

Autoreferat (załącznik nr 3)

1. Imię i nazwisko

Tomasz Jędrzejewski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- 30.06.2005 – **Dyplom licencjata biotechnologii** uzyskany na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych). Praca licencjacka pt. „Zastosowanie komórek macierzystych w chorobach układu krążenia” wykonana w Zakładzie Immunologii (obecnie Katedra Immunologii). Promotor: Prof. dr hab. Wiesław Kozak.
- 19.06.2007 – **Dyplom magistra biotechnologii** uzyskany na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych). Praca magisterska pt. „Pirogenne indukcja makrofagów szczura *in vitro*” wykonana w Zakładzie Immunologii (obecnie Katedra Immunologii). Promotor: Prof. dr hab. Wiesław Kozak.
- 01.06.2012 – **Dyplom doktora nauk biologicznych** uzyskany na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych). Praca doktorska pt. „Pirogenne właściwości komórek mononuklearnych szczura” wykonana w Zakładzie Immunologii (obecnie Katedra Immunologii). Promotor: Prof. dr hab. Wiesław Kozak. Recenzenci: Prof. dr hab. Krystyna Skwarło-Sońta i dr hab. Andrzej Borman Prof. Uniwersytetu Gdańskiego.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

- 01.10.2016 – obecnie – Adiunkt na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Katedra Immunologii.
- 01.10.2011 – 30.09.2016 – Asystent na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu, Zakład Immunologii (późniejsza Katedra Immunologii).

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

Osiągnięcie naukowe pt. „Immunomodulacyjne i przeciwnowotworowe właściwości ekstraktu z *Coriolus versicolor* - badania na poziomie ogólnoustrojowym i komórkowym” będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego stanowi cykl siedmiu eksperymentalnych publikacji naukowych, które zostały opublikowane w latach 2014-2025 w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports. Łączny wskaźnik Impact Factor tych prac (zgodny z rokiem opublikowania) wynosi 23,811, sumaryczna liczba punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW, od 2021 Ministerstwo Edukacji i Nauki (MEiN)) z roku opublikowania 525, a łączna liczba cytowań: 77 (50 bez autocytowań). We wszystkich publikacjach jestem pierwszym autorem i jedynym autorem korespondencyjnym.

Lista publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (Impact Factor (IF) oraz kwartył czasopisma (Q) wg bazy Journal Citation Reports dla roku opublikowania, cytowania wg bazy Web of Science z dnia 25.02.2025, punktacja wg Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW, od 2021 Ministerstwo Edukacji i Nauki (MEiN) z roku opublikowania)).

1. **Jedrzejewski T**, Piotrowski J, Wrotek S, Kozak W (2014) Polysaccharide peptide induces a tumor necrosis factor- α -dependent drop of body temperature in rats. *Journal of Thermal Biology* 44: 1-4. doi: 10.1016/j.jtherbio.2014.06.003.

IF₂₀₁₄: 1,505; Q2; liczba cytowań: 10 (5 - bez autocytowań), punktacja MNiSW: 30

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, uzyskanie zgody Lokalnej Komisji Etycznej, uzyskanie grantu wewnętrznego UMK (1527-B) na sfinansowanie badań, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj.: biotelemetryczny pomiar temperatury ciała, wykonanie iniekcji u szczurów, pobranie próbek krwi oraz wykonanie testów ELISA, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w całości manuskryptu, przygotowanie wszystkich rycin, korektę manuskryptu po recenzjach.

2. **Jedrzejewski T**, Piotrowski J, Kowalczevska M, Wrotek S, Kozak W (2015) Polysaccharide peptide from *Coriolus versicolor* induces interleukin 6-related extension of endotoxin fever in rats. *International Journal of Hyperthermia* 31(6): 626-634. doi: 10.3109/02656736.2015.1046953.

IF₂₀₁₅: 3,361; Q1; liczba cytowań: 16 (10 - bez autocytowań), punktacja MNiSW: 25

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, uzyskanie zgody Lokalnej Komisji Etycznej, uzyskanie dwóch grantów wewnętrznych UMK (1527-B i 1925-B) na sfinansowanie badań, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj.: biotelemetryczny pomiar temperatury ciała, wykonanie iniekcji u szczurów, pobranie próbek krwi oraz wykonanie testów ELISA, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w całości manuskryptu, przygotowanie wszystkich rycin, korektę manuskryptu po recenzjach.

3. **Jędrzejewski T**, Pawlikowska M, Piotrowski J, Kozak W (2016) Protein-bound polysaccharides from *Coriolus versicolor* attenuate LPS-induced synthesis of pro-inflammatory cytokines and stimulate PBMCs proliferation. *Immunology Letters* 178: 140-147. doi: 10.1016/j.imlet.2016.08.013.

IF₂₀₁₆: 2,86; Q3; liczba cytowań: 18 (11 - bez autocytowań), punktacja MNiSW: 20

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, uzyskanie grantu wewnętrznego UMK (2244-B) na sfinansowanie badań, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj.: izolacja i stymulacja komórek PBMC, oznaczanie żywotności komórek oraz poziomu cytokin z użyciem testów ELISA, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w całości manuskryptu, przygotowanie wszystkich rycin, korektę manuskryptu po recenzjach.

4. **Jędrzejewski T**, Piotrowski J, Pawlikowska M, Wrotek S, Kozak W (2019) Extract from *Coriolus versicolor* fungus partially prevents endotoxin tolerance development by maintaining febrile response and increasing IL-6 generation. *Journal of Thermal Biology* 83: 69-79. doi: 10.1016/j.jtherbio.2019.05.005.

IF₂₀₁₉: 2,361; Q1; liczba cytowań: 8 (7 - bez autocytowań), punktacja MNiSW: 70

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, uzyskanie zgody Lokalnej Komisji Etycznej, uzyskanie grantu wewnętrznego UMK (1925-B) na sfinansowanie badań, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj.: biotelemetryczny pomiar temperatury ciała, wykonanie iniekcji u szczurów, izolacja i stymulacja komórek PBMC, oznaczanie żywotności komórek, oznaczanie poziomu NF- κ B p65, IL-6 i reaktywnych form tlenu, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w całości manuskryptu, przygotowanie wszystkich rycin, korektę manuskryptu po recenzjach.

5. **Jędrzejewski T**, Sobocińska J, Pawlikowska M, Działuk A, Wrotek S (2020) Extract from the *Coriolus versicolor* fungus as an anti-inflammatory agent with cytotoxic properties against endothelial cells and breast cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences* 21(23): 9063. doi: 10.3390/ijms21239063.

IF₂₀₂₀: 5,924; Q1; liczba cytowań: 16 (12 - bez autocytowań), punktacja MNiSW: 140

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj.: stymulacja komórek, badania cytotoksyczności, pomiar poziomu reaktywnych form tlenu, badanie migracji komórek, wykonanie testów ELISA oraz badań z użyciem techniki Western Blot, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w całości manuskryptu, przygotowanie większości rycin, korektę manuskryptu po recenzjach.

6. **Jędrzejewski T**, Sobocińska J, Pawlikowska M, Działuk A, Wrotek S (2022) Dual effect of the extract from the fungus *Coriolus Versicolor* on lipopolysaccharide-induced cytokine production in RAW 264.7 macrophages depending on the lipopolysaccharide concentration. *Journal of Inflammation Research* 15: 3599-3611. doi: 10.2147/JIR.S364945.

IF₂₀₂₂: 4,5; Q2; liczba cytowań: 9 (5 - bez autocytowań), punktacja MEiN: 140

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj.: stymulacja komórek i określenie ich żywotności, oznaczenia wykonane z użyciem technik ELISA i Western Blot, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w całości manuskryptu, przygotowanie większości rycin, korektę manuskryptu po recenzjach.

7. **Jędrzejewski T**, Sobocińska J, Maciejewski B, Spisz P, Walczak-Skierska J, Pomastowski P, Wrotek S (2025) In vitro treatment of triple-negative breast cancer cells with an extract from the *Coriolus versicolor* mushroom changes macrophage properties related to tumorigenesis. *Immunologic Research* 73 14. doi: 10.1007/s12026-024-09574-6.

IF₂₀₂₃: 3,3; Q3; liczba cytowań: 0 (0 - bez autocytowań), punktacja MEiN: 100

Mój wkład w powstawanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczeń, udział we wszystkich wykonywanych doświadczeniach, tj. analiza chemiczna ekstraktu, stymulacja komórek i określenie ich żywotności, pomiar poziomu reaktywnych form tlenu i aktywności enzymów, badanie migracji komórek, oznaczenia wykonane z użyciem techniki ELISA i cytometrii przepływowej, analizę, w tym statystyczną, wyników, napisanie w

całości manuskryptu, przygotowanie większości rycin, korektę manuskryptu po recenzjach, uzyskanie finansowania z NCN w ramach konkursu MINIATURA 3 (grant nr 2019/03/X/NZ6/00107).

Wstęp

Produkty naturalne, w tym leki pochodzące z roślin i grzybów, od wieków pełnią kluczową rolę w opiece zdrowotnej. W ciągu ostatnich trzech dekad naukowcy wyjaśnili mechanizmy działania wielu terapii opartych na naturalnych produktach, w tym chemioterapeutyków, takich jak topotekan [Pommier i wsp., 2010], etopozyd, tenipozyd [Björkholm, 1990], docetaksel czy paklitaksel [Alken i Kelly, 2013], co stanowi istotny krok w zrozumieniu ich potencjału terapeutycznego. Potwierdzeniem wzrastającego znaczenia produktów naturalnych we współczesnej medycynie jest przyznanie Nagrody Nobla w 2015 roku za odkrycie artemizyniny, związku przeciwmalarycznego pochodzącego z tradycyjnych chińskich ziół [Su i Miller, 2015].

Wśród naturalnych produktów, zyskujących na znaczeniu, wyróżniają się grzyby, które początkowo znane były głównie ze swoich walorów kulinarnych i odżywczych. Obecnie są coraz częściej doceniane ze względu na liczne właściwości lecznicze. Ich zastosowanie obejmuje m.in. działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwzapalne, przeciwgrzybiczne, przeciw pasożytnicze, immunomodulujące oraz przeciwnowotworowe. Dzięki tym właściwościom zainteresowanie mykoterapią rośnie, a w ciągu ostatnich 20-30 lat intensywnie badany jest ich potencjał terapeutyczny [Łysakowska i wsp., 2023; Venturella i wsp., 2021].

Do najczęściej badanych grzybów o potencjale leczniczym należą *Agaricus sylvaticus*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Lentinus edodes* oraz *Ophiocordyceps sinensis* [Bhambri i wsp., 2022; Jeitler i wsp., 2020]. Spośród ponad 270 gatunków grzybów o uznanych właściwościach terapeutycznych, *Coriolus versicolor* (L.) Quél. (1886) (CV; wrośniak różnobarwny) stanowi jeden z najczęściej badanych pod kątem jego zastosowania w medycynie. Jest to obligatoryjny aerob dziko rosnącym przez cały rok, najczęściej na martwych pniach i gałęziach drzew liściastych. W naturze występuje w postaci charakterystycznej grzybni, czemu zawdzięcza swoją potoczną nazwę Yun Zhi („grzyb chmura” w języku chińskim), Kawaratake (w języku japońskim) lub Turkey tail („indyczy ogon” w języku angielskim). W literaturze opisywany jest również m.in. jako *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (1920), *Polyporus versicolor* (L.) Fries (1821) czy *Agaricus versicolor*. Starożytna formuła CV jest stosowana w tradycyjnej chińskiej medycynie ziołowej od ponad

2000 lat, gdzie uważana jest za preparat przydatny do usuwania toksyn, poprawy funkcjonowania wątroby i śledziony oraz wzmacniania odpowiedzi immunologicznej, zwłaszcza, gdy jest podawany suszony i zmielony w formie naparu do picia [Jing i wsp., 2022; Farmakopea Chińskiej Republiki Ludowej].

Ekstrakt z CV wykazuje szereg właściwości leczniczych, w tym działanie przeciwutleniające, przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne, oraz ma zastosowanie w leczeniu chorób wątroby, cukrzycy, miażdżycy, chorób sercowo-naczyniowych, choroby zwyrodnieniowej stawów, choroby zapalnej jelit i wielu innych [Bains i wsp., 2021; Habtemariam, 2020; Jędrzejewski i wsp., 2023].

Jednym z najbardziej obiecujących obszarów badań nad *Coriolus versicolor* są jego właściwości przeciwnowotworowe. Liczne badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że związki aktywne w ekstrakcie CV wykazują cytotoksyczne działanie przeciwko wielu liniom komórek nowotworowych oraz hamują wzrost i tworzenie przerzutów nowotworów, co zostało szeroko opisane w kilku pracach przeglądowych [Habtemariam, 2020; He i wsp., 2022; Saleh i wsp., 2017], w tym również mojego autorstwa [Jędrzejewski i wsp., 2023]. Dodatkowo, CV wykazuje działanie immunostymulujące, które jest podstawą jego stosowania jako terapii wspomagającej w leczeniu nowotworów. Z tego powodu, w Chinach i Japonii ekstrakt z CV używany jest jako suplement diety o działaniu immunomodulującym, w szczególności w celu wzmocnienia układu odpornościowego oraz ochrony wątroby. Substancje aktywne w CV znajdują także zastosowanie w leczeniu nowotworów, zarówno w trakcie, jak i po chemioterapii oraz radioterapii. W badaniach klinicznych wykazano, że stosowanie CV może poprawić jakość życia pacjentów onkologicznych, przedłużając ich przeżycie i przeciwdziałając skutkom ubocznym terapii konwencjonalnych [Chang i wsp., 2017; Pilkington i wsp., 2022; Sivanesan i wsp., 2022].

W kontekście moich badań, szczególnym obszarem zainteresowań są właściwości immunomodulujące oraz przeciwzapalne ekstraktu z CV, które są istotne zarówno w procesach zapalnych, jak i w mechanizmach związanych z gorączką. Zagadnienia te stanowią centralny punkt mojej pracy badawczej od początku kariery naukowej. Prowadzone przeze mnie badania nad *Coriolus versicolor* są wyjątkowe, ponieważ koncentrują się na analizie jego wpływu na stan zapalny, który odgrywa kluczową rolę zarówno w prewencji, jak i terapii nowotworów. Elementem wyróżniającym te badania jest rola CV w kontekście dwóch przeciwstawnych, ale równie istotnych aspektów stanu zapalnego w onkologii: ostrego stanu zapalnego, który może działać jako mechanizm obronny organizmu i wspiera odpowiedź immunologiczną, oraz przewlekłego stanu zapalnego, który jest uznawany za czynnik przyczyniający się do rozwoju

nowotworów [Greten i Grivennikov, 2019, Nigam i wsp., 2023]. Takie podejście pozwala na głębsze zrozumienie złożonego wpływu CV na procesy zapalne w organizmie, a także na określenie jego potencjału w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej w kontekście zarówno terapii nowotworowej, jak i prewencji nowotworów związanych z przewlekłym stanem zapalnym.

Cel badań

Celem przeprowadzonych eksperymentów było zbadanie wpływu substancji aktywnych zawartych w ekstrakcie pochodzącym z grzyba *Coriolus versicolor* na procesy ogólnoustrojowe związane z termoregulacją oraz na komórki immunokompetentne i nowotworowe, przede wszystkim w warunkach stanu zapalnego *in vitro*.

Realizowane badania miały na celu zweryfikowanie przedstawionych poniżej hipotez badawczych i odpowiedzi na pytanie, czy związki bioaktywne zawarte w ekstrakcie CV:

1. wykazują właściwości pirogenne, indukując wzrost temperatury ciała w modelach eksperymentalnych poprzez aktywację mechanizmów termoregulacyjnych? (**publikacja #1**),
2. modulują gorączkę infekcyjną, wpływając na odpowiedź termoregulacyjną organizmu w kontekście stanów zapalnych, szczególnie w odpowiedzi na infekcje? (**publikacja #2**),
3. mają zdolność modulowania tolerancji endotoksynowej, wpływając na odpowiedź immunologiczną organizmu w reakcji na endotoksyny? (**publikacja #4**),
4. modulują aktywność komórek immunokompetentnych i nowotworowych w warunkach stanu zapalnego, wpływając na szlaki transdukcji sygnału prowadzące do ekspresji genów kodujących cytokiny prozapalne? (**publikacje #3, #5 i #6**),
5. wpływają na interakcje między makrofagami a komórkami nowotworowymi, kształtując mikrośrodowisko zapalne i nowotworowe poprzez modyfikację ich wzajemnych oddziaływań? (**publikacja #7**).

