

## Autoreferat

### 1. Imię i nazwisko.

Konrad Szychowski

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

**2015** - Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Instytut Zoologii, doktor nauk biologicznych w zakresie biologii (data obrony rozprawy doktorskiej 26.10.2015 – obrona z wyróżnieniem)

**Tytuł pracy doktorskiej:** Mechanizm działania triklosanu w neuronach kory mózgowej myszy w hodowlach *in vitro* (promotor: dr hab. Anna Wójtowicz)

**2011-2015** Studium Doktoranckie Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, studia doktoranckie

**2010-2011** Uniwersytet Jagielloński, podyplomowe studia: Biologia Molekularna

**2008-2011** Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, studia pierwszego stopnia: Biologia Stosowana (licencjat)

**2007-2009** Akademia Górniczo-Hutnicza, kurs przygotowania pedagogicznego

**2005-2010** Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, studia jednolite: Zootechnika specjalność Hodowla Zwierząt (tytuł zawodowy: mgr inż.)

### 3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

**01.10.2017 – do chwili obecnej** – Zakład Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Opolskiego (poprzednia nazwa jednostki Zakład Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego, 01.10.2017 – do chwili obecnej – adiunkt)

**01.06.2015 – do chwili obecnej** – Katedra Chorób Cywilizacyjnych i Medycyny Regeneracyjnej Kolegium Medycznego Wyższej Szkoły Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie (poprzednia nazwa jednostki Katedra Zdrowia Publicznego, Dietetyki i Chorób

Cywilizacyjnych Wydziału Medycznego Wyższej Szkoły Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie, od 01.06.2015 – 31.10.2015 – asystent, 01.11.2015 – do chwili obecnej – adiunkt)

**01.11.2011 – 30.06.2015** – Katedra Biotechnologii Zwierząt Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie (umowa cywilnoprawna).

#### **4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.**

##### **Tytuł osiągnięcia: Badania nad oddziaływaniem peptydu elastynopochodnego VGVAPG z komórkami układu nerwowego**

##### **Wprowadzenie**

Elastyna jest jednym z głównych białek odpowiedzialnym za sprężystość tkanek i tworzącym macierz zewnątrzkomórkową (ECM, ang. *extracellular matrix*). W mózgu, elastyna wraz innymi cząsteczkami - glikozoaminoglikanami, mieliną, kolagenami typu I, III, IV oraz lamininą tworzy zrąb (*stroma*) dla komórek. W środowisku utworzonym przez ECM znajdują się różne populacje komórek układu nerwowego, które wywodzą się z dwóch listów zarodkowych. Neurony i komórki makrogleju - pochodzą z ektodermy, a komórki mikrogleju są pochodzenia mezodermalnego. Neurony z racji swojego metabolizmu, znaczenia w aktywności bioelektrycznej mózgu oraz wrażliwości na czynniki szkodliwe są w istotnym stopniu zależne od różnych populacji komórek makrogleju. Zadaniem ich jest zaopatrywanie neuronów w substancje odżywcze (i inne niezbędne do ich metabolizmu) oraz usuwanie produktów przemiany materii, a w przypadku ich uszkodzenia - naprawa poprzez wytworzenie np. blizny glejowej. Liczne badania wykazały, że układ nerwowy ma kontakt z peptydami powstałymi w wyniku enzymatycznej degradacji elastyny (EDPs ang. *elastin-derived peptides*). EDPs są wykrywane w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF ang. *cerebrospinal fluid*) u zdrowych ludzi i pacjentów po udarze krwotocznym oraz niedokrwiennym. Stężenie EDPs w CSF rośnie ponadto wraz z wiekiem badanych osób. Mimo to, nie zostały podjęte żadne badania mające na celu poznanie mechanizmu działania EDPs w układzie nerwowym. Przedmiotem moich badań było określenie wpływu heksapeptydu (o konserwatywnej sekwencji Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly (VGVAPG)) powstającego w wyniku elastolizy na funkcjonowanie komórek układu nerwowego.

Peptyd VGVAPG jest sekwencją wielokrotnie powtarzająca się i łatwo uwalnianą z elastyny lub EDPs, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych. Jest dobrze

udokumentowane, że sekwencja VGVAPG (samodzielnie lub jako część EDPs) wiąże się z wysokim powinowactwem z białkiem wiążącym elastynę (EBP ang. *elastin-binding protein*), znajdującym się na powierzchni komórki, które powstaje w wyniku procesu alternatywnego składania genu *Glb1*. EBP jest najbardziej znaczącym receptorem dla EDPs i/lub VGVAPG, lecz zidentyfikowano także inne potencjalne receptory dla EDP o mniejszym znaczeniu. Są nimi galektyna-3 oraz integryny  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$ . Dobrze opisano i scharakteryzowano, że po aktywacji receptorów na powierzchni komórki, sygnalizacja molekularna wyzwała aktywację białek G, otwarcie kanałów wapniowych typu L i sekwencyjną aktywację kinaz tyrozynowych takich jak np.: FAK, c-Src, PDGF-R, MEK1/2 czy ERK1/2. Zależnie od badanych komórek/modelu badawczego, aktywacja wymienionych kinaz prowadzi do zróżnicowanych efektów biologicznych - wzrostu proliferacji, nasilenia migracji (a w przypadku nowotworów - inwazyjności) oraz wywołania/nasilenia reakcji zapalnej.

### **Metodyka badawcza**

Badania były prowadzone w warunkach *in vitro* na modelu pierwotnych mysich astrocytów oraz ludzkiej linii komórek neuroblastoma (SH-SY5Y). Astrocyty hodowane były w pożywce DMEM/F12 bez czerwieni fenolowej, suplementowanej 10% bydlęcą surowicą płodową (FBS ang. *fetal bovine serum*) lub surowicą oczyszczoną ze steroidów (Charcoal-Dextran FBS). Komórki linii SH-SY5Y hodowane były w pożywce DMEM/F12 bez czerwieni fenolowej suplementowanej 10% surowicą inaktywowaną cieplnie.

Podczas eksperymentów komórki poddawane były działaniu peptydu o sekwencji VGVAPG lub VVGPGA (peptyd kontrolny o sekwencji przypadkowej, nieaktywującej receptorów dla EDPs). Zależnie od typu eksperymentu wykorzystywane były również różne związki narzędziowe oraz siRNA do wyciszania ekspresji genów. Stosownie do celu badania wykonywane były testy oceny żywotności komórek, aktywacji kaspaz komórkowych, barwienia przy pomocy barwników fluorescencyjnych, ekspresji genów metodą RT-PCR oraz ocena ekspresji białek komórkowych i neurosteroidów metodą ELISA.

