; Neoplasma 2010; 57: 41-46; Med Biol Sci 2011; 25: 67-74. Food Chem Toxicol 2012; 50: 3577-3594; Cancer Cell Int 2013; 13: 1-22; Acta Histochem 2014b; 116: 1350-1358; Post Hig Med. Dosw 2015; 69: 1259-1267; Med Biol Sci 2015; 29: 39-46; Acta Histochem 2016b; 118: 537-543; Acta Histochem 2016c; 118: 784-796), jak i prace poglądowe (Post Hig Med Dośw 2008; 62: 110-117; Post Hig Med Dośw 2012; 66: 996-1005; Post Hig Med Dośw 2013; 67: 15-25). Z wyżej wymienionych prac do wyróżniających się mogę zaliczyć publikację będącą efektem badań do pracy doktorskiej. Oceniałam w niej ekspresję cykliny A w linii HL-60 traktowanej doksorubicyną i etopozydem i wykazałam, że białko to może być zaangażowane w szlaki indukcji apoptozy (Żuryń i wsp., 2007; IF=1.597). Kolejną publikacją godną uwagi jest praca, której jestem współautorem, dotycząca wpływu izotiocyjanianów na komórki linii H1299 i A549, różniące się statusem białka p53 (Pawlik i wsp., 2012; IF=3.050). W pracy tej wykazano, że izotiocyjanian fenyloetylu (PEITC) indukuje śmierć komórki w większym stopniu w linii H1299 (p53⁻), niż w linii A549 (p53⁺). Ponadto zaobserwowano reorganizację białek cytoszkieletu α -tubuliny i F-aktyny. PEITC spowodował zanik aktynowych włókien stresowych, degradację tubuliny, najprawdopodobniej związane z indukcją śmierci komórki. W kolejnej pracy badano wpływ trójtlenku arsenu na ekspresję cykliny D1 w komórkach białaczkowej linii Jurkat. Nie stwierdzono znaczących zmian w ekspresji cykliny D1, zaobserwowano natomiast zwiększenie cytoplazmatycznej puli badanego białka wraz ze wzrastającą ilością komórek apoptotycznych, co wskazuje, że zmiana lokalizacji cykliny D1 odgrywa ważną rolę w procesie inicjacji śmierci komórki i może być markerem odpowiedzi komórkowej na leczenie (Żuryń i wsp., 2014b). W dwóch kolejnych

pracach nieprzedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne badano wpływ trójtlenku arsenu na ekspresję cykliny A w liniach komórkowych A549 i Jurkat. W pierwszej z nich obserwowano niską ekspresję badanego białka, a cytostatyk nie zmieniał jej w sposób znaczący (Żuryń i wsp., 2015a). Z kolei w linii Jurkat, po traktowaniu arsenikiem, zauważalny był spadek ekspresji cykliny D1, bez widocznej zmiany w jej lokalizacji, która pozostała głównie jądrowa (Żuryń i wsp., 2015b). Ostatnio ukazała się praca, której celem było zbadanie ekspresji cykliny B1 w linii komórkowej HL-60 traktowanej etopozydem (Żuryń i wsp., 2016b).

Po uzyskaniu stopnia doktora byłam także współautorem 3 prac poglądowych. Dwie z nich (Nowak i wsp., 2008; Klimaszewska-Wiśniewska i wsp., 2013), dotyczyły białek Rho, ich roli w cytoszkiecie oraz w progresji fazy G1 cyklu komórkowego. Ostatnia praca poglądowa dotyczyła kotyniny, głównego metabolitu nikotyny, jako markera pozwalającego ocenić stopień narażenia na dym papierosowy (Nowak i wsp., 2012).

6. PLANY BADAWCZE NA PRZYSZŁOŚĆ

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora habilitowanego planuję poszerzyć tematykę badań o białka Rho, czyli GTP-azy z nadrodziny Ras. Białka te modulują funkcjonowanie struktur cytoszkieletu (rearanżację filamentów aktynowych, mikrotubul), wzrost komórek jak również regulują progresję cyklu komórkowego. GTP-azy Rho, wpływają na ekspresję białkowych regulatorów fazy G1 oraz G1/S. Szczególnie ważne w mojej pracy badawczej będzie wzbogacenie wiedzy na temat wielokrotnie opisywanej w moich publikacjach cykliny D1, tym razem w aspekcie jej powiązań ze szlakiem sygnałowym Rho A, który uczestniczy w pozytywnej regulacji syntezy cykliny D1. Inne białka zaangażowane w proces syntezy cykliny D1, które zamierzam badać to należące także do GTP-az Rho - białko Rac i Cdc42. Szlak sygnałowy Cdc42/Rac stymuluje proteosomalną degradację białka p21.