Omówienie uzyskanych wyników

W celu weryfikacji postawionych hipotez przeprowadziłem eksperymenty na poziomie integracyjnym (*in vivo* na szczurach), umożliwiające ocenę reakcji ogólnoustrojowych, jak i *in vitro* (na jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej oraz ustalonych, komercyjnie dostępnych liniach komórkowych), w celu oceny wpływu ekstraktu CV na komórki immunokompetentne i nowotworowe, a także zbadania interakcji pomiędzy tymi komórkami w obecności ekstraktu CV. Do pomiaru głębokiej temperatury ciała szczurów stosowałem

system biotelemetrii (Data Sciences International, Stany Zjednoczone Ameryki), który umożliwia wielodobową rejestrację temperatury ciała w przedziałach 5 minutowych u szczurów swobodnie poruszających się w swoich mieszkalnych klatkach, w pełnej izolacji od eksperymentatora. W ten sposób wyeliminowany został problem związany ze stresowym wzrostem temperatury ciała zwierząt. Podczas doświadczeń zwierzęta były poddawane iniekcjom dootrzewnowym (m.in. LPS, polisacharydopeptydy z ekstraktu CV, neutralizujące przeciwciała na cytokiny), domięśniowym (anestetyki) oraz procedurom anestezjologicznym i chirurgicznym. W próbach pobranych od zwierząt przeprowadziłem analizy z wykorzystaniem techniki immunoenzymatycznej ELISA, w celu oznaczenia osocznego stężenia cytokin. Z krwi szczurzej izolowałem także jednojądrzaste komórki krwi obwodowej, które były wykorzystywane do dalszych doświadczeń *in vitro*. Ponadto, badania na poziomie komórkowym wykonywałem na ustalonych liniach zakupionych z Europejskiej Kolekcji Linii Komórkowych (ang. European Collection of Authenticated Cell Cultures) i Amerykańskiej Kolekcji Hodowli Komórkowych (ang. American Type Culture Collection), takich jak mysie makrofagi RAW 264.7, ludzkie komórki śródbłónka żyły pępowinowej HUVEC (ang. human umbilical vein endothelial cells), ludzkie komórki raka piersi MCF-7 oraz mysie komórki raka piersi 4T1. Podczas eksperymentów na poziomie komórkowym wykorzystywałem następujące techniki i testy badawcze: testy immunoenzymatyczne (ELISA - do oceny stężenia cytokin wydzielanych przez komórki, a także Western Blot - do oceny ekspresji białek występujących w komórce i związanych ze ścieżkami sygnalizacyjnymi); test MTT (do oceny żywotności komórek); test LDH (do oceny cytotoksyczności związków); test DFC-DA (do oceny poziomu wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu), test „zarastania rany” (ang. scratch assay do oceny migracji komórek); testy biochemiczne do oceny stężenia całkowitej ilości białek, aktywności arginazy 1 oraz indukowanej syntazy tlenku azotu (ang. inducible nitric oxide synthase; iNOS); cytometria przepływowa (do oceny fenotypu makrofagów); test migracji i inwazji komórek (ang. transwell assays).

Do wszystkich przeprowadzanych eksperymentów używałem komercyjnie dostępnych kapsułek zawierających ekstrakt CV, które były zakupione w firmie MycoMedica (Czechy). Dzięki temu w badaniach wykorzystywałem materiał, który z jednej strony był dokładnie scharakteryzowany przez producenta i gwarantował powtarzalność wykonywanych oznaczeń. Z drugiej zaś strony, taki komercyjnie dostępny suplement może być powszechnie używany przez wszystkie zainteresowane osoby, dzięki czemu potencjalne korzyści wynikające z jego stosowania są dostępne dla szerszego grona odbiorców.

EKSTRAKT CV JAKO MODULATOR PROCESÓW ZWIĄZANYCH Z TERMOREGULACJĄ

Podstawowym celem eksperymentów przeprowadzonych w ramach publikacji **Jedrzejewski i wsp. (2014) (publikacja #1)** było zbadanie wpływu polisachrydopeptydu (PSP), stanowiącego główny bioaktywny składnik w ekstrakcie CV, na przebieg głębokiej temperatury ciała u szczurów. Dane literaturowe wskazywały, iż PSP posiada zdolność wzmacniania termowrażliwych procesów przeprowadzanych przez makrofagi, takich jak fagocytoza czy produkcja cytokin prozapalnych: interleukiny (IL) 1, IL-6 i czynnika martwicy nowotworów α (ang. tumor necrosis factor α ; TNF- α) oraz prostaglandyny E₂ (PGE₂) [Chan i Yeung, 2006; Sekhon i wsp., 2013], która uważana jest za kluczowy mediator gorączki [Kozak i wsp., 2000]. Ponadto, wymienione cytokiny są powszechnie opisywane jako szczególnie zaangażowane w mechanizm gorączki indukowanej przez różne molekularne wzorce patogenów (ang. pathogen-associated molecular patterns; PAMPs), zwane także pirogenami egzogennymi, których najlepiej zbadanym przedstawicielem jest inny polisacharydowy „modulator odpowiedzi biologicznej”, tj. lipopolisacharyd (LPS) wyekstrahowany z bakterii Gram-ujemnych [Kozak i wsp., 1998]. Na podstawie wymienionych danych literaturowych uznałem, że zbadanie wpływu PSP na temperaturę ciała jest istotnym zagadnieniem, szczególnie pod kątem rozważania jego zastosowania jako potencjalnego adiuwantu w leczeniu pacjentów onkologicznych, u których najczęściej gorączka się nie rozwija lub pacjentów z ciężkim przebiegiem infekcji. Dodatkowo, zidentyfikowany wpływ ekstraktu CV na czynniki zaangażowane w mechanizm indukcji gorączki endotoksynowej skłonił mnie do postawienia hipotezy, iż PSP, podobnie jak LPS, będzie indukował gorączkę, i tym samym będzie mógł zostać zaklasyfikowany do rodziny egzogennych pirogenów [Li i wsp., 2010].

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń zaskakująco różniły się od przyjętej przeze mnie hipotezy. Okazało się, iż dootrzewnowa iniekcja PSP powoduje zależny od dawki spadek głębokiej temperatury ciała szczurów, który utrzymywał się od 45 minut do 2 godzin od momentu wykonania iniekcji i trwał około 5 godzin, zanim temperatura ciała zwierząt powróciła do wartości kontrolnych. Ze względu na fakt, iż dane literaturowe wskazywały, że PSP stymuluje syntezę TNF- α przez makrofagi *in vitro* [Schepetkin i Quinn, 2006], a badania *in vivo*, że cytokina ta może wywierać działanie przeciwgorączkowe u szczurów [Klir i wsp., 1995], zdecydowałem się w kolejnym etapie zbadać rolę TNF- α w zaobserwowanym obniżeniu temperatury ciała. Wyniki oznaczenia stężenia TNF- α w osoczu szczurów 2 godziny od momentu wykonania iniekcji PSP wykazały, iż stężenie tej cytokiny jest wielokrotnie wyższe w porównaniu do zwierząt kontrolnych. Aby jednoznacznie potwierdzić rolę TNF- α w tym

zjawisku, w kolejnych doświadczeniach wykonałem dootrzewnowe iniekcje przeciwciał anti-TNF- α , które podawałem jedną godzinę przed iniekcjami PSP. Okazało się, iż zastosowanie przeciwciał całkowicie hamuje spadek temperatury ciała zwierząt indukowany PSP, co jednoznacznie potwierdzało kluczową rolę TNF- α w tym zjawisku. TNF- α to cytokina, która oddziałuje z dwoma odrębnymi transbłonowymi receptorami sygnalizacyjnymi, określanymi jako typ I (p55) i typ II (p75), wywołując odmienne efekty biologiczne. Jej związanie do receptora p75 indukuje gorączkę, podczas gdy połączenie TNF- α z receptorem p55 powoduje działanie kriogeniczne lub antypiretyczne [Netea i wsp., 2000]. Anapireksja to regulowany spadek temperatury ciała, określany mianem odwróconej gorączki. W warunkach niedotlenienia, np. podczas anemii, niedokrwienia, zaburzenia rytmu serca czy niedociśnienia, anapireksja ma działanie ochronne przed niedoborem tlenu, zmniejszając jego zużycie i spowalniając tempo uszkodzeń komórek, które powstają w wyniku tworzenia się wolnych rodników czy metabolitów chemicznych [Kozak i wsp., 2006a]. **Wyniki moich doświadczeń wykazały, iż PSP wywołuje efekt podobny do anapireksji, w którym istotną rolę pełni TNF- α .**

Wyniki przedstawione w publikacji **Jędrzejewski i wsp. (2014) (publikacja #1)** wskazały, iż polisacharyd peptydowy obecny w ekstrakcie CV jest czynnikiem modyfikującym odpowiedzi fizjologiczno-immunologiczne. Dodatkowo, PSP, stosowany w Chinach i Japonii jako adiuwant w terapii przeciwnowotworowej, może być podawany pacjentom onkologicznym, u których występuje gorączka infekcyjna. Z wymienionych powodów, celem pracy **Jędrzejewski i wsp. (2015) (publikacja #2)** było zbadanie roli PSP jako modulatora gorączki endotoksynowej wywołanej dootrzewnowym podaniem LPS. **Wykazałem, iż dootrzewnowe podanie PSP dwie godziny przed iniekcją LPS wydłuża czas trwania gorączki endotoksynowej u szczurów.** W celu poznania mechanizmu tego zjawiska oznaczyłem w osoczu, w dwóch punktach czasowych (3 i 14 godzin od momentu iniekcji PSP), stężenie TNF- α i IL-6. Są to cytokiny prozapalne powszechnie uznawane za tzw. pirogeny endogenne, czyli substancje stanowiące pierwszy wewnątrzkomórkowy etap molekularnego mechanizmu gorączki [Dinarello, 1999]. Uzyskane wyniki wskazały, że **wywołane przez PSP przedłużenie czasu trwania gorączki endotoksynowej jest prawdopodobnie związane z IL-6**, a nie z TNF- α , o czym świadczyła nadprodukcja IL-6 u zwierząt, którym podano PSP i LPS, w porównaniu do szczurów, u których wykonano iniekcje tylko LPS. W celu jednoznacznego potwierdzenia tej tezy, w kolejnych doświadczeniach podałem zwierzętom przeciwciała anti-IL-6, których zastosowanie spowodowało zablokowanie przedłużenia gorączki, **jednoznacznie potwierdzając kluczową rolę IL-6 w tym procesie.**

Znaczenie uzyskanych przeze mnie wyników nie tylko wiąże się z opisem potencjalnego przebiegu gorączki infekcyjnej u pacjentów, którym podaje się PSP podczas leczenia, ale może mieć także szersze znaczenie aplikacyjne. Dane literaturowe wskazują, iż gorączka bezpośrednio aktywuje układ immunologiczny do walki nie tylko z czynnikami infekcyjnymi, ale także z komórkami nowotworowymi, m.in. z udziałem endogennych pirogenów. Ponadto, zaobserwowano, iż pacjenci onkologiczni, u których po operacji wystąpiła gorączka przeżywają znacznie dłużej niż pacjenci bez gorączki, a także odnotowano przypadki samoistnej remisji nowotworu przeważnie po wystąpieniu incydentu gorączkowego [Hobohm, 2001; Hobohm i wsp., 2008; Wrotek i wsp., 2018]. Z drugiej strony, raporty kliniczne sugerują zmniejszoną częstotliwość występowania gorączki, a nawet niemożność jej indukcji u pacjentów chorych na raka [Wrotek i wsp., 2009]. Biorąc pod uwagę obserwacje kliniczne oraz coraz lepsze zrozumienie zagadnienia immunologii nowotworów, zwiększa się przekonanie naukowców, iż skuteczność immunoterapii przeciwnowotworowej może zostać poprawiona z udziałem gorączki [Køstner i wsp., 2013]. Na podstawie tych danych można rozważyć **zastosowanie PSP jako czynnika stymulującego organizmy pacjentów onkologicznych do wzbudzenia u nich gorączki, tym bardziej, iż samo PSP wykazuje właściwości przeciwnowotworowe.**

Na podstawie wyników eksperymentów związanych z modulującym wpływem związków zawartych w ekstrakcie CV na przebieg temperatury ciała oraz gorączki endotoksynowej, zdecydowałem się zbadać wpływ ekstraktu CV na proces tolerancji endotoksynowej indukowanej LPS u szczurów [Jędrzejewski i wsp., 2019] (**publikacja #4**). Tolerancja na endotoksynę to adaptacja układu immunologicznego pojawiająca się w wyniku powtarzającego narażenia organizmu na endotoksyny bakteryjne, takie jak LPS. Najczęściej opisywanym klinicznym przykładem tego zjawiska jest sepsa, ponieważ w obu przypadkach występuje stan immunosupresji. Objawia się on m.in. brakiem rozwoju gorączki, wynikającym z dysfunkcji komórek immunologicznych, tracących zdolność do produkcji IL-6 i TNF- α , czyli cytokin, których wydzielanie jest silnie modulowane przez ekstrakt CV w obecność LPS, co wykazałem w publikacji **Jędrzejewski i wsp. (2015) (publikacja #2)**. Mechanizm tolerancji endotoksynowej z jednej strony uważany jest za ochronny przeciwko szkodliwym skutkom ostrego zapalenia wywołanego endotoksynami [Seeley i Ghosh, 2017]. Z drugiej zaś strony, dane literaturowe wskazują, iż tolerancja endotoksynowa obserwowana u pacjentów z sepsą prowadzi do tak silnego stanu immunosupresji, iż ryzyko wystąpienia wtórnych infekcji, posocznicy, a nawet śmierci pacjentów jest wielokrotnie wyższe [Pena i wsp., 2014]. Ponadto, ostatnie badania prowadzone w Katedrze Immunologii UMK, w których uczestniczę wskazują,

iż tolerancja endotoksynowa zmienia właściwości makrofagów w kierunku komórek sprzyjających rozwojowi nowotworu [Roy i wsp., 2023].

W warunkach laboratoryjnych eksperymentalny model tolerancji endotoksynowej uzyskuje się w wyniku trzykrotnej iniekcji LPS w 24-godzinnych odstępach czasowych. W wyniku tej procedury następuje stopniowe hamowanie odpowiedzi gorączkowej na LPS, która w trzeciej dobie iniekcji nie jest praktycznie obserwowana. Wyniki moich badań wykazały, iż **podanie ekstraktu CV przed indukcją tolerancji endotoksynowej powoduje utrzymujący się wzrost temperatury ciała szczurów zarówno w drugiej, jak i trzeciej dobie podawania LPS**. Wyniki metaanaliz wyraźnie wykazują ujemną korelację między temperaturą ciała a śmiertelnością w przebiegu sepsy, której mechanizm podobny jest do tolerancji endotoksynowej, tzn. gorączka wiąże się ze spadkiem, natomiast anapireksja ze zwiększoną śmiertelnością wśród pacjentów z sepsą [Rumbus i wsp., 2017]. Na tej podstawie można wnioskować, iż **utrzymywanie się odpowiedzi gorączkowej wywołanej ekstraktem CV podczas tolerancji na endotoksynę jest zjawiskiem korzystnym, a tym samym zastosowanie ekstraktu CV może zwiększyć szanse przeżycia chorych na sepsę**.

Podczas tolerancji endotoksynowej, występujący brak zdolności rozwinięcia gorączki wynika z hamowania wydzielania przez komórki immunokompetentne cytokin prozapalnych, takich jak IL-6 i TNF- α , na skutek spadku aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (ang. nuclear factor κ B). Zjawisko to zaobserwowano m.in. u pacjentów chorych na sepsę, u których wyizolowane monocyty produkują znacznie mniejsze ilości cytokin prozapalnych w odpowiedzi na ponowną stymulację LPS *in vitro* niż komórki pochodzące od osób zdrowych [Draisma i wsp., 2009]. Z tego powodu celem kolejnych doświadczeń opisanych w tym samym artykule [Jędrzejewski i wsp., 2019; publikacja #4]) było zbadanie aktywności jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (ang. peripheral blood mononuclear cells; PBMCs) stymulowanych *in vitro* LPS i wyizolowanych od szczurów, którym podano wcześniej LPS lub ekstrakt CV i LPS. Uzyskane przeze mnie wyniki wykazały, iż podanie ekstraktu CV dwie godziny przed iniekcją LPS stymuluje komórki PBMCs do większej proliferacji i produkcji IL-6 oraz reaktywnych form tlenu (RFT) w porównaniu do zwierząt, którym podano tylko LPS, a opisanym efektom towarzyszy silniejsza aktywacja czynnika NF- κ B p65. Dodatkowo, zaobserwowałem, że podanie samego ekstraktu CV szczurom najsilniej pobudza wyizolowane komórki PBMCs do proliferacji, ekspresji czynnika NF- κ B p65 i wydzielania IL-6. Na podstawie wyników tych doświadczeń można wnioskować, iż **ekstrakt CV częściowo przelamuje tolerancję endotoksynową u szczurów, czego efektem jest podtrzymanie reakcji gorączkowej na skutek zwiększonej aktywności komórek PBMCs**. Fenotyp tych

komórek staje się bardziej ukierunkowany na profil prozapalny z jednoczesnym pobudzeniem wydzielania RFT, których kluczowa rola w zabijaniu patogenów, np. podczas sepsy, jest powszechnie znana.

EKSTRAKT CV JAKO MODULATOR FUNKCJONOWANIA KOMÓREK W WARUNKACH STANU ZAPALNEGO *IN VITRO*

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych *in vivo* i *in vitro* stanowiły dla mnie podstawę do dalszych badań związanych z wpływem ekstraktu CV na różne typy komórek. Moje badania na szczurach dostarczyły istotnych informacji o ogólnoustrojowym wpływie ekstraktu CV na procesy termoregulacyjne i reakcje immunologiczne. Jednak ograniczenia modelu zwierzęcego, takie jak złożoność i trudność w precyzyjnym badaniu molekularnych mechanizmów działania, skłoniły mnie do kontynuowania eksperymentów z wykorzystaniem układów wyłącznie w warunkach *in vitro*. Modele te pozwalają na izolowane i szczegółowe badania mechanizmów molekularnych, takich jak wpływ bioaktywnych związków na szlaki sygnalizacyjne, ekspresję genów oraz interakcje między różnymi typami komórek, w tym immunokompetentnymi i nowotworowymi. Dzięki temu możliwe stało się lepsze zrozumienie podstawowych procesów biologicznych oraz weryfikacja hipotez dotyczących działania ekstraktu w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych. Ogólnym celem badań *in vitro* było poznanie dokładniejszego mechanizmu oddziaływania ekstraktu CV nie tylko na komórki immunokompetentne, ale także nowotworowe w warunkach procesu zapalnego.