Komórki pierwotnych mysich astrocytów zostały pozyskane jako odpad w ramach realizacji projektu NCN nr 2014/13/N/NZ4/04809 i zgody nr. 46/2014 wydanej przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach działającą przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie. Do czasu eksperymentów zgromadzone pierwotne astrocyty były przechowywane w ciekłym azocie. Prawidłowość izolowanych komórek oraz procesu dojrzewania astrocytów *in vitro* potwierdzono przy pomocy barwienia immunochemicznego na obecność GFAP (ang. *glial fibrillary acidic protein*) – zdjęcia i szczegóły zamieszczono w

danych uzupełniających **Pracy 1**.

### **Praca 1:**

**Szychowski K.A.,** Wójtowicz A.K., Gmiński J. Impact of elastin-derived peptide VGVAPG on matrix metalloprotease-2 and -9 and the tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, -3 and -4 mRNA expression in mouse cortical glial cells in vitro. *Neurotox Res.* 2019;35(1):100-110. DOI: 10.1007/s12640-018-9935-x. (<sup>2018</sup>IF:3,311; pkt MNiSW: 70)

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs) i tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs) odgrywają istotną funkcję podczas udaru niedokrwienego oraz krwotocznego mózgu, szczególnie podczas fazy poudarowej, neoangiogenezy i przywracania mózgowego przepływu krwi. Przyjmuje się powszechnie, że jedną z ważniejszych funkcji pełnionych przez MMP-2 i MMP-9 jest degradacja kolagenu typu IV, głównego składnika błon podstawnych, w tym także naczyniowej błony podstawnej. Zdolność do degradacji białek ECM pozwala komórkom regulować migrację oraz aktywnie uczestniczyć w procesie miejscowego wzrostu nowotworu, angiogenezie i powstawaniu przerzutów, a także niszczeniu bariery krew mózg. Ponadto, proteoliza składników ECM przez MMPs nie sprowadza się wyłącznie do niszczenia fizycznych barier. Rozcinając białka macierzy MMPs biorą również udział w przekazywaniu sygnałów z ECM do komórki. Do tej pory u kręgowców odkryto 4 rodzaje tkankowych inhibitorów metaloproteinaz oznaczonych jako TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4. Tkankowe inhibitory metaloproteinaz wpływają hamująco na aktywność MMPs czego skutkiem może być np. rola TIMP-1, TIMP-2 oraz TIMP-3 w redukcji wzrostu guza w procesach nowotworzenia. Ponadto TIMP-2 może ograniczać wzrost komórek śródbłonna. TIMPs biorą także udział w regulacji procesu apoptozy. Dowiedziono, że TIMP-3 ma aktywność proapoptotyczną, w przeciwieństwie do TIMP-1 i TIMP-2, które działają antyapoptotycznie.

Celem pierwszej publikacji było zbadanie wpływu peptydu VGVAPG na ekspresję mRNA *Mmp-2*, *-9* oraz *Timp-1*, *-2*, *-3* i *-4* w pierwotnych astrocytach myszy w warunkach *in vitro*. Pierwszym etapem eksperymentów było określenie wpływu wybranego peptydu VGVAPG na proces apoptozy (mierzony poziomem aktywności kaspazy-3 oraz ciał apoptotycznych) oraz toksyczność (mierzona poziomem uwalnianej dehydrogenazy mleczanowej). Kolejnym etapem było zbadanie ekspresji mRNA genów dla *Mmp-2*, *-9* oraz *Timp-1*, *-2*, *-3* i *-4* po 3 i 6 godzinach ekspozycji na peptyd VGVAPG w układzie z usuniętym genem *Glb1* warunkującym powstawanie EBP.

W przeprowadzonych eksperymentach wykazano, że peptyd VGVAPG nie jest toksyczny i nie wywołuje procesu apoptozy w żadnym z zastosowanych stężeń (1 nM do 100  $\mu$ M). Ponadto, zwiększał on ekspresję mRNA genów dla *Timp-2* i *Timp-3* w sposób zależny od białka EBP. Zmiany w ekspresji mRNA *Mmp-2*, *Mmp-9* i *Timp-4* były częściowo zależne od EBP. Spadek ekspresji mRNA *Timp-1* był całkowicie niezależny od EBP. Uzyskane wyniki sugerują, że VGVAPG może „przygotowywać” komórki glejowe w warunkach *in vitro* na odbiór sygnałów apoptotycznych lub prozapalnych z mikrośrodowiska mózgu. Nie można jednak wykluczyć, że rosnąca ekspresja mRNA *Timp-2*, *Timp-3* i *Timp-4* również ułatwia naprawę mózgu po udarze poprzez zwiększenie proliferacji i/lub różnicowania komórek.

## Praca 2:

**Szychowski K.A.**, Gmiński J.: Impact of elastin-derived VGVAPG peptide on bidirectional interaction between peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppar $\gamma$ ) and beta-galactosidase ( $\beta$ -Gal) expression in mouse cortical astrocytes in vitro. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2019;392(4):405-413. DOI: 10.1007/s00210-018-1591-4. (2018 IF: 2,058; pkt MNiSW: 70)

Receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPARs ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*) są czynnikami transkrypcyjnymi, które należą do rodziny jądrowych receptorów hormonów. Główną ich rolą jest regulacja metabolizmu – insulinooporności, metabolizmu kwasów tłuszczowych oraz utrzymanie homeostazy glukozowej. PPAR $\gamma$  jest najlepiej zbadanym receptorem z rodziny PPARs. Jest to receptor szeroko rozpowszechniony w tkankach. Naturalnym, endogennym ligandem dla PPAR $\gamma$  są wielonienasycone kwasy tłuszczowe (m.in. kwas linolowy, arachidonowy, eikozapentaenowy), ich pochodne np. kwasy 12- i 15-hydroksyeikozatetraenowy czy 9- i 13-hydroksyoktadekadienowy oraz związki związane z prostaglandynami jak 15-deoxy-delta12-14-PGJ2. PPAR $\gamma$  jest zaangażowany m.in. w stymulację różnicowania preadipocytów w insulinowrażliwe adipocyty. Ponadto, zależnie od typu komórek PPAR $\gamma$  może stymulować bądź hamować proces apoptozy. Dodatkowo, aktywowany PPAR $\gamma$  wpływa na ekspresję transportera glukozy GLUT4 w adipocytach, co wpływa korzystnie na transport glukozy. Badania ostatnich lat wykazały, że EDPs mogą regulować rozwój oporności na insulinę u myszy w sposób zależny od Ppar $\gamma$ .

Biorąc pod uwagę kluczową rolę Ppar $\gamma$  w metabolizmie energetycznym komórek, celem drugiej publikacji było określenie wpływu peptydu VGVAPG na ekspresję mRNA i białka receptora Ppar $\gamma$  i beta-galaktozydazy ( $\beta$ -Gal) – powstającej z alternatywnej formy genu *Glb1* tworzącego

również EBP w mysich astrocytach *in vitro*.