Innym kierunkiem badań, który planuję realizować w przyszłości jest poszerzenie wiedzy na temat mniej znanych cyklin, takich jak cyklina K oraz Y. Zamierzam, podobnie jak we wcześniejszych doświadczeniach, analizować ich ekspresję w nowotworowych liniach komórkowych traktowanych cytostatykami w aspekcie śmierci komórki i znaczenia w różnych jednostkach chorobowych.

Nadal zamierzam kontynuować współpracę naukową z panią profesor Barbarą Safiejko-Mroczka z University of Oklahoma, Department of Biology (USA), czego dowodem jest nasza ostatnia wspólna publikacja (Żuryń i wsp., 2016a) oraz mój staż naukowy w 2015 roku we wspomnianej wyżej jednostce naukowej. Mam również zamiar nadal współpracować z Katedrą Immunologii CM UMK oraz Katedrą Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii CM UMK.

7. PIŚMIENNICTWO

Beroukhir R, Mermel CH, Porter D, Wei G, Raychaudhuri S, Donovan J, Barretina J, Boehm JS, Dobson J, Urashima M i wsp. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*. 2010; 463: 899-905.

Borgne A, Versteeg I, Mahé M, Studeny A, Léonce S, Naime I, Rodriguez M, Hickman JA, Meijer L, Golsteyn RM. Analysis of cyclin B1 and CDK activity during apoptosis induced by camptothecin treatment. *Oncogene*. 2006; 25: 7361-7372.

Buahorm S, Puthong S, Palaga T, Lirdprapamongkol K, Phuwapraisirisan P, Svasti J, Chanchao C. Cardanol isolated from Thai *Apis mellifera* propolis induces cell cycle arrest and apoptosis of BT-474 breast cancer cells via p21 upregulation. *Daru*. 2015; 23: 55.

Casimiro M, Crosariol M, Loro E, Li Z, Pestell R. Cyclins and cell cycle control in cancer and disease. *Genes cancer*. 2012; 3: 649-657.

Castedo M, Perfettini JL, Roumier T, Kroemer G. Cyclin-dependent kinase-1: linking apoptosis to cell cycle and mitotic catastrophe. *Cell Death Differ*. 2002; 9: 1287-1293.

Chang MC, Chang YT, Sun CT, Chiu YF, Lin JT, Tien YW. Differential expressions of cyclin D1 associated with better prognosis of cancers of ampulla of Vater. *World J Surg*. 2007; 31: 1135-1141.

Chen B, Cheng M, Hong DJ, Sun FY, Zhu CQ. Okadaic acid induced cyclin B1 expression and mitotic catastrophe in rat cortex. *Neurosci Lett*. 2006; 406: 178-182.

Cheung IY, Feng Y, Vickers A, Gerald W, Cheung NK. Cyclin D1, a novel molecular marker of minimal residual disease, in metastatic neuroblastoma. *J Mol Diagn.* 2007; 9: 237-241.

Choi YJ, Hydbring P, Sanda T, Stefano J, Christie AL, Signoretti S, Look AT, Kung AL, von Boehmer H, Sicinski P. The requirement for cyclin D function in tumor maintenance. *Cancer cell.* 2012; 22: 438-451.

Curry CL, Reed LL, Broude E, Golde TE, Miele L, Foreman KE. Notch inhibition in Kaposi's sarcoma tumor cells leads to mitotic catastrophe through nuclear factor-kappaB signaling. *Mol Cancer Ther.* 2007; 6: 1983-1992.

Dick FA, Rubin SM. Molecular mechanisms underlying RB protein function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013; 14: 297-306.

Ehrhardt H, Schrembs D, Moritz C, Wachter F, Haldar S, Graubner U, Nathrath M, Jeremias I. Optimized anti-tumor effects of anthracyclines plus Vinca alkaloids using a novel, mechanism-based application schedule. *Blood.* 2011; 118: 6123-6131.

