

dr Małgorzata Rogalińska

AUTOREFERAT

Katedra Cytobiochemii
Instytut Biochemii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki

1. Imię i nazwisko:

Małgorzata Rogalińska

2. Tytuły i stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

1998 r. - tytuł magistra biologii specjalności biochemia-genetyka, Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi., Instytut Biochemii, Katedra Genetyki Molekularnej;
Praca magisterska pt. „Działanie związków platyny na żywotność limfocytów i aktywność limfocytarnych transferaz S-glutationowych”.

2003 r. - stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii, Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Instytut Biochemii, Katedra Cytobiochemii;
Rozprawa doktorska pt. „Białka jądrowe limfocytów pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową - B komórkową”.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1.10.1998 r. - doktorantka w Katedrze Cytobiochemii UŁ (w ramach Stacjonarnego Studium Doktoranckiego Biochemiczno-Biofizycznego na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UŁ);

od 1.09.2001 r.

- 31.12.2003 r. - asystent-doktorant w Katedrze Cytobiochemii UŁ;

od 1.01. 2004r. - adiunkt w Katedrze Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ.U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

– publikacje naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

4. Tytuł osiągnięcia naukowego

Tytuł: „Personalizacja terapii przewlekłej białaczki limfocytowej”

Lista publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

(autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. **Rogalińska M**, Błoński JZ, Góralski P, Wawrzyniak E, Hartman M, Rogalska A, Robak P, Koceva-Chyła A, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Relationship between *in vitro* drug sensitivity and clinical response of patients to treatment in chronic lymphocytic leukemia. *International Journal of Oncology* 2015, 46: 1259-1267.
2. **Rogalińska M**, Kiliańska ZM. Personalized therapy versus targeted therapy, differences in the meaning. *Global Journal for Research Analysis* 2015, 4: No 1, 5-8.
3. Góralski P, **Rogalińska M**, Błoński JZ, Pytel E, Robak T, Kiliańska ZM, Piekarski H. The differences in thermal profiles between normal and leukemic cells exposed to anticancer drug evaluated by differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2014, 118: 1339-1344.
4. **Rogalińska M**, Franiak-Pietryga I, Błoński JZ, Góralski P, Maciejewski H, Janus A, Robak P, Mirowski M, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Toward personalized therapy for chronic lymphocytic leukemia DSC and cDNA microarray assessment of two cases. *Cancer Biology & Therapy* 2013, 14: 1-7.
5. **Rogalinska M**, Kilianska ZM. Targeting Bcl-2 in CLL. *Current Medicinal Chemistry* 2012, 19: 5109-5115.
6. **Rogalinska M**, Goralski P, Wozniak K, Bednarek JD, Blonski JZ, Robak T, Piekarski H, Hanausek M, Walaszek Z, Kilianska ZM. Calorimetric study as a potential test for choosing treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia Research* 2009, 33: 308-314.

Opis indywidualnego wkładu habilitanta w powstanie publikacji oraz oświadczenia współautorów określające ich indywidualny wkład w powstanie każdej z powyższych prac zamieszczono w załączniku 4 oraz załączniku 6.

Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

1. Wprowadzenie

W ostatnich dwóch dekadach obserwuje się znaczny postęp w diagnostyce i leczeniu chorób nowotworowych, w tym przewlekłej białaczki limfocytowej – PBL (ang. chronic lymphocytic leukemia). Z uwagi na fakt współwystępowania dwóch populacji komórek białaczkowych, tj. spoczynkowych i dzielących się, leczenie tej choroby stanowi wciąż duże wyzwanie terapeutyczne. Choroby nowotworowe zaliczamy nadal do chorób nieuleczalnych. Przyjmuje się, że różnice w ekspresji czynników regulujących apoptozę, przekazywanie sygnału w komórce, a także wpływ czynników mikrośrodowiska może warunkować różną odpowiedź pacjentów na leczenie anty-nowotworowe.

W ramach realizowanej uprzednio pracy doktorskiej otrzymano wyniki wskazujące na istnienie odrębności molekularnej białek jądrowych komórek jednojądrzastych ang. peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) izolowanych z krwi obwodowej pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową w porównaniu z preparatami wydzielonymi z krwi ludzi zdrowych. Otrzymane wyniki skłoniły do poszukiwań zmian w obrębie jąder komórkowych komórek białaczkowych w porównaniu z odnośnikowymi preparatami kontrolnymi komórek PBMC, pochodzącymi z krwi honorowych krwiodawców.

W ramach współpracy Zakładu Biochemii Medycznej Katedry Cytobiochemii z Katedrą Chemii Fizycznej, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Łódzkiego prowadzone są (od ponad 10) lat badania porównawcze profili termicznych frakcji jądrowej komórek PBMC prawidłowych i białaczkowych z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC; ang. differential scanning calorimetry). Analizy wskazały, że wśród preparatów izolowanych z krwi pacjentów z zaawansowanym stadium białaczki obserwuje się obecność dodatkowego przejścia fazowego w temperaturze ok. 95°C. Przeprowadzone badania potwierdziły pojawienie się dodatkowego przejścia fazowego w profilach termicznych preparatów frakcji jądrowej wydzielonej z komórek PBMC pacjentów z zaawansowanym stadium PBL. Przejście to było obecne w preparatach jąder PBMC wszystkich pacjentów, u których podjęto decyzję o włączeniu terapii anty-nowotworowej.

W następnym etapie badań określono wpływ związków anty-nowotworowych (samodzielnie i w kombinacjach) na przeżywalność komórek białaczkowych, poziom indukcji apoptozy, zmiany w profilach termicznych metodą DSC, a także w ekspresji

białek związanych z programowaną śmiercią komórki. Wstępne pozytywne wyniki badań były podstawą do starań o grant.

W ramach realizowanego projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Badań opracowano kilku-składnikowy test, który dokumentuje wrażliwość komórek białaczkowych wydzielonych z krwi pacjenta na związki anty-nowotworowe. W badaniach przeanalizowano *in vitro* preparaty komórek PBMC otrzymane z krwi chorych przed leczeniem, w celu określenia potencjalnej wrażliwości komórek pacjentów na związki anty-nowotworowe.

2. Cel pracy

Celem prowadzonych badań było opracowanie testu, który umożliwi sprawdzenie wrażliwości komórek pacjentów z PBL na leki anty-nowotworowe przed włączeniem leczenia u pacjentów, aby wybrać na podstawie jego wyników lek/kombinację leków, na którą pacjent miałyby szansę odpowiedzieć i jednocześnie aby pomóc ograniczyć oporność pacjentów na terapię.

Badania wchodzące w skład osiągnięcia naukowego przebiegały etapowo i obejmowały analizy porównawcze:

- Przeżywalności/poziomu komórek apoptotycznych w populacji komórek prawidłowych i nowotworowych, inkubowanych z lekami anty-nowotworowymi w porównaniu z komórkami kontrolnymi (bez dodatku związków anty-nowotworowych) z zastosowaniem cytometrii przepływowej (Vybrant Apoptosis Assay #4);
- Profili termicznych frakcji jądrowej komórek PBMC białaczkowych i prawidłowych poddanych inkubacji z lekami anty-nowotworowymi w porównaniu z komórkami kontrolnymi z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej;
- Zmian profili termicznych jąder komórkowych wydzielonych z komórek białaczkowych inkubowanych ze związkami anty-nowotworowymi w porównaniu z komórkami kontrolnymi inkubowanymi równolegle, bez dodatku leków;
- Aktywności kaspazy-3/7 w płynie pochodzącym z komórek białaczkowych eksponowanych na związki anty-nowotworowe wykorzystując test

fluorescencyjny APO-ONE firmy Promega oraz ocenę luminescencji aktywnej formy kaspazy-3 oraz -9, stosując test Caspase-3 Glo, czy Caspase-9 Glo firmy Promega;

- Cytotoksyczności związków anty-nowotworowych z wykorzystaniem metody kometowej (comet assay);
- Ekspresji białek zaangażowanych w realizację apoptozy w lizatach komórek PBMC prawidłowych oraz białaczkowych eksponowanych na związki anty-nowotworowe z wykorzystaniem techniki Western blot.