Eksperymenty były wykonywane na hodowlach pierwotnych mysich astrocytów w warunkach *in vitro* zgodnie w wcześniej opisaną metodyką. W komórkach badana była podstawowa ekspresja mRNA (3 i 6 godzin) oraz białka (24 i 48 godzin) Ppar $\gamma$  oraz  $\beta$ -Gal po stymulacji 50 nM, 1 i 50  $\mu$ M peptydu VGVAPG. Dodatkowo, przy pomocy siRNA krzyżowo usunięto ekspresję Ppar $\gamma$  oraz  $\beta$ -Gal i ponownie określono ekspresję w/w receptorów. W ostatnim etapie eksperymentów porównywano wpływ peptydu VGVAPG w połączeniu ze znanymi agonistami Ppar $\gamma$  (Rosiglitazon i Pioglitazon) na ekspresje białek Ppar $\gamma$  oraz  $\beta$ -Gal.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG wpływa na ekspresję mRNA i białka receptora Ppar $\gamma$  oraz  $\beta$ -Gal. Ponadto zastosowanie siRNA dla Ppar $\gamma$  i  $\beta$ -Gal wykazało dwukierunkową interakcję między Ppar $\gamma$  i  $\beta$ -Gal. Mianowicie, usunięcie receptora Ppar $\gamma$  obniżało ekspresję  $\beta$ -Gal natomiast usunięcie  $\beta$ -Gal obniżało ekspresję Ppar $\gamma$  (zarówno na poziomie mRNA, jak i białka). Zastosowanie agonistów receptora Ppar $\gamma$  (Rosiglitazon i Pioglitazon) zwiększało ekspresję białka Ppar $\gamma$  i  $\beta$ -Gal natomiast badany peptyd blokował ten efekt. Uzyskane wyniki sugerują, że peptyd VGVAPG przy udziale receptora Ppar $\gamma$  może wpływać na metabolizm mysich astrocytów w warunkach *in vitro*.

### Praca 3:

**Szychowski K.A., Gmiński J.:** The VGVAPG Peptide Regulates the Production of Nitric Oxide Synthases and Reactive Oxygen Species in Mouse Astrocyte Cells In Vitro. *Neurochem Res.* 2019; 44(5):1127-1137. DOI: 10.1007/s11064-019-02746-z (<sup>2018</sup>IF:2,782; pkt MNiSW: 70)

Tlenek azotu (NO ang. *nitric oxide*) w organizmie człowieka po raz pierwszy odkryto podczas badań nad wywodzącym się ze śródbłónka naczyniowego czynnikiem rozluźniającym mięśnie gładkie naczyń krwionośnych (EDRF ang. *endothelium-derived relaxing factor*). Zależnie od ilości, zarówno NO, jak i reaktywne formy tlenu (ROS ang. *reactive oxygen species*) biorą udział w uszkodzeniu reperfuzyjnym mięśnia sercowego lub w ochronie/uszkodzeniach układu nerwowego po udarze niedokrwiennym lub krwotocznym, a także w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych. NO powstaje w dwustopniowej reakcji katalizowanej przez syntazę tlenku azotu (NOS ang. *nitric oxide synthase*). Aktualnie znane są trzy izoformy tego enzymu, kodowane przez trzy różne geny których ekspresja zachodzi w astrocytach: śródbłónkowa syntaza tlenku azotu (eNos ang. *endothelial nitric oxide synthase*), indukowalna syntaza tlenku azotu (iNos ang. *inducible nitric oxide synthase*) i neuronalna syntaza tlenku azotu (nNos ang. *neuronal nitric oxide synthase*).

Celem trzeciej publikacji było określenie wpływu peptydu VGVAPG na wytwarzanie ROS i NO oraz ekspresję mRNA i białka eNos, iNos i nNos w mysich astrocytach w warunkach *in vitro*. Komórki były hodowane wg w/w metodyki. Następnie po 6 i 24 godzinnej ekspozycji komórek na peptyd VGVAPG mierzono produkcję NO i ROS oraz ekspresję mRNA i białek eNos, iNos i nNos. W eksperymentach zastosowano również siRNA i usuwano gen *Glb1*.

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że peptyd VGVAPG zmniejsza ekspresję mRNA i białka dla eNos, iNos i nNos w astrocytach w warunkach *in vitro*. Ponadto peptyd VGVAPG zmniejsza również wytwarzanie NO, zwiększając syntezę ROS. Wyciszenie genu *Glb1* (na którego podstawie tworzony jest główny receptor dla EDPs) odwróciło wszystkie zmiany wywołane przez peptyd VGVAPG. Po zastosowaniu siRNA peptyd VGVAPG stymulował ekspresję syntaz NO a w konsekwencji produkcję NO i obniżał produkcję ROS.

#### **Praca 4:**

**Szychowski K.A.,** Rombel-Bryrek A., Dołhańczuk-Śródka A., Gmiński J.: Antiproliferative effect of elastin-derived peptide VGVAPG on SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neurotox Res.*, 2019;36(3):503-514. DOI:10.1007/s12640-019-00040-y (<sup>2018</sup>IF:3,311; pkt MNiSW: 70)

Przez całe życie człowieka ilość komórek macierzystych i tempo ich proliferacji ulega obniżeniu. ROS są jednym z wielu czynników sprzyjających starzeniu się komórek macierzystych. Zarówno spadek ilości komórek macierzystych, jak i wzrost produkcji ROS mogą prowadzić do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych.

Celem czwartej pracy było określenie, w jaki sposób peptyd VGVAPG wpływa na wytwarzanie ROS i aktywność enzymów antyoksydacyjnych w niezróżnicowanych, proliferujących komórkach ludzkiej linii neuroblastoma (SH-SY5Y). Komórki linii SH-SY5Y mimo, iż wywodzą się z nowotworu posiadają wiele cech komórek macierzystych i możliwa jest ich stymulacja do różnicowania w neurony. Tak więc z braku dostępności ludzkich prawidłowych neuronalnych komórek macierzystych linia ta została wybrana jako model ludzkich neuroblastów. Komórki linii SH-SY5Y hodowane były w pożywce DMEM/F12 bez czerwieni fenolowej suplementowanej 10% FBS inaktywowanym cieplnie. W przeprowadzonych eksperymentach zastosowano siRNA przeciw ludzkim genom *GLB1* oraz *LGALS3* (kodującym galaktynę-3 – inny receptor komórkowy przez który mogą działać EDPs) i określano ekspresję oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD1 – ang. *superoxide dismutase*) peroksydazy glutationowej (GPx ang. *glutathione peroxidase*), oraz katalazy (CAT ang. *catalase*) w komórkach SH-SY5Y. Mierzono również proliferację komórek stosując marker proliferacji

komórek Ki67 oraz test redukcji resazuryiny i związki narzędziowe takie jak N-acetylo-L-cysteina (NAC; zmiatacz wolnych rodników).