Grzanka A, Grzanka D, Orlikowska M, Żuryń A, Grzanka A. Estimation of taxol influence on changes in tubulin and vimentin systems in K-562 and HL-60 cell lines by immunofluorescence microscopy. *Neoplasma*, 2005a; 52: 193-198.

Grzanka A, Grzanka D, Żuryń A, Grzanka AA, Safiejko-Mroczka B. Reorganization of actin in K-562 and HL-60 cells treated with taxol. *Neoplasma*, 2006a; 53: 56-61.

Grzanka A, Żuryń A, Styczyński J, Grzanka AA, Wiśniewska H. The effect of doxorubicin on the expression of cyclin A in K-562 leukemia cell line. *Neoplasma*. 2005b; 52: 489-493.

Grzanka AA, Placek W, Grzanka A, Sokołowska-Wojdyło M, Żuryń A. Immunoelectron microscopy in mycosis fungoides and benign dermatoses. *Neoplasma*. 2010; 57: 41-46.

Grzanka D, Domaniewski J, Grzanka A, Żuryń A. Ultraviolet radiation (UV) induces reorganization of actin cytoskeleton in CHO AA8 cells. *Neoplasma*, 2006b; 53: 328-332.

Horbay R, Stoika R. Giant cell formation: the way to cell death or cell survival? *Open Life Sciences*. 2011; 6: 675-684.

Hou X, Liang RB, Wei JC, Xu Y, Fu JH, Luo RZ, He JH, Zhang LJ, Lin P, Yang HX. Cyclin D1 expression predicts postoperative distant metastasis and survival in resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016; 7: 31088-31096.

Huang H, Regan K M, Lou Z, Chen J, Tindall DJ. CDK2-dependent phosphorylation of FOXO1 as an apoptotic response to DNA damage. *Science*. 2006; 314: 294-297.

Hydbring P, Malumbres M, Sicinski P. Non-canonical functions of cell cycle cyclins and cyclin-dependent kinases. *Nat Rev Mol Biol*. 2016; 17: 280-292.

Izdebska M, Grzanka A, Ostrowski M, Żuryń A, Grzanka D. Effect of arsenic trioxide (Trisenox) on actin organization in K-562 erythroleucemia cells. *Folia Histochem Cytobiol*. 2009; 47: 453-459.

Izdebska M, Grzanka D, Gackowska L, Żuryń A, Grzanka A. The influence of Trisenox on actin organization in HL-60 cells. *Central Eur J Biol*. 2009; 4: 351-361.

Jackson JG, Pereira-Smith OM. Primary and compensatory roles for RB family members at cell cycle gene promoters that are deacetylated and downregulated in doxorubicin-induced senescence of breast cancer cells. *Mol Cell Biol*. 2006; 26: 2501-2510.

Kikuchi I, Nakayama Y, Morinaga T, Fukumoto Y, Yamaguchi N. A decrease in cyclin B1 levels leads to polyploidization in DNA damage-induced senescence. *Cell Biol Int*. 2010; 34: 645-653.

Klimaszewska-Wiśniewska A, Nowak JM, Żuryń A, Grzanka A. Udział białek Rho w regulacji postępu fazy G1 cyklu komórkowego. *Postępy Hig Med Dośw*. 2013; 67: 15-25.

Kranenburg O, van der Eb AJ, Zantema A. Cyclin D1 is an essential mediator of apoptotic neuronal cell death. *EMBO J*. 1996; 15: 46-54.

Le AP, Zhang LL, Liu W, Shi YF. Cantharidin inhibits cell proliferation and induces apoptosis through G2/M phase cell cycle arrest in hepatocellular carcinoma stem cells. *Oncol Rep.* 2016; 35: 2970-2976.

Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development.* 2013; 140: 3079-3093.

Litwiniec A, Gackowska L, Helmin-Basa A, Żuryń A, Grzanka A. Low-dose etoposide-treatment induces endoreplication and cell death accompanied by cytoskeletal alterations in A549 cells: does the response involve senescence? The possible role of vimentin. *Cancer Cell In.* 2013; 13: 1-22.

Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer.* 2009; 9: 153-166.