Analizy porównawcze przeżywalności komórek białaczkowych, poziomu apoptozy, profili termicznych uzyskanych techniką różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz ekspresji polimerazy poli-(ADP) rybozy-1 (PARP-1) techniką Western blot wykazały różnice w indukcji apoptozy po inkubacji modelowych komórek białaczkowych ze związkami anty-nowotworowymi.

Znaczny spadek przeżywalności komórek białaczkowych, wzrost odsetka komórek apoptotycznych, obniżenie lub zanik przejścia fazowego w profilach termicznych (w zakresie temperatur $95\pm 5^{\circ}\text{C}$) obserwowano u pacjentów odpowiadających na terapię *in vivo*.

Wyniki przeprowadzonych badań, opublikowane w czterech pracach eksperymentalnych ujawniły, że znaczny spadek przeżywalności komórek, wzrost poziomu apoptozy, zmiany w profilach termicznych jąder komórkowych oraz proteolityczna degradacja PARP-1 wskazują na wrażliwość komórek pacjenta z PBL na zastosowane związki anty-nowotworowe.

Występowanie wysokiej zgodności statystycznej pomiędzy wynikami odpowiedzi pacjentów *in vivo* (oznaczanymi zwykle po półrocznej terapii) z wynikami analiz *in vitro* wrażliwości ich komórek na aplikowane w Klinice Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi leki anty-nowotworowe po inkubacji wyizolowanych komórek PBMC ze związkami anty-nowotworowymi sugerują, że wybór leku/ów przed podaniem *in vivo* może okazać się pomocny w decyzjach terapeutycznych, aby nie dopuścić do zastosowania leczenia, na które pacjent nie zareaguje.

Osiągnięcie naukowe stanowi jednotematyczny cykl publikacji wydanych w latach 2009-2015.

Małgorzata Rogalińska

Wykaz opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Temat: **Personalizacja terapii przewlekłej białaczki limfocytowej**

Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (punktacja według wykazu Ministerialnego z 2013 r.)

1. **Rogalińska M**, Błoński JZ, Góralski P, Wawrzyniak E, Hartman M, Rogalska A, Robak P, Koceva-Chyła A, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Relationship between in vitro drug sensitivity and clinical response of patients to treatment in chronic lymphocytic leukemia. *International Journal of Oncology* 2015, 46: 1259-1267.

IF = **3,025** (punkty MNiSW **25**) Liczba cytowań wg Web of Science 0

Indywidualny wkład – 50%

Koncepcja badawcza.

Wykonanie lub koordynowanie wykonania:

- hodowli komórek ze związkami anty-nowotworowymi;
- monitoringu przeżycia komórek/poziomu apoptozy/nekrozy w hodowlach komórek przed inkubacją z lekami (czas 0h), oraz po 24 i 48 godz. ekspozycji z związkami anty-nowotworowymi testem Vybrant Apoptosis Assay #4;
- preparatyki w celu otrzymania frakcji jądrowej komórek białaczkowych po inkubacji z lekami;
- lizy komórek po inkubacji z lekami;
- oznaczenia stężenia białka met. Lowry'ego i wsp.;
- analizy ekspresji białek związanych z realizacją apoptozy.

Analiza otrzymanych wyników, napisanie manuskryptu i główny udział w jego redagowaniu (autor korespondencyjny).

2. **Rogalińska M**, Kilińska ZM. Personalized therapy versus targeted therapy, differences in the meaning. *Global Journal for Research Analysis* 2015, 4, No1, 5-8.

IF = **1,5408**. Liczba cytowań wg Web of Science 0

Indywidualny wkład – 83%

Koncepcja, napisanie manuskryptu z wyjątkiem fragmentu dotyczącego części Barriers in personalized therapy. Udział w przygotowaniu rycin do manuskryptu.

3. Góralski P*, **Rogalińska M***, Błoński JZ, Pytel E, Robak T, Kiliańska ZM, Piekarski H. The differences in thermal profiles between normal and leukemic cells exposed to anticancer drug evaluated by differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2014, 118: 1339-1344.

IF = **2,206** (punkty MNiSW **20**) Liczba cytowań wg Web of Science 2

Indywidualny wkład – 37% (*równy udział dwóch pierwszych autorów w badaniach eksperymentalnych)

Koncepcja pracy w porozumieniu z dr P. Góralskim, Prof. H. Piekarskim i Prof. Z. Kiliańską;

Wykonanie:

- hodowli komórek ze związkami anty-nowotworowymi;
- monitoringu przeżycia komórek/poziomu apoptozy/nekrozy w hodowlach komórek przed inkubacją z lekami (czas 0h), oraz po 24 i 48 godz. ekspozycji z związkami anty-nowotworowymi testem Vybrant Apoptosis Assay #4;
- preparatyki w celu otrzymania frakcji jądrowej komórek białaczkowych po inkubacji z lekami;
- koordynacja przeprowadzenia lizy komórek po inkubacji z lekami,
- oznaczenia stężenia białek met. Lowryego i wsp.,
- analiza ekspresji białka PAPR-1,

Udział w analizie wyników, pisaniu manuskryptu, redagowaniu i korekcie autorskiej.

4. **Rogalińska M***, Franiak-Pietryga I*, Błoński JZ, Góralski P, Maciejewski H, Janus A, Robak P, Mirowski M, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Toward personalized therapy for chronic lymphocytic leukemia DSC and cDNA microarray assessment of two cases. *Cancer Biology & Therapy* 2013, 14: 1-7.

IF = **3,287** (punkty MNiSW **30**) Liczba cytowań wg Web of Science 1

Indywidualny wkład – 37%

(*równy udział dwóch pierwszych autorów w badaniach eksperymentalnych)

Koncepcja pracy w porozumieniu z dr Franiak-Pietrygą i Prof. Z. Kiliańską

Wykonanie:

- hodowli komórek ze związkami anty-nowotworowymi;
- monitoringu przeżycia komórek/poziomu apoptozy/nekrozy w hodowlach komórek przed inkubacją z lekami (czas 0h), oraz po 24 i 48 godz. ekspozycji z związkami anty-nowotworowymi testem Vybrant Apoptosis Assay #4;
- izolowanie frakcji jądrowej komórek białaczkowych po inkubacji z lekami;
- przeprowadzenia lizy komórek po inkubacji z lekami;
- oznaczenia stężenia białek met. Lowryego i wsp.,
- analiza ekspresji białka PAPR-1, Mcl-1, Bcl-2, kaspazy-3.

Pisanie manuskryptu, udział w analizie wyników, redagowaniu i korekcie tekstu.

Przygotowanie wykresu nr 1.

5. **Rogalinska M**, Kilianska ZM. Targeting Bcl-2 in CLL. Current Medicinal Chemistry 2012, 19: 5109-5115.

IF = **4,07** (punkty MNiSW **40**) Liczba cytowań wg Web of Science 4

Indywidualny wkład – 83 %

Koncepcja pracy w porozumieniu z Prof. Z. Kiliańską

Napisanie manuskryptu z wyjątkiem rozdziału dotyczącego mikroRNA. Przygotowanie tabeli i rysunku. Funkcja autora korespondencyjnego.

6. **Rogalinska M**, Goralski P, Wozniak K, Bednarek JD, Blonski JZ, Robak T, Piekarski H, Hanausek M, Walaszek Z, Kilianska ZM. Calorimetric study as a potential test for choosing treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leukemia Research 2009, 33: 308-314.

IF= **2,69** (punkty MNiSW **25**) Liczba cytowań wg Web of Science 7

Indywidualny wkład: 61%

Wykonanie lub koordynowanie wykonania:

- ekspozycji komórek białaczkowych z kombinacjami: kladrybiną z mafosfamidem (CM) lub fludarabiną z mafosfamidem (FM)
- analiz przeżycia komórek/poziomu apoptozy/nekrozy w hodowlach komórek przed inkubacją z lekami (czas 0h), oraz po 24 i 48 godz. ekspozycji z związkami antynowotworowymi testem Vybrant Apoptosis Assay #4;
- barwienia preparatów komórek białaczkowych po inkubacji z lekami antynowotworowymi;
- izolacji jąder komórkowych z komórek białaczkowych wydzielonych z komórek inkubowanych przez 48 godz. z związkami antynowotworowymi do dalszych analiz z wykorzystaniem techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej;
- udział w przygotowaniu preparatów do analiz uszkodzeń DNA metoda kometową po ekspozycji komórek białaczkowych z lekami antynowotworowymi;
- lizy komórek po inkubacji z lekami antynowotworowymi;
- oznaczenia stężenia białka met. Lowry'ego i wsp.;
- analizy ekspresji białek antyapoptotycznych: Bcl-2 oraz u większości preparatów białka Mcl-1 z wykorzystaniem techniki Western blot.