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG zwiększa ekspresję i aktywność peroksydazy glutationowej, równocześnie zmniejszając ekspresję katalazy w komórkach SH-SY5Y. Wyciszanie genu *GLB1* zapobiegało zmianom w aktywności GPx wywołanym przez peptyd. Pomimo faktu, że peptyd VGVAPG zwiększa ekspresję GPx, zwiększał również poziom ROS. Badany peptyd zmniejszał proliferację komórek SH-SY5Y, czemu zapobiegało zastosowanie NAC. Przeprowadzone badania sugerują, że wzrost stężenia ROS wywołany przez peptyd VGVAPG zmniejsza proliferację komórek SH-SY5Y. Badany peptyd pojawiając się w układzie nerwowym w wyniku degradacji ECM może zmniejszać proliferację komórek macierzystych.

### **Praca 5:**

**Szychowski K.A., Gmiński J.:** The elastin-derived peptide VGVAPG does not activate the inflammatory process in mouse cortical astrocytes *in vitro*. *Neurotox Res.* 2019; DOI: 10.1007/s12640-019-00114-x.(<sup>2018</sup>IF:3,311; pkt MNiSW: 70)

Liczne prace wskazują na rolę mechanizmów zapalnych w różnych stanach neurologicznych, które zazwyczaj nie są klasyfikowane jako zapalne. Ponadto dobrze udokumentowane jest zaangażowanie procesu zapalnego w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Opisano zjawisko aktywacji przez EDPs procesu zapalnego z zaangażowaniem NF- $\kappa$ B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) w różnych typach komórek. Wykazano również, że EDPs są czynnikami chemotaktycznymi dla monocytów. Jednak nic nie jest wiadomo na temat prozapalnej roli EDPs w układzie nerwowym.

Celem piątej pracy było określenie roli peptydu VGVAPG w aktywacji procesu zapalnego w mysich astrocytach w warunkach *in vitro*.

Komórki były hodowane zgodnie z w/w metodyką. Po ekspozycji astrocytów na działanie peptydu VGVAPG po 24 i 48 godzinach dokonano pomiaru aktywności kaspazy-1, a także ekspresji białek związanych z procesem zapalnym (interleukiny 1 beta (IL-1 $\beta$  ang. *Interleukin 1 beta*) oraz jej receptora (IL-1 $\beta$ R1), Sod1, Cat, Ppar $\gamma$  i NF- $\kappa$ B przy pomocy metody ELISA. W eksperymentach zastosowano również związek narzędziowy w postaci Rosiglizatonu.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG zwiększał aktywność kaspazy-1 w komórkach, jednocześnie zmniejszając uwalnianie interleukiny IL-1 $\beta$  do pożywki hodowlanej. Wykazano również, że peptyd VGVAPG zwiększał ekspresję białka Sod1,



podczas gdy zmniejszał ekspresję białek IL-1 $\beta$ R1, Cat i NF- $\kappa$ B.

Obecnie jest dobrze opisane, że aktywacja szlaku Ppary hamuje ekspresję i szlaki zależne od NF- $\kappa$ B. Przeprowadzone doświadczenia z agonistą receptora Ppary sugerują, że w astrocytach myszy peptyd VGVAPG działa z nim synergistycznie. Uzyskane wyniki wskazują, że peptyd VGVAPG nie aktywuje procesu zapalnego. VGVAPG działając podobnie, aktywując podobne szlaki molekularne jak agoniści Ppary (**Praca 2**), może hamować proces zapalny.

### **Praca 6:**

**Szychowski K.A., Gmiński J.:** Elastin-derived peptide VGVAPG affects the proliferation of mouse cortical astrocytes with the involvement of aryl hydrocarbon receptor (Ahr), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppar $\gamma$ ), and elastin-binding protein (EBP). *Cytokine*. 2020; 126:154930. DOI:10.1016/j.cyto.2019.154930. (<sup>2018</sup>IF:3,078; pkt MNiSW: 100)

Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, że zarówno EBP jak i Ppary zaangażowane są w mechanizm działania peptydu VGVAPG w astrocytach. Jest ogólnie przyjęte, że obydwa receptory biorą udział w kontroli proliferacji komórek, dlatego też kolejnym etapem badań było określenie, czy peptyd VGVAPG stymuluje proces proliferacji astrocytów w warunkach *in vitro*. W przeprowadzonych eksperymentach określono zaangażowanie EBP, receptora Ppary oraz receptora węglowodorów arylowych (Ahr, ang. *aryl hydrocarbon receptor*) w procesie proliferacji astrocytów.

Komórki hodowane były wg w/w metodyki z tym, że eksperymenty wykonywane były w różnych stężeniach FBS pozbawionej steroidów (1 i 10 %). Poznane jest bowiem zjawisko stymulacji proliferacji komórek przez hormony steroidowe i czynniki niezdefiniowane zawarte w medium hodowlanym. Podczas doświadczeń wykorzystywano specyficzne siRNA przeciwko genom *Glb1*, *Ppar $\gamma$*  oraz *Ahr*, a następnie mierzono parametry takie jak: tempo metabolizmu/proliferacji przy pomocy testu redukcji resazuryn, syntezę estradiolu oraz ekspresję białek - S100B (marker różnicowania/dojrzałości astrocytów) i Ki67 (marker proliferacji) przy pomocy testu ELISA.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że wszystkie badane receptory (EBP, Ppary oraz Ahr) zaangażowane są w proces proliferacji astrocytów. Reakcja komórek zależała nie tylko od obecności (bądź braku danego receptora) ale również zawartości surowicy w medium hodowlanym. Uzyskane dane wykazały, że peptyd VGVAPG zwiększa produkcję estradiolu wyłącznie w pożywce zawierającej 1 % FBS (pozbawionej hormonów steroidowych); w wyższych stężeniach surowicy nie zaobserwowano takiej zależności. Może to być efektem

dużej zawartości niezdefiniowanych czynników wzrostu obecnych w medium hodowlanym z 10% FBS (bez steroidów). Wykonane doświadczenia wykazały, że usunięcie receptora Ahr zwiększało proliferację astrocytów oraz obniżało produkcję estradiolu niezależnie od użytego stężenia FBS, co sugeruje kluczową rolę tego receptora. Dobrze opisano zjawisko w którym Ahr, podobnie jak Ppary bierze udział w różnicowaniu komórek macierzystych w neurony lub astrocyty i ich dojrzewaniu. W przypadku usunięcia Ahr przy pomocy siRNA, peptyd VGVAPG zwiększał ilość białka S100B - markera dojrzewających astrocytów, co potwierdza kluczową rolę tego receptora w astrocytach.