Murakami H, Furihata M, Ohtsuki Y, Ogoshi S. Determination of the prognostic significance of cyclin B1 overexpression in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Virchows Arch.* 1999; 434: 153-158.

Muşat M, Morris DG, Korbonits M, Grossman AB. Cyclins and their related proteins in pituitary tumourigenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010; 326: 25-29.

Niu MY, Ménard M, Reed JC, Krajewski S, Pratt MA. Ectopic expression of cyclin D1 amplifies a retinoic acid-induced mitochondrial death pathway in breast cancer cells. *Oncogene.* 2001; 20: 3506-3518.

Nowak JM, Grzanka A, Gagat M, Żuryń A. The influence of cotinine on the non-small-cell lung cancer line A549. *Post Hig Med Dośw.* 2009; 63: 1-7.

Nowak JM, Grzanka A, Żuryń A, Stępień A. Rodzina białek Rho i ich rola w cytoszkielecie komórki. *Postępy Hig Med Dośw.* 2008; 62: 110-117.

Nowak JM, Grzanka A, Żuryń A, Wroński S, Dybowska-Skarżyńska B. The influence of cotinine on the cell line derived from the urinary bladder transitional epithelium. *Med Biol Sci.* 2010; 24: 49-55.

Nowak JM, Żuryń A, Grzanka A. Kotynina - metabolizm, zastosowanie jako biomarker i wpływ na organizm człowieka. *Postępy Hig Med Dośw.* 2012; 66: 996-1005.

Pawlik A, Szczepanski MA, Klimaszewska A, Gackowska L, Żuryń A, Grzanka A. Phenethyl isothiocyanate-induced cytoskeletal changes and cell death in lung cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50: 3577-3594.

Pawlik A, Szczepański MA, Klimaszewska-Wisniewska A, Gackowska L, Żuryń A, Grzanka A. Cytoskeletal reorganization and cell death in mitoxantrone-treated lung cancer cells. *Acta Histochem.* 2016c; 118: 784-796.

Piechowski R, Grzanka A, Żuryń A. Ocena ekspresji cykliny A w komórkach linii białaczki ludzkiej K-562 po zastosowaniu taksolu. *Med Biol Sci.* 2007; 21: 119-125.

Pontano LL, Diehl JA. Speeding through cell cycle roadblocks: Nuclear cyclin D1-dependent kinase and neoplastic transformation. *Cell Div.* 2008; 3: 12.

Porter LA, Cukier IH, Lee JM. Nuclear localization of cyclin B1 regulates DNA damage-induced apoptosis. *Blood.* 2003; 101: 1928-1933.

Roué G, Pichereau V, Lincet H, Colomer D, Sola B. Cyclin D1 mediates resistance to apoptosis through upregulation of molecular chaperones and consequent redistribution of cell death regulators. *Oncogene.* 2008; 27: 4909-4920.

Shankar S, Ganapathy S, Srivastava RK. Sulforaphane enhances the therapeutic potential of TRAIL in prostate cancer orthotopic model through regulation of apoptosis, metastasis, and angiogenesis. *Clin Cancer Res.* 2008; 14: 6855-6866.

Shen G, Xu C, Chen C, Hebbar V, Kong AN. p53-independent G1 cell cycle arrest of human colon carcinoma cells HT-29 by sulforaphane is associated with induction of p21CIP1 and inhibition of expression of cyclin D1. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006; 57: 317-327.

Stenzel A, Żuryń A, Pawlik A, Grzanka AA. The expression of cyclin B1 in the HL-60 cell line after induction of senescence with doxorubicin. *Med Biol Sci.* 2011; 25: 7-74.

Stepień A, Izdebska M, Grzanka, A. The types of cell death. *Postepy Hig Med Dosw.* 2007; 61: 420-428.

Suryadinata R, Sadowski M, Sarcevic B. Control of cell cycle progression by phosphorylation of cyclin-dependent kinase (CDK) substrates. *Biosci Rep.* 2010; 30: 243-255.

Suzuki A, Ito T, Kawano H, Hayashida M, Hayasaki Y, Tsutomi Y, Akahane K, Nakano T, Miura M, Shiraki K. Survivin initiates procaspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene.* 2000; 19: 1346-1353.