Impact Factor wymienionych publikacji: **16,818**

Sumaryczna liczba punktów MNiSW: **140**

Wymienione powyżej prace, wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej są cytowane zgodnie z nadaną im numeracją [1-6].

Omówienie prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

- 1. Rogalińska M, Błoński JZ, Góralski P, Wawrzyniak E, Hartman M, Rogalska A, Robak P, Koceva-Chyła A, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM.** Relationship between *in vitro* drug sensitivity and clinical response of patients to treatment in chronic lymphocytic leukemia. *International Journal of Oncology* 2015, 46: 1259-1267.

Publikacja 1 jest wynikiem zbiorczych analiz wyników otrzymanych przed oraz podczas realizacji grantu z NCN nr (No. 2011/01/B/NZ/0102) pt. „Personalizacja terapii przewlekłej białaczki limfocytowej”. W pracy przedstawiono wyniki dotyczące 28 pacjentów z PBL wykazując korelację uzyskanych wyników *in vitro* z odpowiedzią kliniczną tych pacjentów, oznaczaną zwykle po 6 cyklach leczenia anty-nowotworowego. **Najważniejszym wnioskiem opublikowanym w tym artykule badań była obserwacja wskazująca, że odpowiedź pacjenta z PBL oznaczana w oparciu o jego parametry kliniczne najczęściej po 6 cyklach leczenia anty-nowotworowego oraz wynik analiz *in vitro* wrażliwości komórek białaczkowych na związki anty-nowotworowe nie zawsze koreluje z stwierdzonymi aberracjami chromosomalnymi.** Pozytywną korelację odpowiedzi *in vivo* oraz *in vitro* stwierdzono u pacjenta, u którego odnotowano obecność negatywnego wskaźnika prognostycznego, tj. delecji w obrębie chromosomu 17.

Ponadto, wyniki przeprowadzonych analiz ujawniły, że po wykonaniu zbiorczej analizy testów przeprowadzonych z wykorzystaniem cytometrii przepływowej (Vybrant Apoptosis Assay #4), różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz Western blot przed podaniem pacjentowi leków anty-nowotworowych można określić potencjalną oporność komórek pacjenta na testowane związki anty-nowotworowe, co z wysoką znamiennością statystyczną przekłada się na wynik leczenia pacjenta *in vivo*, oznaczany najczęściej po 6 cyklach terapii. Wykonanie zaproponowanych testów wydaje się być uzasadnione dla pacjentów z PBL przed podaniem pierwszego cyklu chemioterapii, po to aby nie aplikować im leków, na które nie odpowiedzą. Zastosowanie *in vitro* w/w testów jest szczególnie ważne u pacjentów reagujących niestandardowo np. na pierwszy cykl leczenia, a także w celu monitoringu zaawansowania choroby oraz sprawdzenia leku/ów, który byłoby efektywny w leczeniu PBL u danego chorego.

2. Rogalińska M, Kiliańska ZM. Personalized therapy versus targeted therapy, differences in the meaning. Global Journal for Research Analysis 2015, 4, No 1, 5-8.

W publikacji nr 2 wyjaśniono znaczenie pojęć terapii ukierunkowanej oraz spersonalizowanej. Przedyskutowano potrzebę analiz nie tylko wyników uśrednionych, ale szczególnie nacisk położono na wartość wyników otrzymanych dla poszczególnych chorych.

Z naszych badań wynika, że zbiorcze wykresy wyników otrzymane dla grupy chorych, mogą nie być przystające do wyników pojedynczych pacjentów np. opornych na zastosowaną terapię. Rezultaty te nie mieszczą się w zakresie wartości prawidłowych i fałszywie wskazują nadzieję na efektywną terapię i może się zdarzyć, że pacjent na leczenie nie zareaguje pozytywnie, ponieważ otrzymane dla tego pacjenta wyniki wskazują na potencjalną oporność jego komórek na podany lek/kombinację leków.

W artykule przeanalizowano znaczenie pojęć terapii ukierunkowanej oraz personalizacji na podstawie analiz parametrów (przeżywalności, poziomu apoptozy, zmian w profilach termicznych oraz obecności proteolitycznego produktu ciecicia PARP-1 o m.cz. 85kDa, w wyniku 48 godzinnej inkubacji komórek białaczkowych z lekami, przed ich podaniem pacjentowi. Przedstawiono również przykładowe wyniki, wskazujące na pozytywną i negatywną odpowiedź komórek pacjenta na zastosowane związki antynowotworowe. Przeprowadzone analizy wrażliwości komórek pacjenta na związki antynowotworowe wydają się być ważne z punktu widzenia eliminacji potencjalnej oporności na leczenie. Przykład doboru leczenia na drodze terapii ukierunkowanej wyjaśniono na podstawie sposobu doboru leczenia przewlekłej białaczki mielocytowej (CML). W chorobie tej obecność mutacji w genie *Bcr-Abl* jest wskazaniem do zastosowania u pacjentów z tą białaczką inhibitora kinaz tyrozynowych – preparatu Glivec. Decyzję o podaniu wspomnianego blokera podejmuje się na podstawie obecności aberracji, ale przed jego zastosowaniem nie sprawdza się, czy to leczenie ma szansę pacjentowi pomóc. W efekcie zdarza się, że z powodu niejednokrotnie niestandardowej odpowiedzi u części chorych, dobór leczenia w tej formie nie musi korelować z sukcesem terapeutycznym leczenia pacjenta. Natomiast może wpłynąć na ogólne jego osłabienie z powodu zastosowanej chemioterapii. **Nadal bowiem spotkać będzie można grupę pacjentów, którzy z powodów losowych odpowiedzą na terapię i grupę pacjentów, którzy będą na tę terapię oporni.** Różnice w odpowiedzi

pacjentów mogą być wynikiem zmian osobniczych w przekaźnictwie sygnałów wewnątrzkomórkowych spowodowanych np. uwarunkowaniami genetycznymi lub epigenetycznymi. Okazuje się, że wpływ na odpowiedź chorych na leczenie może mieć nawet dieta. Poziom wiedzy, którym dysponujemy obecnie, umożliwia opracowanie testów, które mogą podnieść efektywność terapii anty-nowotworowej *in vivo*, lecz nie wyeliminują oporności spowodowanej zmianami osobniczymi występującymi u niewielkiego odsetka chorych, reagujących na leczenie w sposób niestandardowy.

Jest to szczególnie ważne w przypadku wykluczenia potencjalnej oporności komórek na fludarabinę. Dane literaturowe wskazują, że oporność pacjentów na fludarabinę zwiększa prawdopodobieństwo ich oporności na aplikację w kolejnym cyklu chemioterapii inną pochodną purynową. W artykule przedstawiono również bariery, które należy pokonać aby zastosować w klinikach personalizację terapii, przed podaniem leku(ów) pacjentowi w klinice. Sprawdzenie *in vitro* wrażliwości komórek pacjenta z PBL na związki anty-nowotworowe może być pomocne w wyborze optymalnego sposobu leczenia anty-nowotworowego, a z pewnością ograniczy podanie pacjentowi leku(ów), na które nie odpowie.

3. Góralski P*, Rogalińska M*, Błoński JZ, Pytel E, Robak T, Kiliańska ZM, Piekarski H. The differences in thermal profiles between normal and leukemic cells exposed to anticancer drug evaluated by differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2014, 118: 1339-1344

(*równy udział dwóch pierwszych autorów w badaniach eksperymentalnych)

Głównym celem pracy było porównanie profili termicznych jąder komórkowych komórek PBMCs pacjentów z PBL inkubowanych z lekami anty-nowotworowymi, tj. kladrybiną (C) i fludarabiną (F) oraz ich kombinacją z mafosfamidem (CM; FM), a także kombinacją kladrybiny, mafosfamidu i przeciwciała monoklonalnego – rituksimabu (RCM), wykorzystując technikę różnicowej kalorymetrii skaningowej.