### **Praca 7:**

**Szychowski K.A., Pomianek T., Gmiński J.:** Elastin-Derived Peptide VGVAPG Affects Production and Secretion of Testosterone in Mouse Astrocyte In Vitro. *Neurochem Res.* 2019 Nov 27. doi: 10.1007/s11064-019-02920-3. (<sup>2018</sup>IF:2,782; pkt MNiSW: 70)

Astrocyty odgrywają wiele różnych ról w układzie nerwowym, zapewniając strukturalne wsparcie dla neuronów i utrzymanie integralności bariery krew-mózg. Do tej pory dobrze opisano, że hormony steroidowe wykazują szerokie spektrum działania w centralnym i obwodowym układzie nerwowym, działając jako czynniki troficzne, wpływając na różnicowanie komórek lub plastyczność synaptyczną. W steroidogenezie astrocyty odgrywają kluczową rolę w syntezie cholesterolu, progesteronu, testosteronu i estradiolu. Dlatego też, ze względu na rolę neurosteroidów, konieczne było ustalenie, w jaki sposób peptyd VGVAPG wpływa na poziom estradiolu, progesteronu i testosteronu w astrocytach.

Komórki hodowano wg w/w metodyki jednak podczas prowadzonych eksperymentów stosowano surowicę oczyszczoną z hormonów steroidowych. Po stymulacji komórek peptydem VGVAPG mierzono produkcję i wydzielanie progesteronu, testosteronu i estradiolu do medium hodowlanego jak również poziom markera proliferacji Ki67. W eksperymentach zastosowano również inhibitor kinazy c-Src należącej do rodziny kinaz tyrozynowych, która pełni rolę w cyklu komórkowym, w proliferacji i przeżyciu komórki oraz w procesie onkogenezy.

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że peptyd VGVAPG zwiększa produkcję progesteronu w komórkach; jednak jednocześnie zmniejsza jego sekrecję do medium hodowlanego. Z drugiej strony, produkcja i wydzielanie testosteronu były stymulowane przez badany peptyd (główny neurosteroid syntetyzowany i wydzielany przez astrocyty *in vivo*). Synteza estradiolu nie zmieniała się, natomiast jego zawartość w medium hodowlanym była niewykrywalna. Po 48 h ekspozycji na peptyd VGVAPG ekspresja białka Ki67 wzrastała.

Zastosowanie inhibitora kinazy c-Src zapobiegało większości efektów powodowanych przez peptyd VGVAPG. Odkrycia ostatnich lat wykazały, że kinaza c-Src jest niezbędna do prawidłowej transdukcji sygnału przez receptor Ahr. Bazując na dostępnej literaturze, uzyskanych wynikach oraz danych z **pracy 6** można uznać, że zarówno testosteron, jak i kinaza c-Src działająca w połączeniu z receptorem Ahr mogą być odpowiedzialne za zwiększenie proliferacji astrocytów w warunkach hodowli *in vitro*.

### **Praca 8:**

**Szychowski K.A.**, Gmiński J.: Specific role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in elastin-derived VGVAPG peptide-dependent calcium homeostasis in mouse cortical astrocytes *in vitro*. Scientific Reports. 2019, **manuskrypt zaakceptowany do publikacji** (<sup>2018</sup>IF:4,011; pkt MNiSW: 100)

W astrocytach w warunkach *in vitro* wzrost wewnątrzkomórkowej zawartości jonów wapnia ( $\text{Ca}^{2+}$ ) może powodować dysfunkcję mitochondriów, zwiększoną syntezę wolnych rodników i aktywować proces apoptozy. Dane literaturowe sugerują, że napływ  $\text{Ca}^{2+}$  wywołany urazem, takim jak udar niedokrwienny lub krwotoczny prowadzi do uszkodzeń komórek i apoptozy. W układzie nerwowym receptor N-metylo-D-asparaginowy (NMDAR) jest najważniejszym receptorem pobudzającym, przepuszczalnym dla jonów  $\text{Ca}^{2+}$ , jonów sodu ( $\text{Na}^+$ ) i jonów potasu ( $\text{K}^+$ ). Jednakże przepuszczalność NMDAR zależy od składu podjednostkowego. NMDAR to heterotetramer złożony z dwóch podjednostek GluN1 i dwóch podjednostek GluN2 A-D lub GluN3 A-B. Di-heteromeryczne receptory GluN1/GluN2B i GluN1/GluN2A są najważniejszymi receptorami w rozwijającym się układzie nerwowym myszy. W strukturach takich jak hipokamp i kora mózgowa GluN2A i GluN2B są dominującymi podjednostkami. Dobrze wiadomo, że NMDAR bierze udział w śmierci komórek indukowanej ekscytotoksycznością. Ekscytotoksyczność mediowana za pośrednictwem NMDAR jest zależna od  $\text{Ca}^{2+}$  i jest typowa dla układu nerwowego. Dotychczasowe badania wykazały, że  $\kappa$ -elastyna zwiększa napływ  $\text{Ca}^{2+}$  w ludzkich monocytach i fibroblastach, a także w komórkach mięśni gładkich. Podobnie, tropoelastyna, EDPs i peptyd VGVAPG zwiększają zawartość  $\text{Ca}^{2+}$  w ludzkich komórkach śródbłonna żyły pępowinowej (HUVEC) oraz w różnych liniach komórek glejaka (C6, CB74, CB109 i CB191). Napływ jonów wapnia finalnie może prowadzić do wzrostu poziomu ROS (wzrost ROS wykazano w **Pracach 3 i 4**).

Biorąc pod uwagę istotną rolę wapnia w komórce celem **pracy 8** było określenie wpływu peptydu VGVAPG na napływ jonów  $\text{Ca}^{2+}$  do astrocytów w hodowli *in vitro*.

W przeprowadzonych eksperymentach wykorzystywano związki narzędziowe, takie jak nifedypina i werapamil (antagoniści kanałów wapniowych), MK-801 (antagonista receptora NMDA), inhibitor kinazy c-Src oraz siRNA przeciwko genom *Glb1*, *GluN1*, *GluN2A* i *GluN2B*. Po stymulacji komórek mierzono napływ jonów wapnia do komórek, poziom ROS oraz ekspresję mRNA wybranych podjednostek NMDAR.

Eksperymenty wykazały, że peptyd VGVAPG powodował napływ jonów  $Ca^{2+}$  zależny od receptora NMDA. Wyciszenie genów *Glb1*, *GluN1*, *GluN2A* i *GluN2B* zapobiegało wzrostowi zawartości  $Ca^{2+}$  indukowanemu przez peptyd VGVAPG. Nifedypina nie zmniejszyła całkowicie wytwarzania ROS aktywowanego peptydem VGVAPG, podczas gdy MK-801, werapamil i inhibitor kinazy c-Src zmniejszyły napływ  $Ca^{2+}$  aktywowany peptydem VGVAPG oraz syntezę ROS. Dane te wskazują na istotną rolę kinazy c-Src w transdukcji sygnału z EBP na NMDAR. Peptyd VGVAPG wpływał ponadto na ekspresję podjednostek receptora NMDA.