Ze względu na fakt, iż w eksperymentach wykonanych na szczurach zaobserwowałem wpływ ekstraktu CV na poziomy cytokin prozapalnych, takich jak IL-6 i TNF- α , naturalnym krokiem było rozszerzenie tych badań na bardziej kontrolowany model *in vitro*. Z tego powodu celem **Jędrzejewski i wsp. (2016) (publikacja #3)** było określenie wpływu polisacharydopeptydów (PBP), stanowiących najbardziej immunoreaktywny składnik ekstraktu CV, na produkcję cytokin prozapalnych, takich jak IL-6 i IL-1 β przez komórki PBMCs stymulowane LPS. Przesłanką do przeprowadzenia tych eksperymentów był fakt, iż obie wymienione cytokiny są uważane za kluczowe mediatory gorączki, pełniące funkcję tzw. pirogenów endogennych. Ponadto, komórki wchodzące w skład PBMCs, takie jak monocyty czy limfocyty powszechnie uznawane są za komórki zaangażowane w rozwój gorączki, ze względu na ich zdolność do wydzielania cytokin prozapalnych [Netea i wsp., 2000]. Uzyskane wyniki wykazały, iż PBMCs stymulowane wyłącznie ekstraktem CV wydzielają IL-6 i IL-1 β nie tylko w sposób zależny od czasu, ale także dawko-zależny, w postaci krzywej niemonotonicznej (ang. „U-shape response”). Dodatkowo okazało się, iż wstępna 24-godzinna

inkubacja PBMCs z użyciem PBP przed stymulacją LPS spowodowała zahamowanie produkcji IL-1 β i IL-6, w sposób zależny od dawki i czasu, co sugerowało swoistego rodzaju mechanistyczną konkurencję obu stymulatorów o receptory występujące na powierzchni komórek.

Bardziej dogłębna analiza mechanizmów tego zjawiska została przeze mnie przeprowadzona w dwóch kolejnych publikacjach, w których badałem wpływ ekstraktu CV na komórki raka piersi MCF-7, komórki śródbłónka naczyń krwionośnych HUVEC [Jędrzejewski i wsp., 2020; publikacja #5] oraz makrofagi RAW 264.7 [Jędrzejewski i wsp., 2022; publikacja #6] stymulowane LPS. W badaniach na PBMCs wykazałem ponadto, iż PBP stymulują proliferację tych komórek ponownie w sposób zależny od czasu jak i dawko-zależny, w postaci krzywej niemonotonicznej. Wyniki tych badań po raz pierwszy pokazały, iż **ekstrakt CV wykazuje mitogenne działanie względem komórek PBMCs, które dodatkowo jest spotęgowane w obecności LPS**. Opisane w tym artykule immunomodulujące właściwości ekstraktu CV, także w środowisku zapalnym, względem limfocytów T i B oraz monocytów mają istotne znaczenie pod kątem wykorzystania ekstraktu CV jako potencjalnego adiuwantu w terapii pacjentów onkologicznych, ponieważ pacjenci ci są szczególnie narażeni na infekcje bakteryjne.

Przewlekły stan zapalny jest powszechnie uważany za jeden z najważniejszych czynników epigenetycznych i środowiskowych, które przyczyniają się do onkogenezy i progresji nowotworu. Podczas reakcji zapalnej komórki immunokompetentne infiltrujące środowisko guza, wydzielają bioaktywne cząsteczki, takie jak IL-6, IL-8 czy metaloproteinaza (MMP) 9, które indukują proliferację komórek rakowych oraz śródbłónka naczyń krwionośnych, co przyczynia się do angiogenezy nowotworowej [Hanahan i Weinberg, 2011]. Z wymienionych powodów zastosowanie środków przeciwzapalnych w stanie przewlekłego stanu zapalnego jest niezbędne do zapobiegania nowotworom, jak i skutecznego ich leczenia. Jednakże wciąż poszukuje się nowych środków przeciwzapalnych, ponieważ długotrwałe stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych i innych leków przeciwzapalnych, takich jak kortykosteroidy, może powodować poważne skutki uboczne [Wong, 2019].

Odkrycie, iż ekstrakt CV hamuje produkcję cytokin prozapalnych przez komórki PBMCs stymulowane LPS [Jędrzejewski i wsp., 2016; publikacja #4] oraz szeroko dyskutowane jego właściwości przeciwnowotworowe [Jędrzejewski i wsp., 2023] sprawiły, iż celem pracy Jędrzejewski i wsp. (2020) (publikacja #5) było zbadanie wpływu ekstraktu CV na komórki raka piersi MCF-7 oraz śródbłónka naczyń krwionośnych HUVEC w warunkach stanu zapalnego *in vitro*. Do doświadczeń wybrałem linię komórkową, która reprezentuje jeden

z najczęściej występujących rodzajów nowotworu oraz linię komórek będących powszechnie stosowanym modelem wykorzystywanym do badań angiogenezy *in vitro*. Uzyskane wyniki wykazały, iż cytotoksyczne działanie ekstraktu CV na obie linie komórkowe, ocenione na podstawie aktywności metabolicznej komórek i integralności ich błony komórkowej, jest spotęgowane w obecności LPS, a opisywanemu zjawisku towarzyszy wzrost wewnątrzkomórkowej puli reaktywnych form tlenu. Doświadczenia te po raz pierwszy pokazały, iż **ekstrakt CV może działać cytotoksycznie także w środowisku zapalnym, w procesie, w którym istotną rolę odgrywa indukcja wewnątrzkomórkowego stresu oksydacyjnego**. Ponadto, wykazałem, iż **obecność ekstraktu CV podczas stymulacji komórek LPS zmniejsza poziom migracji obu rodzajów komórek**. Wielu autorów uważa, że efekt ten jest korzystny, ponieważ na skutek ekspozycji na LPS, migracja i inwazja komórek nowotworowych oraz komórek śródbłónka wzrasta [Yang i wsp., 2014; Sarmiento i wsp., 2014]. **Sugeruje to, że CV może działać jako potencjalny modulator procesów patologicznych związanych z zapaleniem, ograniczając agresywne zachowanie komórek nowotworowych oraz regulując funkcje śródbłónka. Wynik ten podkreśla potencjał terapeutyczny CV w kontekście procesów nowotworowych i zapalnych.** Opisywane badania realizowałem we współpracy z dr hab. Arturem Działukiem prof. UKW z Katedry Genetyki Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy.

Ze względu na fakt, iż środowisko zapalne stymuluje komórki raka piersi i komórki śródbłónka naczyń krwionośnych do produkcji m.in. cytokin prozapalnych i proangiogennych, co może sprzyjać rozwojowi nowotworu podczas chronicznego procesu zapalnego, w kolejnych doświadczeniach zbadałem wpływ ekstraktu CV na produkcję wybranych czynników, których rola w indukcji angiogenezy, proliferacji komórek rakowych czy powstawaniu przerzutów jest dobrze opisana. Wyniki tych badań jednoznacznie wskazały, iż w sposób zależny od dawki, **ekstrakt CV hamuje produkcję IL-6, IL-8 i MMP-9 zarówno przez komórki MCF-7, jak i HUVEC podczas jednoczesnej stymulacji LPS**. Traktowanie komórek samym ekstraktem CV powodowało nieznaczny wzrost produkcji tych trzech czynników przez komórki HUVEC oraz IL-6 przez komórki MCF-7. Należy jednak wyraźnie podkreślić, iż były to stężenia cytokin wielokrotnie niższe w porównaniu do komórek stymulowanych LPS i tylko nieznacznie wyższe od nietraktowanych komórek kontrolnych. W celu poznania mechanizmu przeciwzapalnej aktywności ekstraktu CV, w obu typach komórek zbadałem ekspresję dwóch cząsteczek, które ulegają aktywacji w wyniku stymulacji LPS: receptora inicjującego sygnalizację zapalną w odpowiedzi na LPS (Toll like receptor 4; TLR4) oraz białka inhibitorowego IκB, którego degradacja pod wpływem LPS prowadzi do

uwolnienia czynnika NF- κ B p65, czego efektem jest transkrypcja genów kodujących cytokiny prozapalne. Wyniki tych analiz wykazały, iż **ekstrakt CV zmniejsza ekspresję TLR4 w stymulowanych LPS komórkach HUVEC i MCF-7, a także ogranicza w nich fosforylację I κ B**. Ze względu na fakt, iż trwała aktywacja procesu zapalnego z udziałem TLR4 i NF- κ B może przyczyniać się do kancerogenezy [Awasthi, 2014], proliferacji, migracji i inwazji komórek nowotworowych oraz angiogenezy [Xia i wsp., 2014], to odkryty przeze mnie mechanizm przeciwzapalnego działania ekstraktu CV względem komórek raka piersi i śródbłonna naczyń krwionośnych jest niewątpliwie zjawiskiem korzystnym.

Wyniki moich doświadczeń jednoznacznie wskazały, iż ekstrakt CV wykazuje przeciwzapalne działanie względem różnych typów komórek, takich jak PBMCs, komórki raka piersi czy komórki śródbłonna. Rezultaty te były jak najbardziej korzystne z punktu widzenia zastosowania ekstraktu CV u pacjentów onkologicznych, a także innych osób cierpiących na przewlekłe stany zapalne. Pomimo tego pozytywnego obrazu moich dotychczasowych badań, cały czas zastanawiałem się, dlaczego ekstrakt CV, wykazujący przecież działanie przeciwzapalne, powodował jednocześnie przedłużenie czasu trwania gorączki endotoksynowej (**publikacja #2**), a nie prowadził do ograniczenia jej rozwoju. Z tego powodu, celem publikacji **Jędrzejewski i wsp. (2022) (publikacja #6)**, realizowanej we współpracy z dr hab. Arturem Działukiem prof. UKW w Bydgoszczy, było zbadanie, czy ekstrakt CV wykazuje zdolność do różnicowego modulowania odpowiedzi komórek na proces zapalny, w zależności od stopnia nasilenia reakcji zapalnej. Badania te wykonałem z wykorzystaniem makrofagów RAW 264.7 ze względu na fakt, iż wcześniejsze doświadczenia przeprowadzone w mojej Katedrze wykazały, iż u myszy pozbawionych funkcjonalnych limfocytów T i B (myszy scid) dochodzi do rozwoju gorączki endotoksynowej wywołanej iniekcją LPS. Na tej podstawie można zatem wnioskować, że fagocytarne komórki linii mieloidalnej odgrywają istotniejszą rolę podczas indukcji gorączki niż limfocyty [Kozak i wsp., 2006b]. W doświadczeniach zastosowałem modele *in vitro*, które naśladują łagodny, normalny i ciężki stan zapalny, stosując trzy różne stężenia LPS.

W pierwszych doświadczeniach wykazałem, iż sam ekstrakt CV pobudza makrofagi RAW 264.7 do produkcji IL-6 i TNF- α , podobnie jak w przypadku innych badanych przez mnie komórek, w sposób dawko-zależny. Następnie zastosowałem specyficzne inhibitory dla TLR4 (TAK-242), NF- κ B (JSH-23) oraz kinazy fosfatydylo-3-fosfoinozytolu (PI3K) (LY294002). Inhibitory te, powszechnie wykorzystywane w badaniach nad mechanizmami działania LPS, dotąd nie były stosowane w badaniach nad wpływem ekstraktu *Coriolus versicolor* (CV). Wykazałem, że blokowanie wymienionych elementów szlaku sygnalizacyjnego hamuje

wydzielanie cytokin prozapalnych przez makrofagi. Przeprowadzone przeze mnie doświadczenia były pierwszymi, w których zastosowano specyficzne małowcząsteczkowe inhibitory do oceny szlaków sygnalizacyjnych prowadzących do ekspresji cytokin prozapalnych pod wpływem stymulacji ekstraktem CV. Badania te wykazały, iż użyte inhibitory mogą skutecznie hamować produkcję cytokin indukowaną ekstraktem CV, co sugeruje, iż modulacja szlaków sygnalizacyjnych TLR4, NF- κ B oraz PI3K może być kluczowa dla regulacji odpowiedzi zapalnej wywołanej tym ekstraktem. Należy podkreślić, iż takie inhibitory, w porównaniu z inhibitorami wielkocząsteczkowymi (np. przeciwciałami monoklonalnymi), charakteryzują się większą zdolnością wnikania do komórek i tym samym bardziej efektywnym blokowaniem wewnątrzkomórkowych białek docelowych. Rola TLR4, NF- κ B oraz PI3K w opisanym zjawisku została potwierdzona przeze mnie także poprzez oznaczenie ekspresji tych cząsteczek z użyciem techniki Western Blot. Dodatkowo, podwyższoną ekspresję w stymulowanych ekstraktem CV makrofagach zaobserwowałem w przypadku CD14, czyli antygenu powierzchniowego, który pełni rolę ko-receptora dla TLR4 podczas rozpoznawania LPS. Zdolność ekstraktu CV do indukowania ekspresji TLR4 i NF- κ B w innych typach komórek była już wcześniej opisywana przeze mnie i innych autorów. **Jednak przedstawione w tej publikacji wyniki poszerzyły wiedzę na temat immunomodulacyjnych właściwości ekstraktu CV wskazując po raz pierwszy, iż szlak sygnałowy PI3K jest także pobudzany przez badany ekstrakt.** Szlak ten wpływa na wiele różnych procesów zachodzących w makrofagach, takich jak odpowiedź na sygnały metaboliczne i zapalne, modulacja polaryzacji tych komórek czy kontrola ich migracji i proliferacji. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują, iż stosując ekstrakt CV możemy te wszystkie procesy modulować w makrofagach.

Przedstawione w niniejszej **publikacji #6** wyniki pokazały, iż ko-stymulacja makrofagów RAW 264.7 ekstraktem CV i LPS w niższych stężeniach (10 i 100 ng/ml) zwiększa produkcję IL-6 i TNF- α w porównaniu z komórkami traktowanymi tylko LPS. W przypadku jednoczesnej stymulacji komórek ekstraktem CV i LPS w wysokiej dawce (500 ng/ml) zaobserwowałem z kolei zahamowanie wydzielania cytokin. W celu zbadania mechanizmu tego zjawiska, w kolejnych doświadczeniach oznaczyłem poziom białkowej ekspresji TLR4, CD14, fosforylowanego I κ B (p-I κ B) oraz fosforylowanego PI3K (p-PI3K). Rola trzech pierwszych czynników w indukowanej LPS odpowiedzi zapalnej jest dobrze udokumentowana. W wykonywanych badaniach zdecydowałem się także oznaczyć poziom p-PI3K, ponieważ pojawia się coraz więcej doniesień naukowych wskazujących, iż szlak z udziałem tej kinazy w istotny sposób wpływa na aktywację TLR4 i NF- κ B [Hawkins i

Stephens; 2015]. Wyniki tych oznaczeń korelowały z zaobserwowanymi przeze mnie zmianami stężeń cytokin, tzn. obecność ekstraktu CV podczas stymulacji komórek niższą dawką LPS (100 ng/ml) miała addytywny wpływ na ekspresję p-IkB i p-PI3K, podczas gdy wyższa dawka LPS (500 ng/ml) w obecności ekstraktu CV zmniejszała ich ekspresję. W przypadku pomiaru ekspresji TLR4 i CD14 zaobserwowałem, iż ekstrakt CV zahamował ekspresję obu cząsteczek bez względu na zastosowaną dawkę LPS. **Odkryty przeze mnie dualistyczny wpływ ekstraktu CV na makrofagi stymulowane LPS prawdopodobnie związany jest z jego zdolnością do aktywacji szlaku sygnałowego PI3K.** Wyniki te stanowią kolejny krok w bardziej dogłębnym poznaniu immunomodulujących właściwości ekstraktu CV, a tym samym bardziej efektywnego wykorzystania w klinice, szczególnie u pacjentów cierpiących na choroby, którym towarzyszy przewlekły stan zapalny, np. nowotwory, zapalenie wątroby czy przewlekłe zapalenie oskrzeli.

EKSTRAKT CV JAKO MODULATOR INTERAKCJI POMIĘDZY MAKROFAGAMI A KOMÓRKAMI NOWOTWOROWYMI

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych na komórkach nowotworowych oraz makrofagach wykazały, iż ekstrakt CV jest silnym modulatorem aktywności tych komórek, poprzez swoją zdolność do wpływania na wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacyjne. Z tego względu, celem artykułu **Jędrzejewski i wsp. (2025) (publikacja #7)** było zbadanie, czy ekstrakt CV jest także zdolny do modulowania właściwości makrofagów *in vitro*, w środowisku, w którym obecne są czynniki wydzielane przez komórki potrójnie ujemnego raka piersi (ang. triple negative breast cancer cells; TNBCs). Ten rodzaj nowotworu charakteryzuje się brakiem receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz nadekspresji receptora HER2 (ang. human epidermal growth factor receptor 2), co uniemożliwia zastosowanie hormonoterapii oraz terapii celowanej na receptor HER2. Z tego powodu leczenie pacjentów z TNBC jest ograniczone, a terapia opiera się głównie na chemioterapii, która nie zawsze przynosi zadowalające efekty [Al-Mahmood i wsp., 2018]. **Dlatego w przypadku TNBC poszukuje się nowych strategii terapeutycznych, a moje badania wskazują, że jednym z obiecujących kierunków może być wykorzystanie ekstraktu CV.**

Potrójnie ujemny rak piersi cechuje się unikalnym mikrośrodowiskiem, odmiennym od innych podtypów raka piersi, związanym z naciekiem bardzo dużej ilości tzw. makrofagów towarzyszących nowotworowi (ang. tumour-associated macrophages; TAMs), które wykazują plastyczność fenotypową. We wczesnych stadiach rozwoju raka dominują makrofagi M1 o właściwościach przeciwnowotworowych, ale gdy czynniki wydzielane przez komórki rakowe

zaczynają modulować mikrośrodowisko guza, w obrębie niego dominującym staje się immunosupresyjny fenotyp M2, który uważany jest za pronowotworowy [Pei wsp., 2022]. Z wymienionych powodów, jednym z podejść do terapii skierowanych na potrójnie ujemny rak piersi są strategie nakierowane na makrofagi, których celem jest zabicie istniejących TAMs, hamowanie ich nacieku do guza lub przeprogramowanie ich fenotypu z komórek M2 na M1 [Duan i Luo, 2021]. Do zbadania wpływu ekstraktu CV na interakcje pomiędzy makrofagami a komórkami TNBCs wykorzystałem pożywki kondycjonowane uzyskane po stymulacji komórek rakowych nietoksycznym stężeniem ekstraktu lub po inkubacji nietraktowanych komórek kontrolnych. Uzyskane wyniki wykazały, iż **ekstrakt CV zmienia fenotyp makrofagów stymulowanych pożywką kondycjonowaną z M2 na M1**, co zostało wykazane z użyciem kilku rodzajów markerów, takich jak ekspresja molekuł powierzchniowych (CD80 i CD163), aktywność enzymów (iNOS i arginazy 1), a także poziom produkcji cytokin prozapalnych (IL-6 i TNF- α) oraz immunosupresyjnych (IL-10 i transformujący czynnik wzrostu β (ang. transforming growth factor β ; TGF- β)). Ponadto, **obecność ekstraktu CV w pożywce kondycjonowanej hamowała wydzielanie czynników, które indukują powstawanie przerzutów oraz angiogenezę**, takich jak monocytarne białko chemoatrakcyjne 1 (ang. monocyte chemoattractant protein 1; MCP-1) oraz czynnik wzrostu śródbłónki naczyniowej (ang. vascular endothelial growth factor; VEGF). Badany ekstrakt **potęgował także cytotoksyczne działanie pożywki kondycjonowanej względem makrofagów, obniżał wewnątrzkomórkowy poziom reaktywnych form tlenu oraz zmniejszał ich zdolność do migracji**. Wyniki tych doświadczeń także należy uznać za korzystne, ze względu na fakt, iż intensywny naciek dużej liczby makrofagów do guza oraz występowanie w obrębie niego stresu oksydacyjnego są zjawiskami, które mogą sprzyjać jego rozwojowi.