Ponadto przeprowadzono inkubacje prawidłowych komórek PBMCs izolowanych z krwi zdrowych dawców z analogicznymi dawkami kombinacji leków: CM, FM oraz RCM. W lizatach komórek prawidłowych i komórek białaczkowych otrzymanych po 48-godzinnej ekspozycji na leki anty-nowotworowe określono także ekspresję/proteolityczną degradację markera apoptozy – białka PARP-1.

Opublikowane wcześniej przez nasz zespół wyniki [2005, 2009] wykazały obecność przejścia fazowego w zakresie temperatur $95\pm 5^{\circ}\text{C}$ w większości preparatów

frakcji jądrowej komórek białaczkowych (92,2%), wydzielonych z krwi obwodowej pacjentów z agresywną postacią PBL. Po ekspozycji białaczkowych PBMCs z lekami obserwowano różnice w intensywności spadku przejścia fazowego w temperaturze $95\pm 5^{\circ}\text{C}$. Natomiast w profilach frakcji jądrowej zdrowych dawców nie odnotowano obecności dodatkowego przejścia fazowego. Nowością w przedstawianej publikacji była obserwacja wskazująca, że **inkubacja komórek prawidłowych z związkami anty-nowotworowymi w zasadzie nie zmienia przebiegów profili termicznych, co wskazuje że obecność tego przejścia fazowego w zaawansowanych stadiach choroby wydaje się być wskaźnikiem klinicznym, a jego obniżenie lub zanik, spowodowany jest zmianami w konformacji chromatyny towarzyszącymi przebiegowi apoptozy.**

To z kolei może być cenne w przewidywaniu efektu terapeutycznego działania leków. Zmianom w profilach termicznych frakcji jądrowej komórek białaczkowych, eksponowanych na leki, towarzyszyło obniżenie przeżywalności komórek oraz wzrost odsetka komórek apoptotycznych. W lizatach białaczkowych PBMCs inkubowanych 48 godz. z lekami antynowotworowymi obserwowano zmiany ekspresji/proteolizy przede wszystkim polimerazy poli(ADP-rybozy) - 1.

W komórkach PBMC prawidłowych, wydzielonych z krwi obwodowej honorowych krwiodawców po ich inkubacji z związkami antynowotworowymi nie obserwowano znacznego spadku przeżywalności komórek z badanymi kombinacjami leków. Natomiast analizy ekspresji białka zaangażowanego w naprawę uszkodzeń DNA - PARP-1 wykazały śladową ekspresję tego polipeptydu w komórkach prawidłowych zarówno przed, jak i po ich ekspozycji ze związkami anty-nowotworowymi. Wzrost ekspresji tego enzymu obserwowano w analizowanych preparatach białaczkowych w przypadku braku reakcji na działanie leków *in vitro*. Na podkreślenie zasługuje, że w przypadku pozytywnej odpowiedzi komórek zmienionych nowotworowo na zastosowane związki anty-nowotworowe dochodziło do proteolitycznego cięcia PARP-1, uznanego markera apoptozy.

4. **Rogalińska M***, Franiak-Pietryga I*, Błoński JZ, Góralski P, Maciejewski H, Janus A, Robak P, Mirowski M, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Toward personalized therapy for chronic lymphocytic leukemia DSC and cDNA microarray assessment of two cases. *Cancer Biology & Therapy* 2013, 14: 1-7.

(*równy udział dwóch pierwszych autorów w badaniach eksperymentalnych)

W pracy 4 przedstawiono wyniki dwóch wybranych chorych na PBL, reagujących odmiennie na terapię anty-nowotworową, tj, brak reakcji na terapię i reakcję pozytywną na terapię kombinacją kladrybiny, cyklofosfamidu (*in vitro* mafosfamidu) oraz przeciwciała monoklonalnego rituksimabu (RCM). Wyniki otrzymano techniką cytometrii przepływowej wykorzystując test Vybrant Apoptosis Assay #4, różnicową kalorymetrię skaningową oraz metodę Western blot. Uzyskane dane zestawiono z wynikami ekspresji 89 genów, związanych z realizacją apoptozy techniką macierzy ekspresyjnych. Rezultaty badań porównywano z danymi klinicznymi pacjenta i obecnością aberracji chromosomalnych [del(13)(q14), trisomii 12, del (11)q22 i del (17) (p13)] określonych techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH).

Komórki jednojądrzaste wybranych pacjentów z PBL inkubowano ze związkami będącymi odpowiednikiem terapii stosowanej *in vivo* w leczeniu pacjentów (kladrybina, cyklofosfamid, rituksimab; RCM). Wyniki przeprowadzonych analiz wykazały przeciwstawną reakcję komórek badanych chorych na eksponowane związki anty-nowotworowe. Odsetek przeżywalności komórek, poziom komórek apoptotycznych korelowały z analizą profili termicznych i ekspresji białek związanych z apoptozą (Mcl-1, Bcl-2, prokaspaza-3, Noxa).

Przeprowadzone analizy wykazały korelację wyników otrzymanych *in vitro* z profilami ekspresji genów związanych z apoptozą. Wyniki porównawcze ekspresji białek uzyskane metodą Western blot oraz analizy ilościowe ekspresji białek z wykorzystaniem macierzy umożliwiły analizę ekspresji genów, związanych z realizacją apoptozy. Odnotowano wysoką ekspresję białka Noxa, zarówno na poziomie genu, jak i białka. Wysoka ekspresja tego proapoptotycznego białka może korelować z pozytywną odpowiedzią na terapię anty-nowotworową. Wzmoczona ekspresja Noxa wydaje się korelować z funkcją pełnioną przez to białko, polegającą na wzajemnych oddziaływaniach z białkami antyapoptotycznymi zlokalizowanymi m.in. w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, co może umożliwić wpływ czynników proapoptotycznych z mitochondriów i promować indukcję apoptozy. Wysoki „wyjściowy” poziom białka Noxa u pacjenta, który odpowiedział na terapię *in vivo* może sugerować korelację jego ekspresji z obniżającym się poziomem inhibitora apoptozy - białka Mcl-1 po inkubacji komórek białaczkowych z lekami. Może to być przyczyną zniesienia inhibicji indukcji apoptozy. Z kolei, u pacjenta opornego na terapię, w jego komórkach PBMC obserwowano niski poziom ekspresji białka Noxa, z kolei równoległe wyniki wykazały wysoki poziom ekspresji białek

antyapoptotycznych, tj., Bcl-2, Mcl-1, co może być jednym z czynników wpływających na ogólny efekt braku odpowiedzi na leczenie.

5. Rogalińska M, Kilianska ZM. Targeting Bcl-2 in CLL. Current Medicinal Chemistry 2012, 19: 5109-5115.

W przebiegu przewlekłej białaczki limfocytowej obserwuje się podwyższony poziom białek antyapoptotycznych, głównie Bcl-2 i Mcl-1. Nowym podejściem terapeutycznym stosowanym w projektowaniu leków anti-nowotworowych jest konstruowanie inhibitorów obniżających ekspresję genu lub wpływających na zaburzenia konformacyjne kodowanego białka mające na celu zablokowanie lub zniesienie jego funkcji. W **artykule 5** dokonano przeglądu związków, które mogą być stosowane (także w kombinacjach ze stosowanymi lekami) w terapii pacjentów z PBL. Są to związki o różnym mechanizmie oraz miejscu działania.

W celu uzyskania poprawy efektu terapeutycznego stosowanych obecnie w leczeniu chemioterapeutyków i immunoterapeutyków w testach przedklinicznych i klinicznych znajduje się wiele cząsteczek o naturze inhibitorów enzymów. Zwykle związki te cechuje zdolność blokowania funkcji enzymów, zaangażowanych w przemiany biochemiczne związane z metabolizmem.