### **Podsumowanie wszystkich publikacji wchodzących w skład dzieła**

W przeprowadzonych eksperymentach wykazano, że peptyd VGVAPG działa w komórkach układu nerwowego w zupełnie inny sposób, niż w dotychczas opisanych modelach badawczych. Efekty działania peptydu różniły się w komórkach prawidłowych i w komórkach linii neuroblastoma SH-SY5Y. W komórkach SH-SY5Y (w stadium niezróżnicowanym - uznany model neuroblastów) peptyd VGVAPG powodował zmniejszenie tempa proliferacji zależnej od ROS (**Praca 4**). Natomiast w prawidłowych astrocytach badany peptyd nasilał proces proliferacji komórek. Uzyskane wyniki mogą tłumaczyć obserwowany w podeszłym wieku spadek tempa neurogenezy w układzie nerwowym oraz wzrost glejozy. Wyniki badań sugerują, że peptyd VGVAPG wykazuje stymulujące działanie na pierwotne astrocyty myszy w warunkach *in vitro* – nasilając ich proliferację. Do działań korzystnych można zaliczyć: profil ekspresji *Mmp-2*, *-9* oraz *Timp-1*, *-2*, *-3*, *-4* podobny do profilu podczas regeneracji tkanek, synergistyczne działanie z rosiglitazonem, obniżanie ekspresji markerów procesu zapalnego oraz nasilenie procesu proliferacji astrocytów (**Prace 1, 2, 3, 5**). Wykazane działania mogą brać udział w regeneracji tkanki i powstawaniu blizny glejowej. Przeprowadzone eksperymenty wykazały istotną rolę kinazy c-Src w transdukcji sygnału od EDP do NMDAR oraz jej udział w napływie jonów  $Ca^{2+}$ . Uzyskane wyniki sugerują również zaangażowanie kinazy c-Src w procesie syntezy neurosteroidów przez astrocyty, proliferacji oraz aktywacji receptora Ahr (**Prace 6, 7, 8**).

Temat znaczenia EDPs i/lub peptydu VGVAPG w układzie nerwowym nigdy nie był podejmowany. Biorąc to pod uwagę oraz znaczenie zagadnienia pod względem teoretycznym

i praktycznym, uzyskane wyniki stanowią całkowicie oryginalny i znaczący wkład w poszerzenie wiedzy na temat biologicznego działania produktów degradacji elastyny.

### **Legenda opisu białek i genów na przykładzie PPAR $\gamma$ :**

PPAR $\gamma$  – białko ludzkie (duże litery)

*PPAR $\gamma$*  – gen ludzki (duże litery, kursywa)

Ppar $\gamma$  – białko ssacze nie ludzkie (pierwsza duża litera)

*Ppar $\gamma$*  – gen ssaczy nie ludzki (pierwsza duża litera kursywa)

Sumaryczny IF prac składających się na dzieło: **20,633** (24,644 z pracą nr 8 zaakceptowaną do druku po analizie bibliograficznej 10.12.2019, bez numeru DOI)

Sumaryczna ilość punktów składająca się na dzieło: **520** (620 z pracą nr 8 zaakceptowaną do druku po analizie bibliograficznej 10.12.2019, bez numeru DOI)

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

W trakcie studiów doktoranckich (październik 2011 – czerwiec 2015) w Uniwersytecie Rolniczym im. Hugona Kołłątaja w Krakowie byłem współautorem 5 artykułów naukowych posiadających współczynnik IF.

1. **Szychowski K.A.**, Wojtowicz A.K.: TBBPA causes neurotoxic and the apoptotic responses in cultured mouse hippocampal neurons *in vitro*. *Pharmacol Rep.*, 2016; 68: 20-26 DOI: 10.1016/j.pharep.2015.06.005. (IF:2,587; pktMNiSW: 25)
2. **Szychowski K.A.**, Sitarz A.M., Wojtowicz A.K.: Triclosan induces Fas receptor-dependent apoptosis in mouse neocortical neurons *in vitro*. *Neuroscience*, 2015; 284: 192-201 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.10.001. (IF:3,231; pkt MNiSW: 25)
3. Kajta M, Litwa E, Rzemieniec J, Wnuk A, Lason W, Zelek-Molik A, Nalepa I, Grzegorzewska-Hiczwa M, Tokarski K, Golas A, Guzik E, Grochowalski A, **Szychowski KA**, Wojtowicz AK.: Isomer-nonspecific action of dichlorodiphenyltrichloroethane on aryl hydrocarbon receptor and G-protein-coupled receptor 30 intracellular signaling in apoptotic neuronal cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2014; 392:90-105 DOI: 10.1016/j.mce.2014.05.008. (IF:4,405; pkt MNiSW:30)
4. Wojtowicz A.K., **Szychowski K.A.**, Kajta M.: PPAR- $\gamma$  Agonist GW1929 But Not Antagonist GW9662 Reduces TBBPA-Induced Neurotoxicity in Primary Neocortical Cells. *Neurotox Res.*, 2014; 25:311–322 DOI: 10.1007/s12640-013-9434-z (IF: 3,538; pkt MNiSW:25)

5. **Szychowski K.A.**, Wójtowicz A.K.: Składniki tworzyw sztucznych zaburzające funkcje układu nerwowego, [Components of the plastic disrupt the function of nervous system]. *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2013; 67:499-506 (IF:0,633; pkt MNiSW:15)

Od czerwca 2015 do chwili obecnej jestem pracownikiem Wyższej Szkoły Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie, gdzie w laboratoriach tejże uczelni przygotowałem i opracowałem 13 artykułów naukowych posiadających współczynnik IF.