W niniejszym artykule #7 wykazałem *in vitro*, iż **ekstrakt CV zmienia właściwości makrofagów z pronowotworowych na przeciwnowotworowe w mikrośrodowisku potrójnie ujemnych komórek raka piersi**. Obecnie, terapie nakierowane na TAMs stanowią jedną z najszerzej badanych strategii leczenia pacjentów onkologicznych. Potrzebne są oczywiście dalsze badania *in vivo*, ale wyniki moich dotychczasowych doświadczeń wskazują, iż **warto rozważyć zastosowanie ekstraktu CV jako potencjalnego czynnika hamującego negatywny wpływ TAMs na leczenie pacjentów chorych na potrójnie ujemnego raka piersi**.

Znaczenie i podsumowanie uzyskanych wyników badań

Moje badania, składające się na główne osiągnięcie naukowe, będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w znacznym stopniu poszerzają wiedzę na temat immunomodulujących właściwości substancji aktywnych zawartych w ekstrakcie z *Coriolus versicolor*. Pomimo faktu, iż grzyb ten jest jednym z najszerzej badanych gatunków pod kątem zastosowań medycznych, w przedstawionych badaniach skupiłem się na niszowych, dotąd niebadanych wątkach, tj.: wpływie ekstraktu z CV na: 1) procesy związane z termoregulacją, 2) właściwości komórek immunologicznych i nowotworowych w warunkach stanu zapalnego oraz 3) interakcje pomiędzy makrofagami a komórkami raka piersi.

Wykazałem, iż substancje aktywne zawarte w ekstrakcie CV powodują anapirektyczny spadek temperatury ciała, który jest zjawiskiem zależnym od TNF- α . Kolejne badania *in vivo* związane z procesami termoregulacji pokazały, iż ekstrakt CV przedłuża czas trwania gorączki endotoksynowej oraz posiada zdolność częściowego przełamania tolerancji endotoksynowej na skutek zwiększonej aktywności komórek PBMCs. Wyniki tych doświadczeń wskazują, iż ekstrakt CV, dzięki silnej aktywacji komórek „gorączkotwórczych”, może być rozpatrywany jako potencjalny adiuwant u pacjentów, u których występuje stan immunosupresji, m.in. przejawiający się brakiem wzrostu temperatury ciała podczas infekcji bakteryjnej. Przełamanie stanu immunosupresji u pacjentów onkologicznych czy chorych na sepsę jest zjawiskiem korzystnym, a samo pojawienie się u nich gorączki pozytywnie koreluje z lepszymi rokowaniami dla ich leczenia, jak i długości życia.

Kolejne doświadczenie wykonane w warunkach *in vitro* wykazały, iż z jednej strony ekstrakt CV stymuluje proliferację komórek immunologicznych PBMCs, z drugiej strony zaś działa cytotoksycznie względem komórek raka piersi i śródbłónka naczyń krwionośnych. Co istotne, w moich doświadczeniach wykazałem, iż to selektywne działanie jest spotęgowane w warunkach stanu zapalnego, czyli podczas stymulacji LPS. Ponadto, wyniki tych badań pokazały, iż ekstrakt CV działa przeciwzapalnie, hamując produkcję cytokin prozapalnych przez wszystkie trzy wymienione rodzaje komórek, co w przypadku komórek śródbłónka i raka piersi związane jest z obniżoną ekspresją receptora TLR4 oraz fosforylacją białka inhibitorowego I κ B. Odkryte przeze mnie właściwości przeciwzapalne, cytotoksyczne i anty-migracyjne ekstraktu CV względem komórek śródbłónka i raka piersi pozwalają rozpatrywać jego zastosowanie jako potencjalnego modulatora stanu zapalnego u pacjentów onkologicznych, a tym samym minimalizować ryzyko powstawania środowiska, które sprzyja progresji nowotworu i angiogenezie.

Zastosowanie przeze mnie małowcząsteczkowych, specyficznych inhibitorów w makrofagach stymulowanych ekstraktem CV wykazało, iż jest on w stanie pobudzać produkcję cytokin prozapalnych z udziałem nie tylko TLR4 i NF- κ B, ale także szlaku sygnałowego PI3K. Dodatkowo, uzyskane przeze mnie wyniki wskazały na dualistyczny wpływ ekstraktu CV na makrofagi stymulowane LPS, który w różny sposób moduluje odpowiedź komórek na zapalenie, w zależności od stopnia nasilenia tego procesu. Wszystkie te wyniki zwiększają wiedzę na temat immunomodulujących właściwości ekstraktu CV, co może znaleźć odniesienie w jego potencjalnym wykorzystaniu podczas leczenia osób cierpiących na choroby, którym towarzyszy przewlekły stan zapalny, jak np. reumatoidalne zapalenie stawów, cukrzyca typu 2 czy nadciśnienie tętnicze.

Wyniki moich doświadczeń wykazały, iż ekstrakt CV nie tylko moduluje funkcje komórek immunokompetentnych i nowotworowych w warunkach stanu zapalnego, ale także wpływa na interakcje pomiędzy makrofagami a komórkami potrójnie ujemnego raka piersi, które reprezentują jeden z najbardziej agresywnych i najtrudniejszych do wyleczenia rodzajów nowotworu. Ekstrakt CV stanowi czynnik, który zaburza komunikację pomiędzy wymienionymi typami komórek, tworząc mikrośrodowisko, w którym przywrócona jest zdolność funkcjonowania makrofagów jako komórek wykazujących aktywność przeciwnowotworową. Z wymienionych powodów, jego zastosowanie pod kątem terapii nakierowanych na makrofagi towarzyszące nowotworom może potencjalnie zwiększać szanse przeżycia pacjentów onkologicznych.

Realizacja tak zróżnicowanych badań zarówno na poziomie ogólnoustrojowym, jak i komórkowym była możliwa dzięki zdobytym przeze mnie umiejętnościom, które rozwijałem od początku mojej kariery naukowej. W kontekście badań nad grzybem *Coriolus versicolor* szczególnie nowatorskie są eksperymenty *in vivo*, dotyczące modulującego wpływu ekstraktu CV na gorączkę oraz tolerancję endotoksynową, które nie należą do powszechnie wykonywanych w świecie nauki.

Plany przyszłych badań

Grzyb *Coriolus versicolor* jest jednym z najczęściej badanych gatunków pod kątem potencjalnego zastosowania w medycynie, czego potwierdzeniem jest liczba publikacji na jego temat, która w ciągu ostatnich 5 lat wynosi około 400 w bazie PubMed. Z tego powodu, chciałbym nadal kontynuować doświadczenia związane z immunomodulującymi i przeciwnowotworowymi właściwościami ekstraktu CV. W dalszej perspektywie zamierzam skupić się na próbie identyfikacji i izolacji nowych, jak dotychczas nieopisanych, białek

obecnych w ekstrakcie CV oraz zbadaniu ich właściwości immunostymulujących. Realizację tych planów chciałbym oprzeć na wynikach wstępnych badań przeprowadzonych podczas stażu na Uniwersytecie w Pardubicach oraz w ramach kontynuowania nawiązanej tam współpracy. Pomimo faktu, iż *Coriolus versicolor* jest jednym z najlepiej poznanych grzybów leczniczych, to wciąż prowadzone są badania mające na celu poszukiwanie w jego ekstrakcie nowych białek lub polisacharydów, które odpowiadają za jego właściwości immunologiczne. Przykładowo w ostatnim czasie scharakteryzowano nowe białko, musarynę o masie 12 kDa, które wykazuje zdolność hamowania wzrostu wielu linii komórek ludzkiego raka jelita grubego *in vitro* i ogranicza rozwój nowotworu jelita grubego *in vivo* [He i wsp., 2021]. Wstępne wyniki doświadczeń przeprowadzonych na Uniwersytecie w Pardubicach wskazują, iż w ekstrakcie CV znajduje się prawdopodobnie kilka niewielkich białek o masie poniżej 10 kDa, których identyfikacją oraz zbadaniem właściwości immunomodulujących planuję zająć się w najbliższej przyszłości. Dodatkowo, chciałbym również kontynuować badania związane z potencjalnym wykorzystaniem ekstraktu CV jako czynnika zdolnego do przeprogramowywania fenotypu makrofagów towarzyszących nowotworom w kierunku komórek o właściwościach przeciwnowotworowych. Rozpoczęte przeze mnie doświadczenia chciałbym rozszerzyć pod kątem poznania mechanizmów tego zjawiska, interakcji makrofagów z komórkami reprezentującymi inne rodzaje nowotworów i przede wszystkim wykonać analizy w warunkach *in vivo*.

Do badań opisanych w ramach niniejszego autoreferatu używałem ekstraktu z wrośniaka różnobarwnego zakupionego z czeskiej firmy MycoMedica, natomiast, zgodnie z danymi producenta, ekstrakt ten został pozyskany z wysuszonych owocników grzybów rosnących na pniach drzew liściastych w chińskich górach. Zgodnie z dostępnymi danymi literaturowymi, w badaniach podstawowych, jak i klinicznych stosuje się całe ekstrakty, jak i izolowane z nich pojedyncze związki pochodzące z grzybów rosnących w Chinach. Niemniej jednak, wrośniak różnobarwny jest grzybem, który powszechnie występuje także w lasach w innych częściach świata, zarówno w strefie klimatu umiarkowanego, jak i tropikalnego. Można go także spotkać na obszarach niemal całej Polski, za wyjątkiem wyższych partii gór. W związku z tym, w najbliższym czasie chciałbym rozpocząć badania związane z ekstraktami wyizolowanymi z wrośniaka różnobarwnego rosnącego w Polsce, ze szczególnym uwzględnieniem województwa kujawsko-pomorskiego. Ograniczenie do tego regionu być może umożliwi mi pozyskanie finansowania w ramach konkursów organizowanych przez tutejszy Urząd Marszałkowski. W ramach tych badań chciałbym przeprowadzić analizę składu „polskich” ekstraktów pod kątem występowania w nich substancji biologicznie aktywnych oraz

zweryfikować, czy mogą one także posiadać właściwości immunomodulujące i przeciwnowotworowe.

Literatura

- Al-Mahmood S, Sapiezynski J, Garbuzenko OB, Minko T (2018) Metastatic and triple-negative breast cancer: challenges and treatment options. *Drug Deliv Trans Res* 8(5): 1483-1507.
- Alken S, Kelly CM (2013) Benefit risk assessment and update on the use of docetaxel in the management of breast cancer. *Cancer Manag Res* 5: 357-365.
- Awasthi S (2014) Toll-like receptor-4 modulation for cancer immunotherapy. *Front Immunol* 5: 328.
- Bains A, Chawla P, Kaur S, Najda A, Fogarasi M, Fogarasi S (2021) Bioactives from Mushroom: Health Attributes and Food Industry Applications. *Materials (Basel)* 14(24): 7640.
- Bhambri A, Srivastava M, Mahale VG, Mahale S, Karn SK (2022) Mushrooms as Potential Sources of Active Metabolites and Medicines. *Front Microbiol* 13: 837266.
- Björkholm M (1990) Etoposide and teniposide in the treatment of acute leukemia. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 7(1): 3-10.
- Chan SL, Yeung JH (2006) Polysaccharide peptides from COV-1 strain of *Coriolus versicolor* induce hyperalgesia via inflammatory mediator release in the mouse. *Life Sci* 78(21): 2463-2470.
- Chang Y, Zhang M, Jiang Y, Liu Y, Luo H, Hao C, Zeng P, Zhang L (2017) Preclinical and clinical studies of *Coriolus versicolor* polysaccharopeptide as an immunotherapeutic in China. *Discov Med*. 23(127): 207-219.
- Dinareello CA (1999) Cytokines as endogenous pyrogens. *J Infect Dis* 179(2): S294-S304.
- Draisma A, Pickkers P, Bouw MP, van der Hoeven JG (2009) Development of endotoxin tolerance in humans in vivo. *Crit Care Med* 37(4): 1261-1267.
- Duan Z, Luo Y (2021) Targeting macrophages in cancer immunotherapy. *Signal Transduct Target Ther* 6(1): 127.
- Farmakopea Chińskiej Republiki Ludowej* (2020), wyd. 11, China Medical Science and Technology Press: Beijing, China, pp. 61–62.
- Greten FR, Grivennikov SI (2019) Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity* 51(1): 27-41.
- Habtemariam S (2020) *Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) Polysaccharides in Cancer Therapy: Targets and Efficacy. *Biomedicines* 8(5): 135.
- Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5): 646-674.
- Hawkins PT, Stephens LR (2015) PI3K signalling in inflammation. *Biochim Biophys Acta* 1851(6): 882-897.
- He YY, Liu S, Newburg DS (2021) Musarin, a Novel Protein with Tyrosine Kinase Inhibitory Activity from *Trametes Versicolor*, Inhibits Colorectal Cancer Stem Cell Growth. *Biomed Pharmacother* 144:112339.
- He Z, Lin J, He Y, Liu S (2022) Polysaccharide-Peptide from *Trametes versicolor*: The Potential Medicine for Colorectal Cancer Treatment. *Biomedicines* 10(11): 2841.
- Hobohm U (2001) Fever and cancer in perspective. *Cancer Immunol Immunother* 50(8): 391-396.
- Hobohm U, Stanford JL, Grange JM (2008) Pathogen-associated molecular pattern in cancer immunotherapy. *Crit Rev Immunol* 28(2): 95-107.

- Jeitler M, Michalsen A, Frings D, Hübner M, Fischer M, Koppold-Liebscher DA, Murthy V, Kessler CS (2020) Significance of Medicinal Mushrooms in Integrative Oncology: A Narrative Review. *Front Pharmacol* 11: 580656.
- Jędrzejewski T, Piotrowski J, Wrotek S, Kozak W (2014) Polysaccharide peptide induces a tumor necrosis factor- α -dependent drop of body temperature in rats. *J Therm Biol* 44: 1-4.
- Jędrzejewski T, Piotrowski J, Kowalczywska M, Wrotek S, Kozak W (2015) Polysaccharide peptide from *Coriolus versicolor* induces interleukin 6-related extension of endotoxin fever in rats. *Int J Hyperthermia* 31(6): 626-634.
- Jędrzejewski T, Pawlikowska M, Piotrowski J, Kozak W (2016) Protein-bound polysaccharides from *Coriolus versicolor* attenuate LPS-induced synthesis of pro-inflammatory cytokines and stimulate PBMCs proliferation. *Immunol Lett* 178: 140-147.
- Jędrzejewski T, Piotrowski J, Pawlikowska M, Wrotek S, Kozak W (2019) Extract from *Coriolus versicolor* fungus partially prevents endotoxin tolerance development by maintaining febrile response and increasing IL-6 generation. *J Therm Biol* 83: 69-79.
- Jędrzejewski T, Sobocińska J, Pawlikowska M, Działuk A, Wrotek S (2020) Extract from the *Coriolus versicolor* Fungus as an Anti-Inflammatory Agent with Cytotoxic Properties against Endothelial Cells and Breast Cancer Cells. *Int J Mol Sci* 21(23): 9063.
- Jędrzejewski T, Sobocińska J, Pawlikowska M, Działuk A, Wrotek S (2022) Dual Effect of the Extract from the Fungus *Coriolus versicolor* on Lipopolysaccharide-Induced Cytokine Production in RAW 264.7 Macrophages Depending on the Lipopolysaccharide Concentration. *J Inflamm Res* 15: 3599-3611.
- Jędrzejewski T, Pawlikowska M, Sobocińska J, Wrotek S (2023) COVID-19 and cancer - the potential of *Coriolus versicolor* mushroom to combat global health challenges. *Int J Mol Sci* 24(5): 4864.
- Jędrzejewski T, Sobocińska J, Maciejewski B, Spisz P, Walczak-Skierska J, Pomastowski P, Wrotek S (2025) In vitro treatment of triple-negative breast cancer cells with an extract from the *Coriolus versicolor* mushroom changes macrophage properties related to tumorigenesis. *Immunol Res* 73: 14.
- Jing Y, Zhang S, Li M, Ma Y, Zheng Y, Zhang D, Wu L (2022) Research Progress on the Extraction, Structure, and Bioactivities of Polysaccharides from *Coriolus versicolor*. *Foods* 11(14): 2126.
- Klir JJ, McClellan JL, Kozak W, Szelényi Z, Wong GH, Kluger MJ (1995) Systemic but not central administration of tumor necrosis factor- α attenuates LPS-induced fever in rats. *Am J Physiol* 268 (2 Pt 2): R480-R486.
- Kozak W, Kluger MJ, Soszynski D, Conn CA, Rudolph K, Leon LR, Zheng H (1998) IL-6 and IL-1 β in fever. Studies using cytokine-deficient (knockout) mice. *Ann N Y Acad Sci* 856: 33-47.
- Kozak W, Kluger MJ, Tesfagzi J, Kozak A, Mayfield KP, Wachulec M, Dokładny K (2000) Molecular mechanisms of fever and endogenous antipyresis. *Ann N Y Acad Sci* 917: 121-134.
- Kozak W, Wrotek S, Walentynowicz K (2006a) Hypoxia-induced sickness behaviour. *J Physiol Pharmacol* 57(8): 35-50.
- Kozak W, Wrotek S, Walentynowicz K, Waszak P (2006b) Fever and symptoms of sickness are present in mice lacking functional B and T lymphocytes. *Acta Biologica Cracoviensis* 48: 9-20.
- Køstner AH, Johansen RF, Schmidt H, Mølle I (2013) Regression in cancer following fever and acute infection. *Acta Oncol* 52(2): 455-457