W pracy przeglądowej nr 5 nacisk położono na grupę czynników skierowanych przeciwko działaniu anti-nowotworowemu białka Bcl-2, tj. krótkim anty-sensownym oligonukleotydów oraz niewielkim cząsteczkom wykazującym powinowactwo do tzw. domeny BH3 białka Bcl-2. Przyłączając się do tej domeny białka Bcl-2, uniemożliwiają tworzenie kompleksów z białkami proapoptotycznymi, prowadząc do blokowania jego antyapoptotycznej funkcji. Zablokowana cząsteczka Bcl-2 nie wchodzi w interakcję z np. białkiem Bax, co zaburza stosunek białek pro- do anty-apoptotycznych i może stymulować indukcję apoptozy.

Kolejną grupą związków stanowią niskocząsteczkowe mikroRNA (miRNA), które są negatywnymi regulatorami ekspresji genów *Bcl-2* i *Mcl-1* na poziomie potranskrypcyjnym (np. miRNA-15a i miRNA-16-1).

Zaproponowane dotychczas podejścia w blokowaniu inhibitorów apoptozy związków o działaniu wielokierunkowym mogą stać się w przyszłości potencjalnymi lekami stosowanymi w poszukiwaniach najefektywniejszego sposobu leczenia dla pacjenta.

6. **Rogalinska M**, Goralski P, Wozniak K, Bednarek JD, Blonski JZ, Robak T, Piekarski H, Hanausek M, Walaszek Z, Kilianska ZM. Calorimetric study as a potential test for choosing treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia Research* 2009, 33: 308-314.

W wydanej w 2005 r. pracy eksperymentalnej naszego zespołu badawczego (Leukemia and Lymphoma) przedstawiono wyniki badań wskazujące na pojawianie się dodatkowego przejścia fazowego w termogramach frakcji jąder komórkowych komórek białaczkowych w temperaturze $95\pm 3^{\circ}\text{C}$, w zaawansowanym stadium tego nowotworu. Obserwacja ta skłoniła do dalszych poszukiwań obecności dodatkowego przejścia fazowego w preparatach pacjentów z PBL przed włączeniem leczenia anty-nowotworowego. Ponadto, w kolejnym etapie badań określono wpływ leków anty-nowotworowych na przebieg profili termicznych frakcji jądrowej, wydzielonej z komórek białaczkowych po ich inkubacji ze związkami anty-nowotworowymi.

W toku doświadczeń oceniano wpływ *in vitro* i *in vivo* kombinacji leków, tj. kladrybiny lub fludarabiny z cyklofosfamidem (aktywną postacią *in vitro* – mafosfamidem) na komórki PBL eksponowane na te kombinacje związków anty-nowotworowych, poprzez śledzenie zmian w profilach termicznych, uzyskanych metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej przed leczeniem, po dobie, po 1. cyklu terapii i 2 tygodnie po zakończonym cyklu terapii pacjenta. Przeprowadzono także ocenę cytotoksyczności stosowanych związków anty-nowotworowych wykorzystując test kometowy (ang. comet assay). **Otrzymane wyniki wykazały, że zwiększonej wrażliwości komórek PBL na stosowane leki towarzyszył zwykle spadek lub nawet zanik przejścia fazowego w zakresie temperatur $95\pm 3^{\circ}\text{C}$, duża redukcja przeżywalności komórek, wzrost uszkodzeń DNA oraz obniżenie ekspresji białek antyapoptotycznych Bcl-2 i Mcl-1.**

Podsumowanie

Celem realizowanych badań było porównanie zdolności do indukcji apoptozy komórek białaczkowych PBL traktowanych *in vitro* kombinacjami analogów puryn: kladrybiny lub fludarabiny w kombinacji z alkilatorem – mafosfamidem (aktywną metabolicznie postacią cyklofosfamidu), i/lub *R*-roskowitzyną.

Najważniejszym wątkiem realizowanych badań była ocena porównawcza aktywności biologicznej *in vivo* i *in vitro* leków anty-nowotworowych: kladrybiny, cyklofosfamidu/mafosfamidu, a także ich kombinacji z przeciwciałem monoklonalnym

– rituksimabem. W komórkach PBL eksponowanych na leki anty-nowotworowe, w porównaniu z komórkami odnośnikowymi, przeprowadzono cytometryczne analizy przeżywalności/poziomu apoptozy za pomocą testu Vybrant Apoptosis Assay #4. Uzyskane wyniki porównywano z profilami termicznymi frakcji jądrowej, wydzielonej z komórek PBL kontrolnych eksponowanych na leki, uzyskanymi techniką różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz ekspresją/proteolizą kilku białek związanych z przebiegiem apoptozy, (głównie PARP-1).

Wykonane analizy wchodzące w skład proponowanego testu *in vitro* w kierunku personalizacji terapii pacjentów z CLL potwierdziły istnienie korelacji otrzymanych wyników *in vitro* z odpowiedzią pacjentów na leczenie *in vivo*.

Wyniki prezentowanych badań wskazują, że wybór efektywnego działającego leku dla pacjenta przed jego podaniem, niewątpliwie ma szansę poprawić efekt terapeutyczny leczenia anty-białaczkowego, wyeliminować ewentualną oporność na leczenie, a także przyczynić się do obniżenia kosztów leczenia pacjentów, skrócenia czasu hospitalizacji i podwyższenia współczynnika sukcesu leczenia konkretnego pacjenta.

Wnioski

- Odpowiedź pacjenta z PBL oznaczana w klinice hematologii najczęściej po 6 cyklach leczenia anty-nowotworowego oraz wynik analiz *in vitro* wrażliwości komórek na związki anty-nowotworowe oznaczane przed włączeniem leczenia są zwykle zbieżne. Wyniki te nie muszą korelować z istniejącymi aberracjami chromosomalnymi.
- Zbiorcze analizy testów przeprowadzonych z wykorzystaniem cytometrii przepływowej (Vybrant Apoptosis Assay #4), różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz Western blot, przed podaniem pacjentowi terapii anty-nowotworowej wskazują potencjalną oporność komórek pacjenta na związki anty-nowotworowe, co z wysoką zgodnością statystyczną przekładało się na wynik leczenia pacjentów *in vivo*.
- Inkubacja komórek prawidłowych z związkami anty-nowotworowymi nie zmienia zasadniczo przebiegów profili termicznych. Pojawiające się przejście fazowe obserwowane w zaawansowanych stadiach choroby może być wskaźnikiem klinicznym, a jego obniżenie lub zanik spowodowane jest zmianami w konformacji chromatyny towarzyszącymi przebiegowi apoptozy.
- Przeprowadzone analizy wykazały istnienie korelacji wyników otrzymanych *in vitro* z profilami ekspresji genów związanych z apoptozą otrzymanymi za pomocą macierzy ekspresyjnych (np. Noxa).
- Wrażliwość na stosowane leki towarzyszy spadkowi lub nawet zanikowi przejścia fazowego w zakresie temperatur $95\pm 3^{\circ}\text{C}$, znacznej redukcji przeżywalności komórek oraz zwiększonemu uszkodzeniu DNA mierzonemu metodą kometową oraz obniżeniu ekspresji białek anty-apoptotycznych (Bcl-2 i Mcl-1).

Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze

Rozprawa doktorska

Praca doktorska wykonana została w ramach Stacjonarnego Studium Doktoranckiego Biochemiczno-Biofizycznego przy Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego, pod kierunkiem Prof. dr hab. Zofii Marii Kiliańskiej.

W rozprawie określono m.in. odrębność molekularną białek jądrowych komórek PBMC krwi zdrowych dawców i pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową.

W badaniach odrębności molekularnej białek jądrowych komórek białaczkowych i prawidłowych wykorzystano techniki elektroforezy jedno- i dwuwymiarowej w żelu poliakrylamidowym z SDS, metodę Western blot i test immunoenzymatyczny ELISA.

Wyniki przeprowadzonych analiz elektroforetycznych białek frakcji jądrowej komórek białaczkowych PBMC w porównaniu z odnośnikowymi preparatami prawidłowymi wykazały obecność wielu wspólnych składników frakcji jądrowej komórek białaczkowych i kontrolnych. Analiza elektroferogramów wykazała także obecność polipeptydów, których poziom ekspresji zmieniał się wraz ze stadium zaawansowania choroby. W preparatach frakcji jądrowej wydzielonej z komórek białaczkowych obserwowano obecność dwóch białek o m.c. 38/39 i 44/46 kDa, których ekspresję stwierdzono wyłącznie w komórkach ulegających transformacji nowotworowej. Uzyskane wyniki analiz elektroforetycznych oraz wykorzystujące technikę Western blot wykazały, że poziom ekspresji tych białek wzrastał wraz z zaawansowaniem klinicznym przewlekłej białaczki limfocytowej (**prace 9, 13 i 15**).