Wang X, Song Y, Ren J. & Qu X. Knocking-down cyclin A(2) by siRNA suppresses apoptosis and switches differentiation pathways in K562 cells upon administration with doxorubicin. *PLoS One.* 2009; 4: e6665.

Wolgemuth DJ, Manterola M, Vasileva A. Role of cyclins in controlling progression of mammalian spermatogenesis. *Int J Dev Biol.* 2013; 57: 159-168.

Yu J, Sun R, Zhao Z, Wang Y. *Auricularia polytricha* polysaccharides induce cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer A549 cells. *Int J Biol Macromol.* 2014; 68: 67-71.

Yu Z, Weinberger PM, Haffty BG, Sasaki C, Zerillo C, Joe J, Kowalski D, Dziura J, Camp RL, Rimm DL, Psyrri A. Cyclin D1 is a valuable prognostic marker in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 1160-1166.

Zhu, WQ, Wang J, Guo XF, Liu Z, Dong WG. Thymoquinone inhibits proliferation in gastric cancer via the STAT3 pathway in vivo and in vitro. *World J Gastroenterol.* 2016; 22: 4149-4159.

Żuryń A, Krajewski A, Litwiniec A, Klimaszewska – Wiśniewska A, Grzanka A. Expression of cyclin A in A549 cell line after treatment with arsenic trioxide. *Post Hig Med Dosw.* 2015a; 69: 1259-1267.

Żuryń A, Krajewski A, Szulc D, Litwiniec A, Grzanka A. Activity of cyclin B1 in HL-60 cells treated with etoposide. *Acta Histochem.* 2016b; 118: 537-543.

Żuryń A, Aspekty embriologii, etiologii i epidemiologii ciąży wielopłodowej ze szczególnym uwzględnieniem ciąży bliźniaczej monozygotycznej. *Ann Acad Med Bydgostiensis*. 2003; 17: 131-134.

Żuryń A, Czołpińska M, Krajewski A, Litwiniec A, Klimaszewska-Wiśniewska A, Grzanka A. Influence of arsenic trioxide on the expression of cyclin A in the Jurkat cell line. *Med Biol Sci*. 2015b; 29: 39-46.

Żuryń A, Gagat M, Grzanka AA, Gackowska L, Grzanka A. Expression of cyclin B1 after induction of senescence and cell death in non-small cell lung carcinoma A549 cells. *Folia Histochem Cytobiol*. 2012a; 50: 58-67.

Żuryń A, Grzanka A, Stępień A, Grzanka D, Dębski R, Smoliński D. Expression of cyclin A in human leukemia cell line HL-60 following treatment with doxorubicin and etoposide: the potential involvement of cyclin A in apoptosis. *Oncol Rep*. 2007; 17: 1013-1019.

Żuryń A, Litwiniec A, Gackowska L, Pawlik A, Grzanka AA, Grzanka A. Expression of cyclin A, B1 and D1 after induction of cell arrest in the Jurkat cell line exposed to doxorubicin. *Cell Biol Int*. 2012b; 36: 1129-1135.

Żuryń A, Litwiniec A, Gagat M, Drzewucka J, Gackowska L, Grzanka A. The influence of arsenic trioxide on the cell cycle, apoptosis and expression of cyclin D1 in the Jurkat cell line. *Acta Histochem*. 2014b; 116: 1350-1358.

Żuryń A, Litwiniec A, Klimaszewska-Wiśniewska A, Nowak JM, Gackowska L, Myśliwiec BJ, Pawlik A, Grzanka A. Expression of cyclin D1 after induction of cell death in the HL-60 cell line. *Cell Biol Int*. 2014a; 38: 857-867.

Żuryń A, Litwiniec A, Safiejko-Mrocza B, Klimaszewska-Wiśniewska A, Gagat M, Krajewski A, Gackowska L, Grzanka D. The effect of sulforaphane on the cell cycle, apoptosis and expression of cyclin D1 and p21 in the A549 non-small cell lung cancer cell line. *Int J Oncol*. 2016a; 48: 2521-2533.

8. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

	Ilość	IF	MNiSW
Publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych	7	3.956	49
Publikacje po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych	24	25,274	310
Łącznie	31	29,230	359

	Web of Science
Całkowita liczba cytowań	119
Indeks H	8

Agnieszka Żurys