- Li W, Liu M, Lai S, Xu C, Lu F, Xiao X, Bao Y (2010) Immunomodulatory effects of polysaccharopeptide (PSP) in human PBMC through regulation of TRAF6/TLR immunosignal-transduction pathways. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 32(4): 576-584.
- Łysakowska P, Sobota A, Wirkijowska A (2023) Medicinal Mushrooms: Their Bioactive Components, Nutritional Value and Application in Functional Food Production-A Review. *Molecules* 28(14): 5393.
- Netea MG, Kullberg BJ, Van der Meer JW. (2000) Circulating cytokines as mediators of fever. *Clin Infect Dis* 31(5): S178-S184.
- Nigam M, Mishra AP, Deb VK, Dimri DB, Tiwari V, Bungau SG, Bungau AF, Radu AF (2023) Evaluation of the association of chronic inflammation and cancer: Insights and implications. *Biomed Pharmacother* 164: 115015.
- Pe KCS, Saetung R, Yodsurang V, Chaotham C, Suppipat K, Chanvorachote P, Tawinwung S (2022) Triple-negative breast cancer influences a mixed M1/M2 macrophage phenotype associated with tumor aggressiveness. *PLoS One* 17(8): e0273044.
- Pena OM, Hancock DG, Lyle NH, Linder A, Russell JA, Xia J, Fjell CD, Boyd JH, Hancock RE (2014) An Endotoxin Tolerance Signature Predicts Sepsis and Organ Dysfunction at Initial Clinical Presentation. *EBioMedicine* 1(1): 64-71.
- Pilkington K, Wieland LS, Teng L, Jin XY, Storey D, Liu JP (2022) Coriolus (Trametes) versicolor mushroom to reduce adverse effects from chemotherapy or radiotherapy in people with colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 11(11): CD012053.
- Pommier Y, Leo E, Zhang H, Marchand C (2010) DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chem Biol* 17(5): 421-433.
- Roy K, Kozłowski HM, Jędrzejewski T, Sobocińska J, Maciejewski B, Działuk A, Wrotek S (2023) Endotoxin tolerance creates favourable conditions for cancer development. *Cancers (Basel)* 15(20): 5113.
- Rumbus Z, Garami A. Fever, hypothermia, and mortality in sepsis: Comment on: Rumbus Z, Matics R, Hegyi P, Zsiborás C, Szabo I, Illes A, Petervari E, Balasko M, Marta K, Miko A, Parniczky A, Tenk J, Rostas I, Solymar M, Garami A (2017) Fever is associated with reduced, hypothermia with increased mortality in septic patients: a meta-analysis of clinical trials. *PLoS One* 12(1): e0170152.
- Saleh MH, Rashedi I, Keating A (2017) Immunomodulatory Properties of Coriolus versicolor: The Role of Polysaccharopeptide. *Front Immunol* 8: 1087.
- Sarmiento D, Montorfano I, Cáceres M, Echeverría C, Fernández R, Cabello-Verrugio C, Cerda O, Tapia P, Simon F (2014) Endotoxin-induced vascular endothelial cell migration is dependent on TLR4/NF-κB pathway, NAD(P)H oxidase activation, and transient receptor potential melastatin 7 calcium channel activity. *Int J Biochem Cell Biol* 55: 11-23.
- Schepetkin IA, Quinn MT (2006) Botanical polysaccharides: macrophage immunomodulation and therapeutic potential. *Int Immunopharmacol* 6(3): 317-333.
- Seeley JJ, Ghosh S (2019) Molecular mechanisms of innate memory and tolerance to LPS. *J Leukoc Biol* 101(1): 107-119.
- Sekhon BK, Sze DM, Chan WK, Fan K, Li GQ, Moore DE, Roubin RH (2013) PSP activates monocytes in resting human peripheral blood mononuclear cells: immunomodulatory implications for cancer treatment. *Food Chem* 138(4): 2201-2209.

- Sivanesan I, Muthu M, Gopal J, Oh JW. (2022) Mushroom Polysaccharide-Assisted Anticarcinogenic Mycotherapy: Reviewing Its Clinical Trials. *Molecules* 27(13): 4090.
- Su XZ, Miller LH (2015) The discovery of artemisinin and the Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Sci China Life Sci* 58(11): 1175-1179.
- Venturella G, Ferraro V, Cirlincione F, Gargano ML (2021) Medicinal Mushrooms: Bioactive Compounds, Use, and Clinical Trials. *Int J Mol Sci* 22(2): 634.
- Wong RSY (2019) Role of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Cancer Prevention and Cancer Promotion. *Adv Pharmacol Sci* 2019: 3418975.
- Wrotek S, Kamecki K, Kwiatkowski S, Kozak W (2009) Cancer patients report a history of fewer fevers during infections than healthy controls. *J Pre Clin Clin Res* 3: 031-035.
- Wrotek S, Brycht Ł, Wrotek W, Kozak W (2018) Fever as a factor contributing to long-term survival in a patient with metastatic melanoma: A case report. *Complement Ther Med* 38: 7-10.
- Xia Y, Shen S, Verma IM (2014) NF-κB, an active player in human cancers. *Cancer Immunol Res* 2(9): 823-830.
- Yang H, Wang B, Wang T, Xu L, He C, Wen H, Yan J, Su H, Zhu X (2014) Toll-like receptor 4 prompts human breast cancer cells invasiveness via lipopolysaccharide stimulation and is overexpressed in patients with lymph node metastasis. *PLoS One* 9(10): e109980.

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 marcu 2024 roku złożyłem wniosek o sfinansowanie naukowego stażu zagranicznego w ramach programu „Inicjatywa Doskonałości – Uczelnia Badawcza” w konkursie „Mobilności dla pracowników IX edycja” organizowanym przez UMK. Uzyskanie finansowania umożliwiło mi odbycie trzytygodniowego stażu w dniach 17.06. - 07.07.2024 r. w Katedrze Nauk Biologicznych i Biochemicznych Wydziału Technologii Chemicznej Uniwersytetu w Pardubicach (Czechy) oraz realizację projektu pt: ”Proteomic analysis of the extract derived from the fungus *Coriolus versicolor* to better understand its biological properties”, którego opiekunem naukowym była dr hab. Marcela Slováková. Głównym celem projektu była jakościowa i ilościowa analiza składu białkowego ekstraktu CV obejmująca: 1) oznaczanie ilości białka przy użyciu różnych parametrów opartych na reakcji z kwasem bicynchoninowym; 2) badanie masy cząsteczkowej białek z wykorzystaniem wstępnego zagęszczania w próżni odśrodkowej; 3) analizę składu białek na podstawie rozdzielu elektroforetycznego (SDS-PAGE) oraz spektrometrii mas po wcześniejszym rozdzielu elektroforetycznym; 4) analizę ekspresji kinazy fosfatydylo-3-inozytolu (ang. phosphoinositide 3-kinase; PI3K) w komórkach nowotworowych stymulowanych ekstraktem CV oraz

inhibitorem PI3K (LY294002) z użyciem techniki Western Blot; 5) specyficzną detekcję białek, także w formie ufosforylowanej metodą Western Blot.

Pomiar całkowitej zawartości białek w ekstrakcie CV wykazał, że stanowią one około 3,3% całkowitej masy ekstraktu. Następnie oceniłem skład białkowy ekstraktu za pomocą elektroforezy SDS-PAGE. Wyniki tych eksperymentów wykazały, że do wykrycia białek konieczne jest zastosowanie odpowiedniego, stosunkowo wysokiego początkowego stężenia ekstraktu CV. Ta metoda pozwoliła mi wykryć małe białka o masie poniżej 10 kDa (ok. 5-7 kDa), 10-15 kDa, powyżej 25 kDa i duże białka powyżej 250 kDa, a także struktury zawierające białka skompleksowane z innymi związkami o masie nieco poniżej 100 kDa. Na podstawie danych literaturowych przypuszczałem, iż są to polisacharydy związane z białkami, takie jak PSP i PSK, uważane za najbardziej aktywne związki występujące w ekstrakcie CV. Ich obecność udało mi się później potwierdzić i przedstawić w **publikacji #7 (Jędrzejewski i wsp., 2025)**. Ponadto, analiza ekspresji ufosforylowanej formy PI3K w komórkach nowotworowych wykazała, iż ekstrakt CV hamuje ekspresję tej kinazy w komórkach nowotworowych. Podczas stażu rozpocząłem także eksperymenty z wykorzystaniem koncentratora próżniowego w celu oczyszczenia i wstępnego zagęszczenia białek obecnych w ekstrakcie CV. Ze względu na stosunkowo niską ich zawartość w ekstrakcie, ten etap był konieczny, aby uzyskać wystarczające stężenie białek do dalszej analizy proteomicznej, mającej na celu ocenę fosforylacji białek, przy użyciu dodatkowych metod, takich jak dwuwymiarowa elektroforeza żelowa i Western Blot. Badania te zainicjowane podczas stażu będą kontynuowane w ramach trwającej współpracy.

Ponadto, w trakcie stażu, miałem również możliwość wykonania eksperymentów we współpracy z innymi pracownikami Uniwersytetu w Pardubicach. Wraz z dr Lucie Korecką, wykonałem analizę składu polisacharydów obecnych w ekstrakcie CV na podstawie ich masy z użyciem metody elektroforezy w żelu poliakrylamidowym. Wyniki tych badań wykazały, iż ekstrakt zawiera wiele rodzajów polisacharydów o bardzo zróżnicowanych masach: około 1,8 MDa, większych niż 800 kDa i mniejszych niż 130 kDa.

Wykonałem również doświadczeniach z dr Karelem Královec, podczas których oceniliśmy wpływ ekstraktu CV na przeżywalność komórek gruczolakoraka płuc A549 nie tylko z użyciem testu MTT, ale także systemu xCELLigence. System ten umożliwił ocenę cytotoksycznego działania ekstraktu na komórki w czasie rzeczywistym, nie tylko na podstawie oceny liczby żywych komórek (tak, jako ma to miejsce w standardowo wykonywanych testach, np. MTT), ale także ich morfologii, adhezji czy tempa proliferacji. Uzyskane wyniki wykazały, że ekstrakt CV ma łagodną, zależną od stężenia aktywność hamującą wzrost komórek

nowotworowym A549, które uważa się za jedne z najbardziej opornych na leczenie lekami chemioterapeutycznymi.

We współpracy z doc. dr inż. Lenką Ceslovą z Katedry Chemii Analitycznej oceniłem właściwości przeciwutleniające ekstraktu CV na podstawie pomiaru całkowitej zawartości fenoli z użyciem testu TPC (ang. total phenolic content) oraz redukcji rodnika wzorcowego z użyciem metody DPPH (ang. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). Wyniki tych doświadczeń wykazały, iż ekstrakt posiada zdolność hamowania utleniania lipidów o około 20% w porównaniu z kontrolą, a całkowite stężenie fenoli w nim występujących wynosi 1,02 mg/ml.

Pierwszym wymiernym efektem odbytego stażu jest artykuł opublikowany w czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences (IF₂₀₂₃: 4,9; Q1, punktacja MEiN: 140) pt. „Enhanced Anti-Cancer Potential: Investigating the Combined Effects with Coriolus Versicolor Extract and Phosphatidylinositol 3-Kinase Inhibitor (LY294002) *In Vitro*”. Rozpoczęta w trakcie stażu współpraca jest kontynuowana, a jej celem jest przede wszystkim identyfikacja, izolacja i ocena wpływu na komórki immunologiczne i nowotworowe, nowych, dotąd nieopisanych białek obecnych w ekstrakcie CV.

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

Zajęcia dydaktyczne, które do tej pory prowadziłem obejmowały ćwiczenia laboratoryjne, wykłady, seminaria oraz pracownie dyplomowe, specjalizacyjne i magisterskie dla studentów kierunków Biotechnologia, Biologia, Biologia sądowa, Chemia medyczna, Weterynaria, Diagnostyka molekularna, Sport i wellness, Ochrona środowiska, studentów Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych UMK, uczniów Zespołu Szkół Uniwersytetu Mikołaja Kopernika Gimnazjum i Liceum Akademickiego w Toruniu oraz pracowników UMK.

Wykłady:

- Zastosowanie nanotechnologii w medycynie i diagnostyce medycznej – wykład monograficzny (kierunek: Biotechnologia)
- Mikrobiologiczne wzorce patogenów: reakcje immunologiczne – wykład obligatoryjny (kierunek: Biologia)
- Szczepienia i nanotechnologia - współczesne narzędzia do walki z chorobami – wykład obligatoryjny (Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych UMK w Toruniu)

- Genetyka i modyfikacje genetyczne gatunków zwierząt przeznaczonych do wykorzystania lub wykorzystywanych w procedurach na przykładzie myszy domowej – wykład w ramach Szkolenia dla osób uczestniczących i wykonujących procedury z wykorzystaniem zwierząt oraz osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi (Pracownicy oraz studenci UMK w Toruniu)
- Hodowle komórek *in vitro* jako alternatywna metoda dla doświadczeń na zwierzętach - wykład w ramach Szkolenia dla osób uczestniczących i wykonujących procedury z wykorzystaniem zwierząt oraz osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi (Pracownicy oraz studenci UMK w Toruniu)

Ćwiczenia laboratoryjne:

- Immunologia (kierunki: Biologia, Biotechnologia, Weterynaria)
- Immunologia i immunopatologia (kierunek: Chemia medyczna)
- Immunologia sądowa (kierunek: Biologia sądowa)
- Immunologia medyczna (kierunek: Biologia)
- Metody analizy białek (kierunek: Diagnostyka molekularna)
- Aktywność fizyczna a odporność organizmu (kierunek: Sport i wellness)
- Hodowla komórek zwierzęcych (kierunek: Biotechnologia)
- Analiza chemiczna (kierunek: Biologia sądowa)
- Chemia ogólna i analityczna (kierunek: Biotechnologia)
- Podstawy chemii w nauczaniu przyrody (kierunek: Biologia spec. nauczanie przyrody)
- Podstawy chemii dla biologów (kierunek: Biologia)
- Chemia ogólna i analityczna w ochronie środowiska (kierunek: Ochrona środowiska)
- Podstawy chemii i fizyki środowiska (kierunek: Ochrona środowiska)
- Zajęcia fakultatywne z immunologii prowadzone dla uczniów klas o profilu biologiczno-chemicznym Zespołu Szkół Uniwersytetu Mikołaja Kopernika Gimnazjum i Liceum Akademickiego w Toruniu (zajęcia realizowane w ramach obciążeń dydaktycznych)

Opieka naukowa nad studentami

W ramach zajęć Pracownia dyplomowa, po uzyskaniu stopnia doktora, sprawowałem opiekę naukową nad przygotowaniem 9 prac licencjackich (jedna jest w toku) wykonywanych

w Zakładzie Immunologii (późniejszej Katedrze Immunologii) UMK przez studentów kierunku Biotechnologia.

W ramach zajęć Pracownia specjalizacyjna i Pracownia magisterska byłem opiekunem naukowym podczas realizacji 14 prac magisterskich (3 przed uzyskaniem tytułu, 10 po uzyskaniu tytułu doktora, jedna jest w toku) w Zakładzie Immunologii (późniejszej Katedrze Immunologii) UMK w Toruniu przez studentów kierunków Biotechnologia, Diagnostyka molekularna i Biologia.

W okresie 05.03.2015 - 31.01.2016 byłem opiekunem naukowym doktorantki Ilony Sviezhentsevej, która w ramach programu Erasmus dla Ukrainy studiowała na UMK. Podczas pobytu Doktorantki w Zakładzie Immunologii UMK zapoznawłem Doktorantkę z technikami badawczymi wykorzystywanymi w Zakładzie.

Projekty edukacyjne

- Opiekun naukowy trzech zespołowych projektów badawczych pt. „Wpływ biologicznie aktywnych substancji na komórki nowotworowe” (okres realizacji: rok akademicki 2018/2019 - 2019/2020), „Leczenie chorób nowotworowych i zakaźnych – zastosowanie bioaktywnych związków pochodzenia naturalnego i profilowania genetycznego” (okres realizacji: rok akademicki 2019/2020 - 2020/2021) oraz „Antyangiogenne właściwości bioaktywnych związków pochodzenia naturalnego” (okres realizacji: rok akademicki 2020/2021 - 2021/2022) realizowanych przez studentów kierunku Diagnostyka molekularna w ramach projektu: Universitas Copernicana Thoruniensis In Futuro – modernizacja Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w ramach Zintegrowanego Programu Uczelni (projekt nr POWR.03.05.00-00-Z302/17-00) realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój (program POWER finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego).
- Prowadzący warsztaty pt. „Analiza białek: badania podstawowe, diagnostyczne i cytotoksyczne” (okres realizacji: 01.10.2018 - 06.2021) dla studentów kierunku Diagnostyka molekularna w ramach projektu: Universitas Copernicana Thoruniensis In Futuro.
- Prowadzący kurs dokształcający (funkcja koordynatora kursu) pt. „Analizy molekularne stosowane w badaniach naukowych i medycynie sportowej” dla studentów dwóch ostatnich lat wszystkich kierunków studiów I i II stopnia na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK (okres realizacji: rok akademicki 2021/2022) w ramach projektu: Universitas Copernicana Thoruniensis In Futuro.