Obecność antygenów p38/39 i p44/46 stwierdzono w większości analizowanych preparatów frakcji jądrowej komórek białaczkowych, tj. odpowiednio w 40 z 42 (95,23%) i 46 z 49 (93,87%), wobec ich braku w 11 preparatach kontrolnych. Wyznaczono punkty izoelektryczne (pI) dla tych nowotworowo-specyficznych polipeptydów, wykorzystując kompilację techniki elektroforezy dwuwymiarowej wg O'Farella, z immunodetekcją antygenów w obecności surowic odpornościowych anty-p38/39 i anty-p44/46. Dla Antygeny p38/39 wyznaczono punkt izoelektryczny w żelach w zakresie pH 6,55–7,00, natomiast dla p44/46 — w pH 6,20–6,40 (**praca 14**).

Dokonano oceny skuteczności indukcji apoptozy w komórkach białaczkowych pacjentów poddanych terapii 2-chlorodeoksyadenozyną bądź jej kombinacją ze

związkiem alkilującym (cyklofosfamidem) i syntetycznym antybiotykiem antracyklinowym (mitoksantronem).

Kolejny etap pracy dotyczył biochemicznej oceny indukcji procesu apoptozy komórek białaczkowych przez 2-chlorodeoksyadenozynę stosowaną w monoterapii, bądź w kombinacji z innymi lekami u chorych, wcześniej nie leczonych. W realizacji tego zadania zastosowano technikę Western blot. Przeprowadzono analizy porównawcze poziomu ekspresji białek przed leczeniem (0), po dobie od włączenia 1 cyklu leczenia, po 1. cyklu leczenia oraz 2 tygodnie po leczeniu. Przeprowadzono także ilościową ocenę ekspresji tych antygenów wykorzystując test ELISA. Wyniki otrzymane testem ELISA potwierdziły odpowiednio 5- i 9-krotnie wyższą immunoreaktywność surowic odpornościowych anty-p38/39 i anty-p44/46 w rozpoznawaniu antygenów obecnych w preparatach frakcji jądrowej komórek białaczkowych w porównaniu z preparatami kontrolnymi.

Przeprowadzono detekcję ekspresji białek związanych z apoptozą, tj. białka Bcl-2, laminy B, polimerazy (poli-ADP) rybozy i prokaspazy-3. Badania te prowadzono w homogenatach, frakcji jądrowej i frakcji postjądrowej komórek PBMC wydzielonych z krwi obwodowej pacjentów poddanych terapii monolekowej (2-CdA; C), dwulekowej (2-CdA z cyklofosfamidem; CC) oraz trójlekowej (2-CdA z mitoksantronem i cyklofosfamidem; CMC). Przeprowadzone analizy porównawcze ekspresji białek przed leczeniem, i po 1., 3. i 17. Dobie od podania leków wykazały zmiany w poziomie ekspresji/proteolizy badanych białek związanych z apoptozą (lamina B, PARP-1 i prokaspaza-3) w komórkach białaczkowych pacjentów z PBL poddanych w/w leczeniu. Uzyskane w czasie wykonywania pracy doktorskiej wyniki sugerują, że najwyższą skuteczność w indukcji apoptozy komórek białaczkowych *in vivo* wykazywała terapia trójlekowa (2-chlorodeoksyadenozyna + cyklofosamid + mitoksantron; CMC).

W ramach przeprowadzonych badań wysnuto następujące wnioski:

- Białka jądrowe komórek PBMC ludzi zdrowych i pacjentów z przewlekłą białaczką limfatyczną B-komórkową cechuje odrębność molekularna;
- Poziom ekspresji niektórych białek jądrowych w komórkach białaczkowych wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania klinicznego białaczki;

- W komórkach PBMC pacjentów z PBL leczonych analogiem purynowym 2-chlorodeoksyadenozyną samodzielnie (C), bądź w kombinacji z cyklofosfamidem (CC) lub mitoksantronem i cyklofosfamidem (CMC) dochodzi do indukcji apoptozy w tych komórkach potwierdzony spadkiem poziomu ekspresji białka antyapoptotycznego Bcl-2 oraz zmianami ekspresji/degradacją proteolityczną uznanych markerów apoptozy, tj. laminy B, PARP-1 oraz kaspazy-3.;
- Najwyższą skuteczność w indukcji apoptozy *in vivo* w komórkach PBMC chorych z PBL wykazuje terapia trójlekowa – CMC (2-chlorodeoksyadenozyna + mitoksantron + cyklofosfamid).

Praca naukowa po uzyskaniu stopnia doktora

Ważnym wnioskiem uzyskanym jako posumowanie badań eksperymentalnych podczas realizacji pracy doktorskiej było wykazanie zdolności do zróżnicowanego stopnia indukcji apoptozy komórek PBL pod wpływem działania związków antynowotworowych (kladrybiny, kombinacji CC i CMC) (**praca 12**). Po wykonaniu pracy doktorskiej badania frakcji jądrowej pacjentów z przewlekłą białaczką rozszerzono o analizy profili termicznych jąder komórek PBMC za pomocą metody różnicowej kalorymetrii skaningowej (**praca 10**). Inkubacje komórek PBL z lekami antynowotworowymi prowadzono 48 h. Oceniano przeżywalność i poziom apoptozy oraz przeprowadzono immunodetekcję białek zaangażowanych w realizację apoptozy metodą Western blot, prowadzono analizy termiczne frakcji jądrowej komórek białaczkowych izolowanych z krwi pacjentów z różnym stopniu zaawansowania PBL z odnośnikowymi preparatami kontrolnymi. Przeprowadzone analizy potwierdziły potencjalną przydatność tych technik do oceny potencjału indukcji apoptozy w analizowanych komórkach (**praca 7 i 11**). Do kolejnych etapów badań włączono ocenę cytotoksyczności leków, stosowanych w klinikach hematologicznych, po inkubacji komórek białaczkowych i prawidłowych w ich obecności. Część badań nad efektywnością terapii antynowotworowej realizowana była w ramach współpracy dwustronnej z Austrią, z laboratorium Prof. J. Wesierskiej-Gadek (**praca 8**).

Wyniki przeprowadzonych kilkuletnich doświadczeń stały się podstawą do aplikowania do Narodowego Centrum Nauki o finansowanie badań, które miały na celu opracowanie testu(ów) wykazującego zastosowanie aplikacyjne wskazujące na

wrażliwość/oporność komórek nowotworowych na stosowane w leczeniu, bądź eksperymentalne związki anty-nowotworowe.

W latach 2012-2013 realizowano projekt badawczy (No. 2011/01/B/NZ4/01702), którego głównym celem była analiza potencjału indukcji apoptozy w komórkach białaczkowych traktowanych *in vitro* kombinacjami analogów puryn: kladrybiny lub fludarabiny w kombinacji z alkilatorem – mafosfamidem (aktywną metabolicznie postacią cyklofosfamidu). Do badań stosowano PBMC wydzielone z krwi obwodowej pacjentów dotychczas nie leczonych. Komórki białaczkowe inkubowano przez 48 godz. ze związkami anty-nowotworowymi oraz bez dodatku leków (kontrola). Analizowano przeżywalność komórek PBL, poziom apoptozy, zmiany w profilach termicznych za pomocą metody różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz głównie ekspresję markera apoptozy - białka PARP-1.

Po otrzymaniu wyników monitoringu pacjentów z Kliniki Hematologii, UM w Łodzi (stadium zaawansowania choroby, danych dotyczących sposobu leczenia oraz odpowiedzi na zastosowaną terapię, oznaczanych zwykle po ok. 6 miesiącach od początku leczenia) dane kliniczne porównywano z wynikami otrzymanymi *in vitro*.