1. Ścibior A., **Szychowski K.A.**, Zwolak I., Dachowska K., Gmiński J.: *In vitro* effect of vanadyl sulfate on cultured primary astrocytes: cell viability and oxidative stress markers. *Journal of Applied Toxicology*. 2019, **manuskrypt zaakceptowany do publikacji** (<sup>2018</sup>IF:3,065; pkt MNiSW: 100)
2. **Szychowski K.A.**, Pomianek T., Gmiński J.: Elastin derived peptide VGVAPG affects production and secretion of testosterone in mouse astrocyte *in vitro*. *Neurochem Res*. 2019, DOI:10.1007/s11064-019-02920-3. (<sup>2018</sup>IF:2,782; pkt MNiSW: 70) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
3. **Szychowski K.A.**, Gmiński J.: The VGVAPG Peptide Regulates the Production of Nitric Oxide Synthases and Reactive Oxygen Species in Mouse Astrocyte Cells *In Vitro*. *Neurochem Res*. 2019; 44:1127-1137. DOI: 10.1007/s11064-019-02746-z (<sup>2018</sup>IF:2,782; pkt MNiSW: 70) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
4. **Szychowski K.A.**, Gmiński J.: Impact of elastin-derived VGVAPG peptide on bidirectional interaction between peroxisome proliferator-activated receptor gamma (Ppar $\gamma$ ) and beta-galactosidase ( $\beta$ -Gal) expression in mouse cortical astrocytes *in vitro*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2019; 392:405-413. DOI: 10.1007/s00210-018-1591-4. (<sup>2018</sup>IF:2,058; pkt MNiSW: 70) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
5. **Szychowski K.A.**, Wójtowicz A.K., Gmiński J.: Impact of elastin-derived peptide VGVAPG on matrix metalloproteinase-2 and -9 and the tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, -3 and -4 mRNA expression in mouse cortical glial cells *in vitro*. *Neurotox Res*. 2019; 35:100-110. DOI: 10.1007/s12640-018-9935-x. (<sup>2018</sup>IF:3,311; pkt MNiSW: 70) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
6. **Szychowski K.A.**, Rybczyńska-Tkaczyk K., Tobiasz J., Yelnytska-Stawasz V., Pomianek T., Gmiński J.: Biological and anticancer properties of *Inonotus obliquus* extracts, *Process Biochemistry*, 2018; 73:180-187 DOI: 10.1016/j.procbio.2018.07.015 (IF:2,883; pkt MNiSW: 30)
7. **Szychowski K.A.**, Leja M.L., Rybczyńska-Tkaczyk K., Binduga U.E., Gmiński J.: Cytotoxic effects of two extracts from garlic (*Allium sativum* L.) cultivars on the human squamous carcinoma cell line SCC-15. *Saudi J Biol Sci.*, 2018; 25:1703-1712 DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.10.005 (IF: 2,280; pkt MNiSW: 25)
8. **Szychowski K.A.**, Rybczyńska-Tkaczyk K., Gaweł-Bęben K., Świeca M., Karaś, M., Jakubczyk, A., Matysiak, M., Binduga U., Gmiński J.: Characterization of active compounds of different garlic (*Allium sativum* L.) cultivars, *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2018; 68:73-81 DOI: 10.1515/pjfn-2017-0005 (IF: 1,514; pkt MNiSW: 15)
9. Rybczyńska-Tkaczyk, K., Święciło, A., **Szychowski, K.A.**, Kornilłowicz-Kowalska, T.: Comparative study of eco- and cytotoxicity during biotransformation of anthraquinone dye Alizarin Blue Black B in optimized cultures of microscopic fungi, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018; 147:776-787 DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.09.037. (IF: 4,527; pkt MNiSW: 30)

10. Złotek U., **Szychowski K.A.**, Świeca M.: Potential in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic, and anticancer effect of arachidonic acid-elicited basil leaves. *Journal of Functional Foods*, DOI: 10.1016/j.jff.2017.07.024 2017; 36:290-299 (IF: 3,470; pkt MNiSW: 45)
11. Wójtowicz A.K., **Szychowski K.A.**, Wnuk A., Kajta M.: Dibutyl phthalate (DBP)-induced apoptosis and neurotoxicity are mediated via the aryl hydrocarbon receptor (AhR) but not by estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ), estrogen receptor beta (ER $\beta$ ) or peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) in mouse cortical neurons. *Neurotox Res.*, 2017; 31:77-89 DOI: 10.1007/s12640-016-9665-x. (IF:3,186; pkt MNiSW: 25)
12. **Szychowski K.A.**, Wnuk A., Kajta M., Wójtowicz A.K.: Triclosan activates aryl hydrocarbon receptor (AhR)-dependent apoptosis and affects Cyp1a1 and Cyp1b1 expression in mouse neocortical neurons. *Environ Res.* 2016; 151:106-114 DOI: 10.1016/j.envres.2016.07.019. (IF:3,835; pkt MNiSW: 40)
13. **Szychowski K.A.**, Rybczyńska-Tkaczyk K., Leja M.L., Wójtowicz A.K., Gmiński J.: Tetrabromobisphenol A (TBBPA)-stimulated reactive oxygen species (ROS) production in cell-free model using the 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCFDA) assay - limitations of method. *Environ Sci Pollut Res.*, 2016; 23:12246–12252 DOI: 10.1007/s11356-016-6450-6. (IF:2,741; pkt MNiSW: 30)

W 2017 roku rozpocząłem pracę w Uniwersytecie Opolskim (obecnie na wydziale lekarskim), gdzie przygotowałem 6 artykułów naukowych posiadających współczynnik IF.

1. **Szychowski K.A.**, Gmiński J.: Specific role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in elastin-derived VGVAPG peptide-dependent calcium homeostasis in mouse cortical astrocytes in vitro. *Scientific Reports*. 2019, **manuskrypt zaakceptowany do publikacji** (<sup>2018</sup>IF:4,011; pkt MNiSW: 100) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
2. **Szychowski K.A.**, Gmiński J.: Elastin derived peptide VGVAPG increase proliferation of mouse cortical astrocyte in vitro through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) pathway. *Cytokine*. 2020; 126:154930. DOI: 10.1016/j.cyto.2019.154930. (<sup>2018</sup>IF:3,030; pkt MNiSW: 100) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
3. **Szychowski K.A.**, Rombel-Bryrek A., Dołhańczuk-Śródka A., Gmiński J.: Antiproliferative effect of elastin-derived peptide VGVAPG on SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neurotox Res.*, 2019; 36:503-514. DOI:10.1007/s12640-019-00040-y (<sup>2018</sup>IF:3,311; pkt MNiSW: 70) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
4. **Szychowski K.A.**, Gmiński J.: Elastin derived VGVAPG peptide does not stimulate inflammation process in mouse cortical astrocytes *in vitro*. *Neurotox Res.* 2019. DOI: 10.1007/s12640-019-00114-x (<sup>2018</sup>IF:3,311; pktMNiSW: 70) – **wchodzi w skład dzieła habilitacyjnego**
5. Wójtowicz A.K., Sitarz-Głównia A., Szczęsna M., **Szychowski K.A.**: The action of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in mouse cerebral cells involves an impairment in aryl hydrocarbon receptor (AhR) signaling. *Neurotox Res.* 2019; 35:183-195. DOI: 10.1007/s12640-018-9946-7. (<sup>2018</sup>IF:3,311; pkt MNiSW: 70)
6. **Szychowski K.A.**, Wnuk A., Rzemieniec J., Kajta M., Leszczyńska T., Wójtowicz A.K. Triclosan-evoked neurotoxicity involves NMDAR subunits with the specific role of GluN2A in caspase-3-dependent apoptosis, *Mol Neurobiol.* 2019; 56:1-12. DOI: 10.1007/s12035-018-1083-z. (<sup>2018</sup>IF: 4,586; pkt MNiSW: 100)

Po zmianie miejsca zatrudnienia niektóre z tematów były kontynuowane. Trudne jest zatem przypisanie części publikacji do jednego miejsca pracy. W latach 2016, 2017, 2019 realizowałem staże zagraniczne (dwukrotnie we Lwowie, Ukraina oraz jeden raz w Villejuif, Francja).