- Prowadzący wykład problemowy pt. „Krew jako materiał do badań laboratoryjnych” oraz zajęcia laboratoryjne pt. „Oznaczanie grup krwi w układzie AB0 i Rh”, w których uczestniczyli uczniowie szkół średnich z województwa kujawsko-pomorskiego. Zajęcia były realizowane w latach 2019 - 2022 w ramach projektu pt. „Biologia na wyciągnięcie ręki” (POWR.03.01.00-00-T063/18) – konkurs nr POWR.03.01.00-IP.08-00-3MU/18 pt. „Trzecia Misja Uczelni” Działania 3.1 Kompetencje w szkolnictwie wyższym, Oś III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju.
- Opiekun naukowy zespołowego projektu badawczego pt. „Investigating the immunomodulatory role of amphetamine” realizowanego w latach 2020 - 2021 przez dwuosobowy zespół studentów (doktorant z magistrantką) w ramach konkursu „Grants4NCUStudents”. Konkurs finansowany przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu w ramach środków uzyskanych z programu „Inicjatywa doskonałości – uczelnia badawcza” (IDUB).

Działalność popularyzatorska

- Prowadzenie promocyjnych zajęć laboratoryjnych w ramach akcji „Piątkowe spotkania z Biologią” organizowanej na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK w Toruniu dla uczniów klas licealnych (2024).
- Prowadzenie warsztatów podczas Nocy Biologów organizowanej na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska UMK w Toruniu (późniejszym Wydziałem Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych) w latach 2014 - 2018, 2021, 2023 - 2024 oraz wykładu w 2013 roku.
- Prowadzenie warsztatów podczas Dnia Otwartego Kierunków Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych organizowanego na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK w Toruniu (2023).
- Prowadzenie warsztatów podczas Toruńskiego Festiwalu Nauki i Sztuki (2014, 2018).
- Prowadzenie warsztatów dla uczniów szkół średnich podczas Dnia Otwartego organizowanego na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska UMK w Toruniu (późniejszym Wydziałem Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych) w latach 2014-2018 oraz 2021 - 2023.

Działalność organizacyjna

- W okresie 01.09.2020 - 31.08.2024, członek Rady Naukowej w Dyscyplinie Nauk Biologicznych na Wydziale Nauk Biologicznych oraz Weterynaryjnych UMK jako

przedstawiciel nauczycieli akademickich nieposiadających stopnia doktora habilitowanego.

- Członek Wydziałowej Komisji ds. Jakości Kształcenia na kierunku Biotechnologia powołanej na okres od 1.10.2024 do 30.09.2028 r.
- Członek Komisji oceniającej najlepsze prace dyplomowe i magisterskie w konkursach organizowanych na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK w Toruniu w latach 2019 - 2023.
- Członek zespołu przygotowującego wniosek o zgodę na zamknięte użycie organizmów genetycznie zmodyfikowanych - zamknięte użycie GMM (II kategoria zagrożenia) w ramach funkcjonowania Zakładu Inżynierii Genetycznej na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK (2021).
- Opiekun roku dla kierunków: Biotechnologia (studia I stopnia; od roku akademickiego 2018/2019), Biologia ogólna (studia II stopnia; od roku akademickiego 2015/2016), Biologia ogólna (studia I stopnia; od roku akademickiego 2012/2013), Biologia spec. nauczycielska (studia I stopnia; od roku akademickiego 2012/2013) oraz Diagnostyka molekularna (studia II stopnia; od roku akademickiego 2024/2025).
- Sekretarz ds. przygotowania protokołu w trakcie obrony doktoratu mgr. inż. Henryka Mikołaja Kozłowskiego (2023).
- Członek Komisji Doktorskiej powołanej na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK do przeprowadzenia czynności w postępowaniu o nadanie stopnia doktora (2023).
- Od 2023 roku członek Wydziałowej Rady Naukowej w Dyscyplinie Nauk Biologicznych ds. współpracy z otoczeniem gospodarczym.
- Recenzent czterech projektów złożonych przez doktorantów i studentów UMK w ramach konkursu „Grants4NCUstudents” organizowanego przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu w ramach programu „Inicjatywa doskonałości – Uczelnia Badawcza” (IDUB) (2022).
- Członek Komitetu Naukowego Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UMK (panel: Biologia medyczna i nowotworzenie) podczas IV Kopernikańskiego Sympozjum Studentów Nauk Przyrodniczych (28.03. - 30.03.2014).
- Przewodniczący (28-krotnie) oraz recenzent (15-krotnie) podczas egzaminów licencjackich i magisterskich.

- Współorganizator konferencji pt. „III Sympozjum Biomateriały w medycynie i kosmetologii”, która odbyła się 30 listopada 2022 r. na Wydziale Chemii UMK w Toruniu – konferencja organizowana przez Zespół Biomateriałów i Kosmetyków UMK oraz w ramach Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów.
- Współorganizator (funkcja przewodniczącego sesji plakatowej) konferencji przeprowadzonej w formie on-line pt. „II Sympozjum Biomateriały w medycynie i kosmetologii”, która odbyła się 28 stycznia 2021 r. i była zorganizowana przez Zespół Biomateriałów i Kosmetyków UMK oraz w ramach Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów.
- Współorganizator Turnieju Laboratoryjnego dla studentów Wydziału NBiW, który został zorganizowany przez Wydziałową Radę Samorządu Studenckiego, Koło Naukowe "Gorączkowo zapaleni" i Katedrę Immunologii UMK (08.03.2023).

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

Funkcjonowanie układu immunologicznego i jego rola w przebiegu różnych chorób były w kręgu moich zainteresowań już od momentu rozpoczęcia studiów na kierunku Biotechnologia. Z tego powodu, zdecydowałem się realizować najpierw teoretyczną pracę licencjacką, a następnie praktyczną pracę magisterską w Zakładzie Immunologii UMK w Toruniu. Moja praca magisterska miała na celu zbadanie wpływu iniekcji makrofagów wyizolowanych od szczura i stymulowanych *in vitro* LPS na przebieg głębokiej temperatury ciała szczurów. Wyniki moich badań wykazały, iż zarówno dożylna, jak i dootrzewnowa iniekcja tych makrofagów indukuje gorączkę u zwierząt, co wskazuje, iż makrofagi na skutek stymulacji LPS *in vitro* nabierają właściwości immunogennych. W trakcie realizacji tej pracy, współpracując z doświadczonymi naukowcami, takimi jak prof. dr hab. Wiesław Kozak i dr Sylwia Wrotek, miałem możliwość zdobycia wiedzy i umiejętności dotyczących pracy z komórkami immunologicznymi *in vitro*, jak i wykonywania eksperymentów na zwierzętach *in vivo*, z wykorzystaniem biotelemetrycznego systemu pomiaru temperatury ciała.

Moje zaangażowanie w postawione przede mną zadania zostało docenione, skutkując możliwością podjęcia studiów doktoranckich i rozpoczęcia badań w Zakładzie Immunologii UMK pod kierunkiem prof. dr hab. Wiesława Kozaka. Celem mojej pracy doktorskiej było zbadanie roli komórek mononuklearnych i cytokin prozapalnych w przebiegu procesów gorączkowych, które są indukowane czynnikami nie pochodzącymi od mikroorganizmów, tj. gorączki immunologicznej zależnej od komórek oraz gorączki wywołanej dootrzewnową

iniekcją supernatantów uzyskanych po inkubacji komórek mononuklearnych uprzednio stymulowanych LPS *in vitro*. Dodatkowo, zbadałem także wpływ nanocząstek srebra na przebieg drugiego z wymienianych rodzajów gorączki. Podczas realizacji tych badań miałem możliwość doskonalenia swoich umiejętności związanych z wykonywaniem testów immunochemicznych oraz badań *in vitro* i *in vivo*. W latach 2009 i 2010 otrzymałem swoje pierwsze zewnętrzne finansowania na realizację doświadczeń zaplanowanych w ramach pracy doktorskiej, którymi były dwa granty finansowane z Europejskiego Funduszu Społecznego, budżetu państwa i budżetu Województwa Kujawsko-Pomorskiego w ramach projektów „Stypendia dla doktorantów 2008/2009 - ZPORR” oraz „Krok w przyszłość - stypendia dla doktorantów III edycja”. Efektem badań prowadzonych podczas studiów doktoranckich była jedna praca eksperymentalna opublikowana już po obronie pracy doktorskiej [Jędrzejewski i wsp., 2014]. W omawianym okresie byłem współautorem jeszcze jednej pracy doświadczalnej dotyczącej wpływu leku mukolitycznego jakim jest N-acetylocysteiny (NAC) na przebieg gorączki infekcyjnej oraz aseptycznej gorączki terpentynowej. Wyniki tych badań wykazały, iż NAC wykazuje właściwości antypiretyczne i jest skuteczny w hamowaniu gorączki o różnej etiologii [Wrotek i wsp., 2011]. Dodatkowo, podczas studiów doktoranckich byłem współautorem jednej pracy przeglądowej, której tematyka poruszała zagadnienie dotyczące możliwości łagodzenia kacheksji nowotworowej za pomocą kwasów omega-3, zwłaszcza kwasu eikozapentaenowego (EPA) [Kowalczevska i wsp., 2010].

Gorączka, jako jeden z najważniejszych mechanizmów obronnych ze strony wrodzonego układu odpornościowego, jest tym zagadnieniem, które towarzyszy mi od początku mojej kariery naukowej. Będąc członkiem zespołu pod kierownictwem Prof. dr hab. Wiesława Kozaka miałem okazję uczestniczyć w badaniach nad rolą gorączki, nie tylko w przebiegu ostrych infekcji, ale także jej znaczeniem dla rozwoju chorób nowotworowych czy neurodegeneracyjnych. Napisana pod kierownictwem Prof. Kozaka oraz z moim udziałem praca przeglądowa stanowi zbiór najważniejszych informacji, które poruszają to zagadnienie [Kozak i wsp., 2018].

Od 2011 roku byłem zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Immunologii UMK, a od 2016 roku na stanowisku adiunkta w Katedrze Immunologii UMK. Od początku zatrudnienia angażuję się w liczne projekty realizowane w Katedrze Immunologii oraz we współpracy z badaczami z innych jednostek naukowych.

Oprócz problemu badawczego, składającego się na moje główne osiągnięcie naukowe, prowadzone przeze mnie badania skupiały lub skupiają się obecnie wokół siedmiu innych zagadnień stanowiących pozostałe osiągnięcia naukowe:

- A. Glutation jako modulator reakcji gorączkowej.
- B. Fizjologiczne czynniki modulujące przebieg gorączki infekcyjnej i aseptycznej.
- C. Immunoregulatorowy potencjał hipertermii w zakresie gorączki.
- D. Przeciwnowotworowe właściwości związków aktywnych zawartych w ekstrakcie z grzyba *Coriolus versicolor*.
- E. Aktywność biologiczna innowacyjnych biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu w nowoczesnej inżynierii biomedycznej i implantologii.
- F. Aktywność biologiczna biogennych nanocząstek srebra.
- G. Ocena potencjału biologicznego związków koordynacyjnych rutenu i rodu.

A. Glutation jako modulator reakcji gorączkowej.

Od momentu zatrudnienia w Katedrze Immunologii UMK uczestniczyłem w badaniach dr hab. Sylwii Wrotek prof. UMK jako wykonawca w projekcie finansowanym z Narodowego Centrum Nauki (grant uzyskany w konkursie Opus 4). Celem tych doświadczeń było określenie roli glutationu jako potencjalnego modulatora reakcji gorączkowej. Uzyskane wyniki wykazały, iż zwierzęta z farmakologicznie obniżonym stężeniem glutationu uzyskanym z użyciem foronu lub sulfoksyminy butioniny reagują znacznie osłabioną reakcją gorączkową na pirogenną dawkę LPS w porównaniu do poziomu rejestrowanego u osobników z niemodyfikowanym stężeniem glutationu w organizmie [Wrotek i wsp., 2015; Wrotek i wsp., 2017]. Przeciwo gorączkowy efekt w stosunku do typów gorączki o różnej etiologii (gorączki infekcyjnej lub aseptycznej) zaobserwowaliśmy również po zastosowaniu N-acetylocysteiny, która jest źródłem cysteiny niezbędnej do syntezy glutationu [Wrotek i wsp., 2011], a przeciwo gorączkowy mechanizm jej działania jest związany z wzmożoną syntezą antypiretycznej cytokiny jaką jest IL-10 [Wrotek i wsp., 2016a]. Dodatkowo, wykazaliśmy, iż stare szczury zachowują zdolność do gorączkowania, a obserwowana u nich zmiana wzorca przebiegu gorączki endotoksynowej nie jest spowodowana zmienionym poziomem glutationu [Wrotek i wsp., 2016b]. Rozważania na temat roli glutationu w reakcjach immunologicznych, którym towarzyszy gorączką stanowiły podstawę do napisania przez nas artykułu przeglądowego [Wrotek i wsp., 2020].

B. Fizjologiczne czynniki modulujące przebieg gorączki infekcyjnej i aseptycznej.

Innym aspektem doświadczeń związanych z gorączką, realizowanych przeze mnie w Katedrze Immunologii UMK, były badania dotyczące fizjologicznych czynników, które modulują przebieg gorączki infekcyjnej, jak i tej, która jest wywołana aseptyczną nekrozą

tkanek. Jednym z takich czynników okazała się być oksygenaza hemowa 1, będąca enzymem, który moduluje syntezę związków zaangażowanych w rozwój gorączki infekcyjnej, takich jak syntaza tlenku azotu, cyklooksygenazy, cytokiny czy prostaglandyny [Piotrowski i wsp., 2014].

Szczególnym rodzajem gorączki jest gorączka aseptyczna (niezakaźna), którą obserwuje się u pacjentów po zabiegach chirurgicznych, udarze mózgu, zawale mięśnia sercowego, krwotoku z przewodu pokarmowego czy oparzeniach. Badania kliniczne wskazują, że tacy pacjenci są szczególnie podatni na późniejszą gorączkę zakaźną. Wyniki naszych doświadczeń wykonanych na szczurach wykazały, iż białko HMGB-1 (ang. high mobility group box 1) może być molekułą odpowiedzialną za to zjawisko i powinno być ono rozpatrywane jako potencjalny marker stanu zapalnego [Piotrowski i wsp., 2019]. Białko HMGB-1 jest także zaangażowane w przygotowanie komórek odpornościowych, takich jak jednojądrzaste komórki krwi obwodowej do późniejszego kontaktu z patogenem [Piotrowski i wsp., 2024].

Jednym z czynników, które uczestniczą w regulacji odpowiedzi zapalnej są kwasy epoksyekozatrienowych (EET), które wykazują, m.in. właściwości przeciwzapalne. Ich powszechne zastosowanie jako alternatywy dla niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), jak do tej pory nie jest możliwe, ponieważ w warunkach fizjologicznych kwasy EET są szybko metabolizowane przez rozpuszczalną hydrolazę epoksydową (sEH). W naszych badaniach prowadzonych we współpracy z prof. dr hab. Jackiem Ścianowskim z Katedry Chemii Organicznej Wydziału Chemii UMK w Toruniu wykazaliśmy, iż hamowanie aktywności sEH, a tym samym uzyskanie aktywności przeciwzapalnej kwasów EET, jest możliwe poprzez zastosowanie inhibitora sEH, jakim jest AUDA (ang. 12-(3-adamantan-1-yl-ureido)-dodecanoic acid), który wykazywał aktywność przeciwgorączkową zarówno u szczurów z zaindukowaną gorączką infekcyjną, jak i aseptyczną [Piotrowski i wsp., 2017a]. Ponieważ inhibitory sEH dobrze współdziałają z NLPZ, terapia skojarzona z ich użyciem oraz zastosowaniem inhibitora AUDA potencjalnie może zmniejszać skutki uboczne wynikające z przewlekłego przyjmowania NLPZ lub zwiększyć skuteczność leczenia, szczególnie u pacjentów po przebytym udarze mózgu, gdzie użycie NLPZ nie jest skuteczne [Piotrowski i wsp., 2017b].

C. Immunoregulatorowy potencjał hipertermii w zakresie gorączki.

Od 2018 roku brałem udział w badaniach prowadzonych przez mgr. inż. Henryka Kozłowskiego, którego promotorem pracy doktorskiej była dr hab. Sylwia Wrotek prof. UMK. Ze względu na fakt, iż prozdrowotne efekty gorączki były obserwowane przez lekarzy od

wieków, współczesna medycyna opracowała metody sztucznego podnoszenia temperatury ciała określane mianem hipertermii z zakresu gorączki, której mechanizm działania wciąż nie jest do końca poznany. Z tego powodu doświadczenia realizowane przez mgr. inż. Kozłowskiego miały na celu poszerzenie wiedzy na temat immunomodulujących właściwości hipertermii w zakresie gorączki (ang. fever-range hyperthermia, FRH). Wyniki tych badań wykazały, iż w warunkach *in vitro* FRH jest zdolna indukować polaryzację makrofagów w regulatorowy fenotyp M2b na drodze niezależnej od szlaku sygnalizacyjnego z udziałem receptora TLR4 [Kozłowski i wsp., 2023a]. Ponadto, hipertermia w zakresie gorączki chroni makrofagi przed toksycznym działaniem ekstraktu z jemioly oraz indukuje odpowiedź prozapalną ze strony tych komórek poprzez aktywację jądrowego czynnika NF-κB. Z drugiej strony, zastosowanie hipertermii zwiększa wrażliwość komórek raka piersi na toksyczne działania ekstraktu z jemioly *in vitro* [Kozłowski i wsp., 2021]. W warunkach *in vivo*, w badaniach wykonanych na szczurach, wykazaliśmy, że FRH modyfikuje pulę krążących we krwi obwodowej limfocytów i granulocytów, zmienia ekspresję cząsteczek regulatorowych, takich jak czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF) i czynnik hamujący makrofagi (MIF) 1α oraz zmienia ekspresję miRNA-155 w surowicy szczurów poddanych zabiegowi hipertermii w zakresie gorączki [Kozłowski i wsp., 2023b].