W próbkach krwi otrzymanych z Kliniki Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi porównywano aktywność biologiczną *in vitro* leków anty-nowotworowych kladrybiny (C) bądź fludarabiny (F), w kombinacji z mafosfamidem (CM; FM), a także kombinacji CM z przeciwciałem monoklonalnym – rituksimabem (RCM), stosowanych w leczeniu pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową. Badania te w zależności od dostępności materiału do badań (leukocytoza pacjenta) rozszerzano o inne związki antynowotworowe, które mogą posiadać potencjał anty-nowotworowy. W komórkach białaczkowych ekspozowanych na leki anty-nowotworowe, porównuje się wpływ związków anty-nowotworowych (np. CM, FM, RCM), stosowane w leczeniu PBL, z efektem indukcji apoptozy nowych związków o potencjale anty-nowotworowym na zmiany struktury chromatyny frakcji jąder komórkowych wykorzystując technikę różnicowej kalorymetrii skaningowej, natomiast w lizatach komórkowych prowadzono analizy ekspresji/proteolizy kilku białek związanych z przebiegiem apoptozy.

Analizy wykonane w ramach grantu na realizację tematu personalizacji terapii zostały wykonane w ramach współpracy z Kliniką Hematologii, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Katedrą Chemii Fizycznej, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Łódzkiego, Katedrą Termobiologii, Wydziału BiOŚ, UŁ oraz w aspekcie testowania

nowych związków o potencjale anti-nowotworowym z Prof. Barciszewskim z Instytutu Amin Biogennych, Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Po wykonaniu zadań zaplanowanych w projekcie badania są kontynuowane w kierunku testowania potencjału apoptotycznego leków anti-nowotworowych stosowanych w terapii pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową oraz poszukiwania nowych związków, które nie są w chwili obecnej lekami zarejestrowanymi w leczeniu tej choroby, ale mogą wykazać swą potencjalną aktywność u konkretnego pacjenta (np. rybozyd kinetyny, sialilowa pochodna rybozydu kinetyny (związki otrzymane od Prof. Barciszewskiego z Poznania), kurkumina, graviola).

Podczas realizacji grantu powstało 5 artykułów (w tym 3 eksperymentalne oparte na wynikach z przeprowadzonych doświadczeń związanych z personalizacją terapii PBL oraz 2 prace przeglądowe).

Reasumując na dorobek naukowy składa się:

19 prac naukowych w czym:

15 prac eksperymentalnych,

2 prace przeglądowe,

2 rozdziały/monografie w książkach

oraz ponad 40 doniesień w formie plakatów prezentowanych na konferencjach krajowych oraz zagranicznych.

Lista publikacji/The list of publication

1. **Rogalińska M**, Błoński JZ, Góralski P, Wawrzyniak E, Hartman M, Rogalska A, Robak P, Koceva-Chyła A, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Relationship between in vitro drug sensitivity and clinical response of patients to treatment in chronic lymphocytic leukemia. *International Journal of Oncology* 2015, 46: 1259-1267.
IF = **3,025** (punkty MNiSW/ MSHE points **25**)
2. **Rogalińska M**, Kiliańska ZM. Personalized therapy versus targeted therapy, differences in the meaning. *Global Journal for Research Analysis* 2015, 4: No1, 5-8.
IF = **1,5408**
3. Góralski P, **Rogalińska M**, Błoński JZ, Pytel E, Robak T, Kiliańska ZM, Piekarski H. The differences in thermal profiles between normal and leukemic cells exposed to anticancer drug evaluated by differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2014, 118: 1339-1344.
IF = **2,206** (punkty MNiSW/ MSHE points **20**)
4. **Rogalińska M**, Franiak-Pietryga I, Błoński JZ, Góralski P, Maciejewski H, Janus A, Robak P, Mirowski M, Piekarski H, Robak T, Kiliańska ZM. Toward personalized therapy for chronic lymphocytic leukemia DSC and cDNA microarray assessment of two cases. *Cancer Biology & Therapy* 2013, 14: 1-7.
IF = **3,287** (punkty MNiSW/ MSHE points **30**)
5. Żolnierczyk JD, Borowiak A, Błoński JZ, Cebula-Obrzut B, **Rogalińska M**, Kotkowska A, Wawrzyniak E, Smolewski P, Robak T, Kiliańska ZM. In vivo and ex vivo responses of CLL cells to purine analogs combined with alkylating agent. *Pharmacological Reports* 2013; 65: 460-75.
IF = **2,165** (punkty MNiSW/ MSHE points **25**).
6. **Rogalińska M**, Kiliańska ZM. Targeting Bcl-2 in CLL. *Current Medicinal Chemistry* 2012, 19: 5109-5115.
IF = **4,07** (punkty MNiSW/ MSHE points **40**)
7. **Rogalińska M.**, Błoński J. Z., Komina O., Góralski P., Żolnierczyk J.D., Piekarski H., Robak T., Kiliańska ZM, Wesierska-Gądek J. R-roscovitine (Seliciclib) affects CLL cells more strongly than combinations of fludarabine or cladribine with cyclophosphamide: inhibition of CDK7 sensitizes leukemic cells to caspase-dependent apoptosis. *Journal of Cellular Biochemistry* 2010, 109: 217-235.
IF = **3,36** (punkty MNiSW/ MSHE points **35**)
8. **Rogalińska M**, Góralski P, Wozniak K, Bednarek JD, Błoński JZ, Robak T, Piekarski H, Hanausek M, Walaszek Z, Kiliańska ZM. Calorimetric study as a potential test for choosing treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia Research* 2009, 33: 308-314.

IF= **2,69** (punkty MNiSW/ MSHE points **25**)

9. **Rogalińska M**, Błoński JZ, Robak T, Kiliańska ZM; B-cell chronic lymphocytic leukemia – associated nuclear antigens. *Folia Biologica et Oecologica* 2008, 4: 25-35.

(punkty MNiSW 1).

10. **Rogalińska M**, Góralski P, Kobylińska A, Błoński JZ, Hanausek M, Wałaszek Z, Piekarski H, Robak. T, Kiliańska ZM. Changes in leukemic cell nuclei revealed by differential scanning calorimetry. *Leukemia & Lymphoma* 2005, 46: 121-128.

IF = **1,295** (punkty MNiSW/ MSHE points **25**).

11. Smolewski P, Szmigielska-Kapłon A, Cebula B, Jamroziak K, **Rogalińska M**, Kiliańska Z, Robak T. Proapoptotic activity of alemtuzumab alone and in combination with rituximab or purine nucleoside analogues in chronic lymphocytic leukemia cells. *Leukemia & Lymphoma* 2005, 46: 87-100.

IF= **2,605** (punkty MNiSW/ MSHE points **25**).

12. **Rogalińska M**, Błoński JZ, Hanausek M, Wałaszek Z, Robak T, Kiliańska ZM. 2-Chlorodeoxyadenosine alone and in combination with cyclophosphamide and mitoxantrone induce apoptosis in B chronic lymphocytic leukemia cells in vivo . *Cancer Detection and Prevention* 2004, 28: 433-442.

IF = **1,408** (punkty MNiSW/ MSHE points **15**).

13. Kiliańska, ZM; Chruściel, J; Niewiadomska, H; Błoński J, **Rogalińska M**, Błaszczuk A, Robak T. Altered expression of nuclear non-histone protein (P44/46) in different stages of B-chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia & Lymphoma* 2001, 41: 635-42.

IF = **2,605** (punkty MNiSW/ MSHE points **25**).

14. **Rogalińska**, M; Błoński, J; Robak, T; Kiliańska ZM. Enzyme-linked immunosorbent assay in screening of leukemia-associated nuclear proteins. *Cellular & Molecular Biology Letters* 2001, 6: 637-648.

IF = **0,857** (punkty MNiSW/ MSHE points **15**).

15. **Rogalińska M**; Błoński, J; Robak, T, Kiliańska ZM. Two-dimensional gel electrophoresis of nuclear proteins of different stages of B-chronic lymphocytic leukaemia. *Cytobios* 2001, 106: 101-112.

IF = **0,353** (punkty MNiSW/ MSHE points **6**).

Artykuły przeglądowe/Reviews

16. **Rogalińska M**, Kilińska ZM. Potential new agents for chronic lymphocytic leukemia treatment. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2012, 10: 666-682.

IF = **2,61** (punkty MNiSW/ MSHE points **30**).

17. **Rogalińska M**. Alterations in cell nuclei during apoptosis. *Cellular & Molecular Biology Letters* 2002, 7: 995-1018.