Ich efektem są poniższe 3 publikacje naukowe:

1. **Szychowski K.A.**, Kaminsky D.V., Leja M.L., Kryshchysyn A.P., Lesyk R.B., Tobiasz J., Wnuk M., Pomianek T., Gmiński J.: Anticancer properties of 5Z-(4-fluorobenzylidene)-2-(4-hydroxyphenylamino)-thiazol-4-one. *Scientific Reports*, 2019; 9:10609. (<sup>2018</sup>IF:4,011; pkt MNiSW: 100)
2. **Szychowski K.A.**, Leja M.L., Kaminsky D.V., Kryshchysyn A.P., Binduga U.E., Pinyazhko O.R., Lesyk R.B., Tobiasz J., Gmiński J., Anticancer properties of 4-thiazolidinone derivatives depend on peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ), *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017; 14:162-168 (IF: 4,816; pkt MNiSW: 40)
3. **Szychowski K.A.**, Leja M.L., Kaminsky D.V., Binduga U.E., Pinyazhko O.R., Lesyk R.B., Gmiński J.: Study of novel anticancer 4-thiazolidinone derivatives. *Chemico-Biological Interactions*, 2017; 262: 46-56 (IF: 3,296; pkt MNiSW: 30)

Obecnie w przygotowaniu są kolejne manuskrypty publikacji będące owocem pobytu w Villejuif Francja. Ponadto otrzymałem stypendium rządu francuskiego na staż naukowy w Instytucie Gustave Roussy (Cancer Campus), ul. Camille-Desmoulins 39, 94805 Villejuif, Francja, w terminie 26.06.2020-31.08.2020, związany w prowadzeniem badań naukowych.

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

### **Obecnie pełnione funkcje**

- Kierownik Ćwiczeń Laboratoryjnych z przedmiotu Biochemia z elementami chemii oraz opiekun laboratorium naukowo-dydaktycznego w Zakładzie Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Opolskiego
- Opiekun Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Zakładzie Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Opolskiego
- Opiekun Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Katedrze Chorób Cywilizacyjnych i Medycyny Regeneracyjnej Wyższej Szkoły Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie
- Opiekun Laboratorium Biochemii, Toksykologii i Genetyki Klinicznej, Kolegium Medycznego Wyższej Szkoły Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie



- Opiekun Laboratorium Biologii Molekularnej, Kolegium Medycznego Wyższej Szkoła Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie
- Praca w zespole Kolegium Medycznego ds. jakości na kierunku Dietetyka

### **Działalność dydaktyczna**

#### **Zajęcia prowadzone w Uniwersytecie Opolskim**

Biochemia z elementami chemii (ćwiczenia laboratoryjne, zajęcia seminaryjne),  
 Immunologia (ćwiczenia laboratoryjne, zajęcia seminaryjne),  
 Badania naukowe i próby kliniczne (seminaria).

#### **Zajęcia prowadzone w Wyższej Szkole Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie**

Biologia molekularna (laboratoria),  
 Parazytologia (wykład i ćwiczenia),  
 Immunologia i alergologia (seminarium),  
 Mikrobiologia (seminarium i laboratoria),  
 Mikrobiologia ogólna i żywności (seminarium i laboratoria),  
 Seminarium pracy dyplomowej - opieka nad pracami licencjackimi.

#### **Zajęcia prowadzone w Uniwersytecie Rolniczym im. Hugona Kołłątaja w Krakowie**

Kultury tkankowe i komórkowe roślin i zwierząt (ćwiczenia),  
 Kultury *in vitro* (ćwiczenia),  
 Bioinżynieria komórek i tkanek zwierzęcych (ćwiczenia),

#### **Opieka nad pracami badawczymi (licencjaci, doktoranci):**

Promotor 11 prac licencjackich

Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim pani mgr Urszuli Bindugi (przewód doktorski otwarty na Wydziale Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie)

#### **Działalność popularyzująca naukę:**

- 2 artykuły popularnonaukowe (czasopismo Wszechświat),
  - a) **Szychowski K.A.:** Wpływ ksenobiotyków na funkcjonowanie układu nerwowego. Wszechświat, 2013, 114 (8-9): 285-287.

- b) Wójtowicz A.K., **Szychowski K.A.**: DDT – przekleństwo czy błogosławieństwo XX wieku? *Wszechświat*, 2014, 115 (10-12): 284-287.
- 2 wywiady dla portalu onet.pl, wywiad przeprowadziła Karolina Grudzień (portal Onet.pl)
  - a) „Ryż w woreczkach groźny dla zdrowia? Z bisfenolem-A nie ma żartów” 02.04.2017,
  - b) „Gdy sterylność szkodzi, czyli cała prawda o triklosanie” 01.06.2017
- 1 audycja radiowa dla Radia Rzeszów 21.03.2017, wywiad realizowany przez panią Agnieszkę Lipską reporterkę Radia Rzeszów, temat reportażu: „Działanie peptydów powstających w wyniku rozpadu elastyny na funkcjonowanie układu nerwowego”.
- 1 wykład popularno-naukowy Głogów 16.04.2016, III Głogowski Dzień Mózgu, tytuł wystąpienia .: „Wpływ zanieczyszczeń środowiska na funkcjonowanie układu nerwowego”.
- Aktywny udział podczas działalności popularyzującej naukę - cykl wykładów popularnonaukowych „Ciekawa Lekcja” realizowanych przez Katedrę Chorób Cywilizacyjnych i Medycyny Regeneracyjnej Kolegium Medycznego Wyższej Szkoły Informatyki i Zarządzania z siedzibą w Rzeszowie, kierowanych do uczniów szkół średnich

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

**Współpraca naukowa:**

**- zagraniczna:**

- z dr hab. Yegorem Vassetzkym z Nuclear Organization and Pathologies CNRS UMR-8126 Institut Gustave Roussy (Francja)
- z prof. dr hab. Romanem Lesykiem z Katedry Farmacji, Chemii Organicznej i Bioorganicznej z Lwowskiego Uniwersytetu Medycznego (Ukraina)
- z dr hab. Olehem Pinyazhko, z Katedry Farmakologii Lwowskiego Uniwersytetu Medycznego (Ukraina)

**- krajowa:**

- z prof. dr hab. Anną Wójtowicz z Katedry Biotechnologii Zwierząt Uniwersytetu

Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

- z prof. dr hab. Małgorzatą Kajta z Zakładu Neuroendokrynologii Doświadczalnej Instytutu Farmakologii PAN
- z prof. dr hab. inż. Teresą Leszczyńską oraz dr hab. inż. Anetą Kopeć z Katedry Żywienia Człowieka Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
- z dr hab. Agnieszką Ścibior z Pracowni Stresu Oksydacyjnego w Interdyscyplinarnym Centrum Badań Naukowych Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II w Lublinie
- z dr inż. Kamilą Rybczyńską-Tkaczyk z Katedry Mikrobiologii Środowiskowej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
- z dr Urszulą Złotek z Katedry Biochemii i Chemii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

.....

(podpis wnioskodawcy)