Aktualnie, od 2021 roku, jestem zaangażowany w badania realizowane przez mgr Konkonikę Roy, która jest doktorantką realizującą swoją pracę także pod opieką dr hab. Sylwii Wrotek prof. UMK. Celem projektu finansowanego w ramach grantu NCN PRELUDIUM BIS 2 jest ustalenie, czy tolerancja na endotoksynę bakteryjną sprzyja rozwojowi choroby nowotworowej. Podobnie jak w przypadku badań realizowanych przez mgr. inż. Kozłowskiego, moja rola w projekcie obejmuje nie tylko wsparcie merytoryczne i dzielenie się wieloletnim doświadczeniem w pracy laboratoryjnej z młodszymi kolegami z Zespołu, ale także aktywny udział w doświadczeniach. Dotychczasowe wyniki badań *in vitro* potwierdzają, iż tolerancja endotoksynowa, która uważana jest za mechanizm immunosupresyjny, zmienia właściwości makrofagów w kierunku komórek, które tworzą mikrośrodowisko sprzyjające rozwojowi raka piersi i raka jelita grubego [Roy i wsp., 2023].

D. Przeciwnowotworowe właściwości związków aktywnych zawartych w ekstrakcie z grzyba *Coriolus versicolor*.

Badania nad grzybem *Coriolus versicolor* są prowadzone w Katedrze Immunologii UMK nie tylko pod kątem jego immunomodulujących właściwości, ale także

przeciwnowotworowych aktywności. W efekcie, nasz Zespół stał się wiodącym ośrodkiem w Europie, który zajmuje się tą tematyką badawczą.

Uzyskanie przeze mnie finansowania z NCN w ramach konkursu MINIATURA 3 umożliwiło wykonanie badań nad potencjalną rolą ekstraktu CV jako modulatora fenotypu makrofagów, w kontekście interakcji tych komórek z komórkami raka piersi. Wyniki tych doświadczeń *in vitro* wykazały, iż pod wpływem stymulacji ekstraktem CV makrofagi RAW 264.7 wydzielają substancje, które hamują proliferację i migrację komórek raka piersi 4T1 oraz zmniejszają wydzielanie czynników pro-angiogennych (VEGF, MCP-1) podczas prowadzenia ko-kultury obu rodzajów komórek. Ponadto, stymulacja komórek ekstraktem CV w prowadzonej ko-kulturze obniża poziom markerów charakterystycznych dla makrofagów M2 (aktywność arginazy 1, stężenia IL-10 i TGF- β), które uważane są za komórki o właściwościach pro-nowotworowych, jednocześnie zwiększając pulę markerów komórek M1 (aktywność iNOS, stężenie IL-6 i TNF- α), które utożsamiane są z aktywnością przeciwnowotworową. Uzyskane wyniki sugerują, iż polisacharydopeptydy obecne w ekstrakcie CV mogą zaburzać mikrośrodowisko nowotworu, w którym obecne są m.in. makrofagi towarzyszące nowotworom, a sam ekstrakt CV może być potencjalnym modulatorem fenotypu makrofagów M1/M2 [Jędrzejewski i wsp., 2020].

Badania nad przeciwnowotworowymi właściwościami substancji aktywnych zawartych w ekstrakcie CV były przez mnie prowadzone nie tylko w odniesieniu do stanu zapalnego i interakcji pomiędzy komórkami rakowymi i makrofagami, ale także w celu poznania mechanizmów toksycznego działania ekstraktu CV wobec komórek nowotworowych. Uzyskane wyniki wykazały, iż ekstrakt CV powoduje śmierć komórek czerniaka, które charakteryzują się stosunkowo wysoką opornością na apoptozę indukowaną lekami, poprzez białko oddziałujące z receptorem typu 1 (RIPK1), indukcję stresu oksydacyjnego oraz modyfikację zawartości melaniny w komórkach czerniaka [Pawlikowska i wsp., 2020a]. W innych badaniach udowodniliśmy, że ekstrakt CV wywołuje nekroptozę komórek czerniaka oraz raka piersi za pośrednictwem szlaku sygnalizacyjnego RIPK1/RIPK3/MLKL [Pawlikowska i wsp., 2021; Pawlikowska i wsp., 2020b] oraz powoduje śmierć komórek raka piersi poprzez mechanizm zależny od TNF- α [Kowalczyńska i wsp., 2016]. Dodatkowo wykazaliśmy także, że hipertermia z zakresu gorączki hamuje cytotoksyczne działanie polisacharydopeptydów obecnych w ekstrakcie CV wobec komórek raka piersi [Pawlikowska i wsp., 2016].

Wyniki badań przedstawionych w **publikacji 6 (Jędrzejewski i wsp., 2022)** wykazały, że ekstrakt CV działa immunostymulująco na makrofagi, m.in. poprzez aktywację szlaku

sygnałowego z udziałem kinazy PI3K. Odkrycie to stało się punktem wyjścia do dalszych badań, których celem było określenie wpływu ekstraktu CV na komórki nowotworowe w obecności inhibitora PI3K – LY294002. Podjęcie tych badań było uzasadnione również faktem, że rola szlaku PI3K w przeciwnowotworowych właściwościach ekstraktu CV jak dotychczas nie była analizowana. Szlak ten odgrywa kluczową rolę w procesach biologicznych związanych z rozwojem nowotworów złośliwych, takich jak proliferacja, różnicowanie i inwazja komórek rakowych. Ponadto, wyniki badań klinicznych wskazują na ograniczoną skuteczność inhibitorów PI3K stosowanych w monoterapii przeciwnowotworowej, co głównie wynika z ich słabych właściwości farmakokinetycznych oraz stosunkowo wysokiej toksyczności. Wyniki przeprowadzonych przeze mnie doświadczeń wykazały, że LY294002 nasila przeciwnowotworowe działanie ekstraktu CV poprzez zmniejszenie żywotności komórek rakowych oraz ich zdolności do tworzenia kolonii. Ponadto, jednoczesna stymulacja komórek nowotworowych ekstraktem CV i LY294002 skuteczniej indukowała zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1, promowała apoptozę, ograniczała inwazję i migrację komórek oraz hamowała ekspresję PI3K w porównaniu do działania każdego z tych związków osobno. Uzyskane wyniki wskazują na obiecujące możliwości opracowania nowych terapii skojarzonych ukierunkowanych na leczenie nowotworów z wykorzystaniem ekstraktu CV i LY294002 [Jędrzejewski i wsp., 2025].

Na podstawie naszych wyników doświadczeń oraz obserwacji innych autorów, wraz ze współpracownikami z Katedry Immunologii UMK, napisaliśmy dwie prace przeglądowe. Dokonałymi w nich przeglądu najważniejszych i najnowszych informacji związanych z immunomodulującymi, przeciwnowotworowymi, antyangiogennymi oraz przeciwwirusowymi właściwościami substancji biologicznie aktywnych zawartych w ekstrakcie CV, także w kontekście choroby COVID-19 [Jędrzejewski i wsp., 2023; Piotrowski i wsp., 2015].

E. Aktywność biologiczna innowacyjnych biomateriałów o potencjalnym zastosowaniu w nowoczesnej inżynierii biomedycznej i implantologii.

Niemal natychmiast po uzyskaniu stopnia doktora zostałem zaproszony do współpracy przez dr hab. Aleksandrę Radtke prof. UMK oraz dr hab. Piotra Piszczka prof. UMK z Katedry Chemii Nieorganicznej i Koordynacyjnej UMK w Toruniu. Celem tych badań jest stworzenie implantów nowej generacji, które mogłyby znaleźć zastosowanie w ortopedii, stomatologii, chirurgii szczękowo-twarzowej, kardiochirurgii czy urologii. Mój udział w tym interdyscyplinarnym projekcie, w ramach, którego współpracuję także z zespołami mikrobiologów pod kierownictwem Prof. Patrycji Golińskiej z Katedry Mikrobiologii UMK

oraz dr hab. Beaty Sadowskiej prof. UŁ z Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej Uniwersytetu Łódzkiego, polega na ocenie biogodności testowanych materiałów w warunkach *in vitro* oraz ocenie ich potencjalnych właściwości przeciwzapalnych, które obok biokompatybilności i właściwości przeciwdrobnoustrojowych, są kluczowe do tego, aby wprowadzony do organizmu implant nie został odrzucony przez biorcę.

Od 2015 roku współpracuję z firmą Nanoimplant Sp. z o.o. w Toruniu, która jest spółką typu spin-off działającą przy UMK, założoną przez w/w prof. Radtke i prof. Piszczka. W latach 2017-2018 byłem jednym z głównych wykonawców badań realizowanych dla tej firmy w ramach grantu pt. „Badania nad powłokami nanokompozytowymi oraz ich zastosowaniem w konstrukcji prototypu spersonalizowanego implantu medycznego nowej generacji wytworzonego w technologii 3D”, który był finansowany z regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego na lata 2014-2020.

Naukowym owocem opisywanej współpracy jest, jak dotychczas, 17 publikacji, które zostały opublikowane w latach 2015-2024. Ta długa i dynamiczna współpraca jest wciąż kontynuowana, czego wyrazem jest praca nad kolejnymi artykułami naukowymi, jak i wspólnymi wnioskami o granty.

Na początku prowadzonych badań oceniliśmy m.in. właściwości przeciwbakteryjne i biokompatybilne nanorurek dwutlenku tytanu o różnej średnicy, które zostały zsyntetyzowane na folii tytanowej [Lewandowska i wsp., 2015]. Wyniki tych doświadczeń stanowiły podstawę do oceny właściwości innych rodzajów nanoporowatych, nanorurkowych, nanogąbczastych i nanowłóknistych układów, które mogą znaleźć zastosowanie w stomatologii czy chirurgii szczękowo-twarzowej. W kolejnych latach oceniliśmy właściwości nanomateriałów utworzonych na modyfikowanych podłożach tytanowych i stopu Ti6Al4V metodami elektrochemicznego utleniania [Radtke et al., 2017a; Radtke et al., 2018; Ehlert i wsp., 2019; Ehlert i wsp., 2020; Ehlert i wsp., 2021], bezpośredniego utleniania powierzchni podłoża nadtlenkiem wodoru oraz utleniania termicznego [Radtke et al., 2017b]. Ze względu na fakt, iż hydroksyapatyt jest uważany za związek wykazujący dużą biogodność i stymulujący rozwój kości w niewielkich ubytkach kostnych, w naszych badaniach ocenialiśmy także właściwości nanoporowatych i nanorurkowatych powłok wzbogaconych hydroksyapatytem przy użyciu techniki osadzania warstw atomowych (ALD) [Radtke i wsp., 2019a; Ehlert i wsp., 2022]. W kolejnych doświadczeniach analizowaliśmy właściwości nanomateriałów wzbogaconych nanocząstkami srebra, które uzyskano metodą chemicznego osadzania z fazy gazowej (CVD) [Piszczek i wsp., 2017] oraz techniką PEALD, tj. procesu ALD wspomaganego plazmą [Radtke i wsp., 2017c], ponieważ powszechnie wiadomo, iż srebro i jego nanocząstki należą do

najstarszych i najlepiej sprawdzonych w praktyce środków mikrobiobójczych. Celem wszystkich prowadzonych badań było uzyskanie nanomateriału zawierającego minimalne stężenie nanocząstek srebra, które zapewniłoby odpowiednio wysoką skuteczność przeciwbakteryjną, przy jednoczesnym braku cytotoksyczności i zachowaniu właściwości biointegracyjnych [Radtke i wsp., 2019b]. Z uwagi na możliwe wykorzystanie badanych nanopowłok do konstrukcji wyrobów medycznych, ważnym kierunkiem prowadzonych badań było także określenie wpływu procesów sterylizacji na ich strukturę, morfologię oraz właściwości biologiczne [Radtke i wsp., 2019c]. Uwieńczeniem wszystkich wymienionych badań było opracowanie nanopowłoki oraz implantu stworzonego z wykorzystaniem drukarki 3D, których biogodność, właściwości przeciwzapalne i przeciwbakteryjne oraz potencjalna genotoksyczność zostały szeroko zbadane przez interdyscyplinarny zespół, którego było członkiem [Piszczyk i wsp., 2020].

W ostatnim czasie, w ramach wciąż kontynuowanej współpracy, rozpoczęliśmy badania nad oceną właściwości biodegradowalnych implantów metalicznych, które uważane są za przyszłość implantologii. Dotychczas wykonane doświadczenia dotyczyły oceny cytotoksyczności materiałów uzyskanych na bazie żelaza o różnych rozmiarach porów, które mają potencjalne zastosowanie w implantologii kardiologicznej [Gąsior i wsp., 2023]. Prowadzimy także doświadczenia nad cytotoksycznymi i bakteriobójczymi właściwościami materiałów kompozytowych powstałych w wyniku dyspersji okso-kompleksów tytanu(IV) (TOC) w matrycy poli(ε-kaprolaktonu) (PCL) oraz okso-kompleksów tytanu(IV) stabilizowanych ligandami migdałowymi. Wymienione materiały mogą być stosowane do produkcji biodegradowalnych wyrobów medycznych [Śmigiel i wsp., 2023] lub stanowić powłokę antybakteryjną w obiektach użyteczności publicznej lub szpitalach, w celu zmniejszenia ryzyka rozprzestrzeniania się infekcji bakteryjnych [Kubiak i wsp., 2024].

W 2024 roku rozpocząłem współpracę z Prof. dr hab. Aliną Sionkowską z Katedry Chemii Biomateriałów i Kosmetyków UMK w Toruniu, której celem jest opracowanie biomateriałów na bazie mieszanin różnych polimerów, mających potencjalnie aplikacyjne zastosowanie w inżynierii tkankowej, np. do produkcji materiałów przyspieszających proces regeneracji tkanki podczas gojenia się ran. Pierwsze opublikowane wyniki dotyczące kompozytów polimerowych na bazie alkoholu poliwinylowego, poliwinylpirolidonu, chitozanu oraz polydopaminy wykazały, iż takie kompozyty wykazują lepszą chropowatość powierzchni oraz hydrofilowość w porównaniu do pojedynczych materiałów polimerowych. Wymienione właściwości bardzo korzystnie wpływały na adhezję i proliferację fibroblastów tkanki łącznej, które to komórki odgrywają kluczową rolę w różnych fazach gojenia się ran,

takich jak interakcja z komórkami układu odpornościowego, produkcja składników macierzy pozakomórkowej i nawiązywanie interakcji z komórkami śródbłónka i keratynocytami [Tahir i wsp., 2024].

F. Aktywność biologiczna biogennych nanocząstek srebra.

Rozwój nanotechnologii w ciągu ostatnich dwóch dekad doprowadził do wykorzystania nanocząstek srebra w różnych zastosowaniach biomedycznych, takich jak terapie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe. Ze względu na fakt, iż chemiczna czy fizyczna synteza nanocząstek powoduje zużycie dużych ilości energii oraz generowanie toksycznych substancji chemicznych, obecnie dynamicznie rozwijają się alternatywne metody tzw. „syntezy zielonej” wykorzystującej bakterie, promieniowce, grzyby, drożdże czy algi, które to metody uważane są za tańsze i przyjazne dla środowiska.

W ramach współpracy z Prof. Patrycją Golińską z Katedry Mikrobiologii UMK uczestniczyłem w doświadczeniach, których celem było uzyskanie nanocząstek srebra wytworzonych metodą „zielonej syntezy”. Moja rola w tych interdyscyplinarnych badaniach polegała na ocenie cytotoksyczności zsyntetyzowanych nanocząstek zarówno wobec komórek nowotworowych, jak i normalnych. Uzyskane wyniki wykazały, iż nanocząstki srebra syntetyzowane ze szczepu aktynobakterii *SH11* wykazują cytotoksyczne działanie zarówno wobec makrofagów RAW 264.7, jak i komórek raka piersi MCF-7, a obserwowane zjawisko wynika z indukowania przez biosyntetyzowane nanocząstki dużych ilości rodników tlenowych [Wypij i wsp., 2020]. Podobne wyniki uzyskaliśmy dla nanocząstek srebra syntetyzowanych ze szczepu aktynobakterii *SF23*, aczkolwiek warto podkreślić, iż ten rodzaj nanocząstek wykazywał silniejsze działanie cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych niż makrofagów [Wypij i wsp., 2021].

G. Ocena potencjału biologicznego związków koordynacyjnych rutenu i rodu

Moje zaangażowanie naukowe nie ogranicza się wyłącznie do współpracy z pracownikami UMK, ale także do współpracy z badaczami z innych ośrodków naukowych. Najlepszym tego przykładem jest mój udział w interdyscyplinarnych badaniach koordynowanych przez dr Marzenę Fandzloch z Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. Włodzimierza Trzebiatowskiego Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, których celem jest stworzenie związków koordynacyjnych metali, takich jak ruten lub rod o unikalnych właściwościach fizyko-chemicznych i dużym potencjale do zastosowań biomedycznych. Moja rola w prowadzonych badaniach polega na ocenie właściwości

przeciwnowotworowych zsyntetyzowanych kompleksów metali, toksyczności wobec komórek normalnych oraz badaniu mechanizmu ich toksycznego działania. Uzyskane wyniki doświadczeń wykazały, iż kompleksy rodu(II) z triazolopirymidynami działają cytotoksycznie wobec komórek raka piersi poprzez mechanizm zależny od wolnych rodników [Fandzloch i wsp., 2020a]. Znacznie wyższą aktywność przeciwnowotworową w porównaniu z NAMI-A, który jest kompleksem rutenu(III) o właściwościach antymetastatycznych, stosowanym w badaniach klinicznych, zaobserwowaliśmy w przypadku kompleksów rutenu(III) z triazolopirymidynami [Fandzloch i wsp., 2020b]. Ponadto, badania z użyciem kompleksów rutenu(II) z analogami puryn wykazały, iż działają one nie tylko cytotoksycznie wobec komórek nowotworowych, ale także hamują ich migrację na poziomie zbliżonym do NAMI-A [Fandzloch i wsp., 2021]. Ostatnim rodzajem związków, które dotychczas zostały przez nas przebadane są kompleksy rutenu z ligandami triazolopirymidynowymi o geometrii typu „Sawhorse”, stanowiące przykład fotoaktywowanych cząsteczek tlenku węgla(II) (tzw. związki CORM). Wyniki naszych doświadczeń wykazały, iż na skutek pobudzenia światłem UV kompleksy te nabywają cytotoksycznych właściwości wobec komórek nowotworowych [Fandzloch i wsp., 2022].

Poza wyżej wymienionymi projektami, współpracowałem również z dr hab. Joanną Wyszowską Prof. UMK z Zakładu Biofizyki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UMK w Toruniu (obecnie Katedra Fizjologii Zwierząt i Neurobiologii na Wydziale Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK) uczestnicząc w badaniach, których celem była ocena wpływu pola magnetycznego o niskiej częstotliwości na parametry fizjologiczno-immunologiczne szczurów. Wyniki tych doświadczeń wykazały, iż pojedyncza, długotrwała ekspozycja zwierząt na wymieniony rodzaj pola magnetycznego stymuluje aktywność układu immunologicznego poprzez wzrost stężenia cytokin prozapalnych w osoczu, zwiększenie liczby limfocytów oraz poziomu hemoglobiny i hematokrytu. Z drugiej strony, w warunkach typowych dla terapeutycznego stosowania tego pola magnetycznego w magnetoterapii (krótka dzienna i powtarzana ekspozycja) nie zaobserwowaliśmy potencjalnie szkodliwej odpowiedzi ze strony układu immunologicznego [Wyszowska i wsp., 2018].

Opisane powyżej dodatkowe osiągnięcia naukowe stanowiły podstawę do opublikowania 50 prac o łącznym współczynniku wpływu $IF=175,636$ (punktacja MNiSW/MEiN wynosi: 4352).

Literatura

- Ehlert M, Roszek K, **Jędrzejewski T**, Bartmański M, Radtke A (2019) Titania nanofiber scaffolds with enhanced biointegration activity - preliminary in vitro studies. *Int J Mol Sci* 20(22): 5642.
- Ehlert M, Radtke A, **Jędrzejewski T**, Roszek K, Bartmański M, Piszczek P (2020) In vitro studies on nanoporous, nanotubular and nanosponge-like titania coatings, with the use of adipose-derived stem cells. *Materials (Basel)* 13(7): 1574.
- Ehlert M, Radtke A, Roszek K, Jędrzejewski T, Piszczek P (2021) Assessment of titanate nanolayers in terms of their physicochemical and biological properties. *Materials (Basel)* 14(4): 806.
- Ehlert M, Radtke A, Forbot N, **Jędrzejewski T**, Roszek K, Golińska P, Trykowski G, Piszczek P (2022) TiO₂/HA and titanate/HA double layer coatings on Ti6Al4V surface and their influence on in vitro cell growth and osteogenic potential. *J Funct Biomater* 13(4): 271.
- Fandzloch M, Augustyniak AW, Dobrzańska L, **Jędrzejewski T**, Sitkowski J, Wypij M, Golinska P (2020a) First dinuclear rhodium (II) complexes with triazolopyrimidines and the prospect of their potential biological use. *J Inorg Biochem* 210: 111072.
- Fandzloch M, Dobrzańska L, **Jędrzejewski T**, Jezierska J, Wiśniewska J, Łakomska I (2020b) Synthesis, structure and biological evaluation of ruthenium(III) complexes of triazolopyrimidines with anticancer properties. *J Biol Inorg Chem* 25(1): 109-124.
- Fandzloch M, **Jędrzejewski T**, Dobrzańska L, Esteban-Parra GM, Wiśniewska J, Paneth A, Paneth P, Sitkowski J (2021) New organometallic ruthenium(II) complexes with purine analogs - a wide perspective on their biological application. *Dalton Trans* 50(16): 5557-5573.
- Fandzloch M, **Jędrzejewski T**, Wiśniewska J, Sitkowski J, Dobrzańska L, Brożyna AA, Wrotek S (2022) Sawhorse-type ruthenium complexes with triazolopyrimidine ligands - what do they represent in terms of cytotoxic and CORM compounds? *Dalton Trans* 51(22): 8804-8820.
- Gąsior G, Grodzicka M, **Jędrzejewski T**, Wiśniewski M, Radtke A (2023) Comparative study of porous iron foams for biodegradable implants: structural analysis and in vitro assessment. *J Funct Biomater* 14(6): 293.
- Jędrzejewski T**, Wrotek S, Piotrowski J, Kozak W (2014) Silver nanoparticles augment releasing of pyrogenic factors by blood cells stimulated with LPS. *Cent Eur J Immunol* 9(11): 1058-1067.
- Jędrzejewski T**, Pawlikowska M, Sobocińska J, Wrotek S (2020) Protein-bound polysaccharides from *Coriolus versicolor* fungus disrupt the crosstalk between breast cancer cells and macrophages through inhibition of angiogenic cytokines production and shifting tumour-associated macrophages from the M2 to M1 subtype. *Cell Physiol Biochem* 54(4): 615-628.
- Jędrzejewski T**, Pawlikowska M, Sobocińska J, Wrotek S (2023) COVID-19 and cancer - the potential of *Coriolus versicolor* mushroom to combat global health challenges. *Int J Mol Sci* 24(5): 4864.
- Jędrzejewski T**, Sobocińska J, Maciejewski B, Slovákova M, Wrotek S (2025) Enhanced Anti-Cancer Potential: Investigating the Combined Effects with *Coriolus Versicolor* Extract and Phosphatidylinositol 3-Kinase Inhibitor (LY294002) *In Vitro*. *Int J Mol Sci* 26(4), 1556.
- Kowalczywska M, Wrotek S, **Jędrzejewski T**, Kozak W (2010) Cancer cachexia: mediating factors and the effect of eicosapentaenoic acid dieting. *J Pre-Clin Clin Res* 4(2): 108-111.

- Kowalczevska M, Piotrowski J, **Jędrzejewski T**, Kozak W (2016) Polysaccharide peptides from *Coriolus versicolor* exert differential immunomodulatory effects on blood lymphocytes and breast cancer cell line MCF-7 in vitro. *Immunol Lett* 174: 37-44.
- Kozak W, **Jędrzejewski T**, Pawlikowska M, Piotrowski J, Wrotek S (2018) Towards antitumor immunity and acute infectious fever: gamma/delta T cells hypothesis. *Q Rev Biol* 93(3): 187-205.
- Kozłowski HM, Pawlikowska M, Sobocińska J, **Jędrzejewski T**, Działuk A, Wrotek S (2021) Distinct modulatory effects of fever-range hyperthermia on the response of breast cancer cells and macrophages to mistletoe (*Viscum album* L.) extract. *Pharmaceuticals (Basel)* 14(6): 551.
- Kozłowski HM, Sobocińska J, **Jędrzejewski T**, Maciejewski B, Działuk A, Wrotek S (2023a) Fever-range hyperthermia promotes macrophage polarization towards regulatory phenotype M2b. *Int J Mol Sci* 24(24): 17574.
- Kozłowski HM, Sobocińska J, **Jędrzejewski T**, Maciejewski B, Działuk A, Wrotek S (2023b) Fever-range whole body hyperthermia leads to changes in immune-related genes and miRNA machinery in Wistar rats. *Int J Hyperthermia* 40(1): 2216899.
- Kubiak B, Muzioł T, Wrzeszcz G, Radtke A, Golińska P, **Jędrzejewski T**, Wrotek S, Piszczek P (2024) Structural Characterization and Bioactivity of a Titanium(IV)-Oxo Complex Stabilized by Mandelate Ligands. *Molecules* 29(8): 1736.
- Lewandowska Ż, Piszczek P, Radtke A, **Jędrzejewski T**, Kozak W, Sadowska B (2015) The evaluation of the impact of titania nanotube covers morphology and crystal phase on their biological properties. *J Mater Sci Mater Med* 26(163): 1-12.
- Pawlikowska M, **Jędrzejewski T**, Piotrowski J, Kozak W (2016) Fever-range hyperthermia inhibits cells immune response to protein-bound polysaccharides derived from *Coriolus versicolor* extract. *Mol Immunol* 80: 50-57.
- Pawlikowska M, Piotrowski J, **Jędrzejewski T**, Kozak W, Slominski AT, Brożyna AA (2020a) *Coriolus versicolor*-derived protein-bound polysaccharides trigger the caspase-independent cell death pathway in amelanotic but not melanotic melanoma cells. *Phytother Res* 34(1): 173-183.
- Pawlikowska M, **Jędrzejewski T**, Brożyna AA, Wrotek S (2020b) Protein-bound polysaccharides from *Coriolus versicolor* induce RIPK1/RIPK3/MLKL-mediated necroptosis in ER-positive breast cancer and amelanotic melanoma cells. *Cell Physiol Biochem* 54(4): 591-604.
- Pawlikowska M, **Jędrzejewski T**, Slominski A, Brożyna A, Wrotek S (2021) Pigmentation levels affect melanoma responses to *Coriolus versicolor* extract and play a crucial role in melanoma-mono-nuclear cell crosstalk. *Int J Mol Sci* 22(11): 5735.
- Piotrowski J, **Jędrzejewski T**, Kozak W (2014) Heme oxygenase-1 induction by cobalt protoporphyrin enhances fever and inhibits pyrogenic tolerance to LPS. *J Therm Biol* 45: 69-74.
- Piotrowski J, **Jędrzejewski T**, Kozak W (2015) Immunomodulatory and antitumor properties of polysaccharide peptide (PSP). *Postepy Hig Med Dosw* 69: 91-97.
- Piotrowski J, Jędrzejewski T, Pawlikowska M, Pacuła AJ, Ścianowski J, Kozak W (2017a) The weakening effect of soluble epoxide hydrolase inhibitor AUDA on febrile response to lipopolysaccharide and turpentine in rat. *J Physiol Biochem* 73(4): 551-560.

- Piotrowski J, **Jędrzejewski T**, Pawlikowska M, Kozak W (2017b) Znaczenie gorączki i endogennej antypirezy. Perspektywa wykorzystania inhibitorów rozpuszczalnej hydrolazy epoksydowej w farmakologii przeciwigorączkowej. *Kosmos* 66(2): 327-335.
- Piotrowski J, **Jędrzejewski T**, Pawlikowska M, Wrotek S, Kozak (2019) High mobility group box 1 protein released in the course of aseptic necrosis of tissues sensitizes rats to pyrogenic effects of lipopolysaccharide. *J Therm Biol* 84: 36-44.
- Piotrowski J, **Jędrzejewski T** (2024) High mobility group box protein 1 sensitizes mononuclear cells to further contact with lipopolysaccharide. *Cent Eur J Immunol* 49(1): 1-8.
- Piszczyk P, Lewandowska Ż, Radtke A, **Jędrzejewski J**, Kozak W, Sadowska B, Szubka M, Talik E, Fiori F (2017) Biocompatibility of titania nanotube coatings enriched with silver nanograins by chemical vapor deposition. *Nanomaterials (Basel)* 7(9): 274.
- Piszczyk P, Radtke A, Ehlert M, **Jędrzejewski T**, Sznarkowska A, Sadowska B, Bartmański M, Erdoğan YK, Ercan B, Jędrzejczyk (2020) Comprehensive evaluation of biological properties of surface modified titanium alloy implants. *J Clin Med* 9(2): 342.
- Radtke A, Topolski A, **Jędrzejewski T**, Kozak W, Sadowska B, Więckowska-Szakiel M, Szubka M, Talik E, Pleth Nielsen L, Piszczyk P (2017a) The bioactivity and photocatalytic properties of titania nanotube coatings produced with the use of the low potential anodization of Ti6Al4V alloy surface. *Nanomaterials (Basel)* 7(8): 197.
- Radtke A, Topolski A, **Jędrzejewski T**, Kozak W, Sadowska B, Więckowska-Szakiel M, Piszczyk P (2017b) Bioactivity studies on titania coatings and the estimation of their usefulness in the modification of implants surface. *Nanomaterials (Basel)* 7(4): 90.
- Radtke A, **Jędrzejewski T**, Kozak W, Sadowska B, Więckowska-Szakiel M, Talik E, Mäkelä M, Leskelä M, Piszczyk P (2017c) Optimization of the silver nanoparticles PEALD process on the surface of 1-D titania coatings. *Nanomaterials (Basel)* 7(7): 193.
- Radtke A, Bal M, **Jędrzejewski T** (2018) Novel titania nanocoatings produced by the anodic oxidation with the use of the cyclically changing potential; their photocatalytic activity and biocompatibility. *Nanomaterials (Basel)* 8(9): 712.
- Radtke A, Ehlert M, **Jędrzejewski T**, Sadowska B, Więckowska-Szakiel M, Holopainen J, Ritala M, Leskelä M, Bartmański M, Szkodo M, Piszczyk P (2019a) Titania nanotubes/hydroxyapatite nanocomposites produced with the use of the atomic layer deposition technique: estimation of bioactivity and nanomechanical properties. *Nanomaterials (Basel)* 9(1): 123.
- Radtke A, Grodzicka M, Ehlert M, **Jędrzejewski T**, Wypij M, Golińska P (2019b) “To be microbiocidal and not to be cytotoxic at the same time...” - silver nanoparticles and their main role on the surface of titanium alloy implants. *J Clin Med* 8(3): 334.
- Radtke A, Ehlert M, **Jędrzejewski T**, Bartmański M (2019c) The morphology, structure, mechanical properties and biocompatibility of nanotubular titania coatings before and after autoclaving process. *J Clin Med* 8(2): 272.
- Roy K, Kozłowski HM, **Jędrzejewski T**, Sobocińska J, Maciejewski B, Działuk A, Wrotek S (2023) Endotoxin tolerance creates favourable conditions for cancer development. *Cancers (Basel)* 15(20): 5113.

- Śmigiel J, Piszczek P, Wrzeszcz G, Jędrzejewski J, Golińska P, Radtke (2023) The Composites of PCL and tetranuclear titanium(IV)-oxo complex with acetylsalicylate ligands - assessment of their biocompatibility and antimicrobial activity with the correlation to EPR spectroscopy. *Materials (Basel)* 16(1): 297.
- Tahir M, Vicini S, Jędrzejewski T, Wrotek S, Sionkowska A (2024) New Composite Materials Based on PVA, PVP, CS, and PDA. *Polymers* 16(23): 3353.
- Wrotek S, Jędrzejewski T, Potera-Kram E, Kozak W (2011) Antipyretic activity of N-acetylcysteine. *J Physiol Pharmacol* 62(6): 669-675.
- Wrotek S, Jędrzejewski T, Nowakowska A, Kozak W (2015) Glutathione deficiency attenuates endotoxic fever in rats. *Int J Hyperthermia* 31(7): 793-799.
- Wrotek S, Jędrzejewski T, Piotrowski J, Kozak W (2016a) N-acetyl-L-cysteine exacerbates generation of IL-10 in cells stimulated with endotoxin in vitro and produces antipyresis via IL-10 dependent pathway in vivo. *Immunol Lett* 177: 1-5.
- Wrotek S, Jędrzejewski T, Nowakowska A, Kozak W (2016b) LPS alters pattern of sickness behavior but does not affect glutathione level in aged male rats. *Biogerontology* 17: 715-723.
- Wrotek S, Domagalski K, Jędrzejewski T, Dec E, Kozak W (2017) Buthionine sulfoximine, a glutathione depletor, attenuates endotoxic fever and reduces IL-1b and IL-6 level in rats. *Cytokine* 90: 31-37.
- Wrotek S, Sobocińska J, Kozłowski HM, Pawlikowska M, Jędrzejewski T, Działuk A (2020) New insights into the role of glutathione in the mechanism of fever. *Int J Mol Sci* 21(4): 1393.
- Wypij M, Jędrzejewski T, Ostrowski M, Trzcńska J, Rai M, Golińska P (2020) Biogenic silver nanoparticles: assessment of their cytotoxicity, genotoxicity and study of capping proteins. *Molecules* 25(13): 3022.
- Wypij M, Jędrzejewski T, Trzcńska-Wencel J, Ostrowski M, Rai M, Golinska P (2021) Green synthesized silver nanoparticles: antibacterial and anticancer activities, biocompatibility, and analyses of surface-attached proteins. *Front Microbiol* 12: 632505.
- Wyszkowska J, Jędrzejewski T, Piotrowski J, Wojciechowska A, Stankiewicz M, Kozak W (2018) Evaluation of the influence of in vivo exposure to extremely low-frequency magnetic fields on the plasma levels of pro-inflammatory cytokines in rats. *Int J Radiat Biol* 94(10): 909-917.

8. Nagrody i wyróżnienia otrzymane za działalność naukową i dydaktyczną

- Dwa indywidualne wyróżnienia Rektora UMK za osiągnięcia w dziedzinie badań naukowych (2020, 2021)
- Dwie indywidualne nagrody trzeciego stopnia Rektora UMK za osiągnięcia w dziedzinie badań naukowych (2016, 2018)
- Cztery zespołowe wyróżnienia Rektora UMK za osiągnięcia w dziedzinie badań naukowych (2019, 2020, 2021, 2022)
- Jedno zespołowe wyróżnienie Rektora UMK za osiągnięcia w dziedzinie dydaktycznej (2022)
- Piętnaście stypendiów Rektora UMK za wysoko punktowane publikacje (2024, 2022, 2021 - czterokrotnie, 2020 – sześciokrotnie, 2019 – dwukrotnie, 2018)

- Dwa stypendia Dziekana Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych UMK za wysoko punktowane publikacje (2020, 2019)

.....
(podpis wnioskodawcy)