IF = **0,651** (punkty MNiSW/ MSHE points **15**).

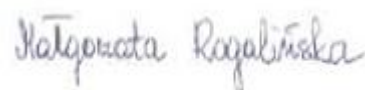
Monografie, rozdziały w książce/Monographs, chapters in the book

18. **Rogalińska M**, Kiliańska ZM. Nuclear proteins specifically-expressed in B-CLL cells. Rozdział w książce: Protein modules in cellular signaling. Book Series: NATO Science Series: Life Science, Edited by: Heilmeyer, L; Friedrich, vol.: 318, 182-191, 2001.
19. Żołnierczyk JD, Borowiak A, Cebula-Obrzut B, **Rogalińska M**, Kotkowska A, Wawrzyniak E, Smolewski P, Robak T, Kiliańska ZM. In vitro and ex vivo responses of leukemic cells to cladribine or fludarabine combined with cyclophosphamide. LAP Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, 1-53, 2014. ISBN: 987-3-659-11163-1.

Całkowity dorobek naukowy/ the total academic achievement:

IF= 34,7278

Punkty MNiSW/ MSHE points = 357



.....
podpis habilitanta (signature)

Małgorzata Rogalińska

Wykaz opublikowanych prac naukowych nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oraz twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki

Prace opublikowane w czasopismach nie wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

7. Żołnierczyk JD, Borowiak A, Błoński JZ, Cebula-Obrzut B, **Rogalińska M**, Kotkowska A, Wawrzyniak E, Smolewski P, Robak T, Kiliańska ZM. In vivo and ex vivo responses of CLL cells to purine analogs combined with alkylating agent. *Pharmacological Reports* 2013; 65: 460-75.

IF = 2,165 (punkty MNiSW 25).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na oznaczeniu techniką Western blot ekspresji polimerazy poly(ADP)-rybozy. Eksperymenty polegały na izolacji komórek białaczkowych z krwi chorych po terapii *in vivo* CC i FC; przygotowaniu homogenatów oraz preparatów frakcji jądrowej do analiz; oznaczeniu stężenie białek met. Lowryego i wsp.; przeprowadzeniu analiz ekspresji białka PAPR-1.

Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **10 %**.

8. Rogalińska M., Błoński J. Z., Komina O., Góralski P., Żołnierczyk J.D., Piekarski H., Robak T., Kiliańska ZM., Wesierska-Gądek J. R-roscovitine (Seliciclib) affects CLL cells more strongly than combinations of fludarabine or cladribine with cyclophosphamide: inhibition of CDK7 sensitizes leukemic cells to caspase-dependent apoptosis. *Journal of Cellular Biochemistry* 2010, 109: 217-235.

IF = 3,36 (punkty MNiSW **35**) Liczba cytowań wg Web of Science 18

Indywidualny wkład: 43%

Wykonanie lub koordynowanie wykonania:

- inkubacji komórek białaczkowych z kombinacjami leków stosowanych w leczeniu PBL, tj. kladrybiną z cyklofosfamidem/mafosfamidem, fludarabiną z cyklofosfamidem/mafosfamidem (CC/CM, FC/FM) oraz analogiem purynowym - R-roscowityną
- ocena przeżycia komórek/poziomu apoptozy/nekrozy w hodowlach komórek przed inkubacją z lekami (czas 0h), oraz po 24 i 48 godz. ekspozycji z związkami anty-nowotworowymi testem Vybrant Apoptosis Assay #4;
- oznaczeń aktywności kaspazy-3 i -9 w medium hodowlanym po 48 godz. inkubacji komórek białaczkowych z lekami anty-nowotworowymi oraz R-roscowityny,

- izolacji frakcji jądrowej komórek białaczkowych po inkubacji z lekami;
- lizy komórek po inkubacji z lekami,
- oznaczanie stężenia białek met. Lowry'ego i wsp.,
- analiz ekspresji białek związanych z apoptozą: PAPR-1, Mcl-1, Bcl-2, kaspazy-3 metodą Western blot.

Analiza otrzymanych wyników za pomocą programu Exel oraz GraphPad Prism 5. Przygotowanie rycin nr 1 i 2 i 4, tabeli I oraz II oraz wyników ekspresji białka PARP-1 oraz prokaspazy-8 (część A na rysunku 7). Udział w pisaniu pierwszej wersji manuskryptu.

- 9. Rogalińska M**, Błoński JZ, Robak T, Kiliańska ZM; B-cell chronic lymphocytic leukemia – associated nuclear antigens. *Folia Biologica et Oecologica* 2008, 4: 25-35.

(punkty MNiSW 1).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu eksperymentów z wykorzystaniem elektroforezy 2DE oraz Western blotting analiz ekspresji białek frakcji jądrowej komórek białaczkowych i prawidłowych. Wyznaczyłam punkty izoelektryczne dla białek p38/39 i p44/46. Przygotowałam wyniki do publikacji.

Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **60 %**.

- 10. Rogalińska M**, Góralski P, Kobylńska A, Błoński JZ, Hanausek M, Wałaszek Z, Piekarski H, Robak. T, Kiliańska ZM. Changes in leukemic cell nuclei revealed by differential scanning calorimetry. *Leukemia & Lymphoma* 2005, 46: 121-128.

IF = 1,295 (punkty MNiSW 25).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na przygotowaniu preparatów frakcji jądrowej do analiz metodą DSC, analiz z wykorzystaniem technik elektroforetycznych (udział w przygotowaniu kilku preparatów do analiz z wykorzystaniem metody kometowej) oraz Western blotting ekspresji białek związanych z apoptozą (Bcl-2). Przygotowaniu wyników do publikacji. Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **55 %**.

- 11. Smolewski P**, Szmigielska-Kapłon A, Cebula B, Jamroziak K, **Rogalińska M**, Kiliańska Z, Robak T. Proapoptotic activity of alemtuzumab alone and in combination with rituximab or purine nucleoside analogues in chronic lymphocytic leukemia cells. *Leukemia & Lymphoma* 2005, 46: 87-100.

IF= 2,605 (punkty MNiSW 25).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na oznaczeniu techniką Western blot ekspresji polimerazy poly(ADP)-rybozy. Przygotowałam lizaty komórek białaczkowych po ich

inkubacji z lekami; oznaczyłam stężenie białek met. Lowryego i wsp.; przeprowadziłam analizy ekspresji białka PAPR-1.

Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **15 %**.

12. Rogalińska M, Błoński JZ, Hanausek M, Wałaszek Z, Robak T, Kiliańska ZM. 2-Chlorodeoxyadenosine alone and in combination with cyclophosphamide and mitoxantrone induce apoptosis in B chronic lymphocytic leukemia cells in vivo . Cancer Detection and Prevention 2004, 28: 433-442.

IF = 1,408 (punkty MNiSW 15).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu eksperymentów, przygotowaniu homogenatów, preparatów frakcji jądrowej, oraz postjądrowej do analiz z wykorzystaniem technik elektroforetycznych oraz Western blotting (białka PARP-1, lamina B, kaspaza-3, Bcl-2). Wykonanie zdjęcia preparatu mikroskopowego dokumentującego przebieg apoptozy. Przygotowaniu wyników do publikacji. Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **55 %**.

13. Kiliańska, ZM; Chruściel, J; Niewiadomska, H; Błoński J, **Rogalińska M**, Błaszczuk A, Robak T. Altered expression of nuclear non-histone protein (P44/46) in different stages of B-chronic lymphocytic leukemia. Leukemia & Lymphoma 2001, 41: 635-642.

IF = 2,605 (punkty MNiSW 25).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu oceny ekspresji białka niehistonowego p44/46 w preparatach homogenatów, frakcji jądrowej oraz postjądrowej z wykorzystaniem technik elektroforetycznych oraz Western blotting. Przygotowaniu wyników do publikacji. Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **20 %**.

14. Rogalińska, M; Błoński, J; Robak, T; Kiliańska ZM. Enzyme-linked immunosorbent assay in screening of leukemia-associated nuclear proteins. Cellular & Molecular Biology Letters 2001, 6: 637-648.

IF = 0,857 (punkty MNiSW 15).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu lub koordynacji wykonania ilościowej oceny ekspresji białek p38/39 i p44/46 w preparatach homogenatów, frakcji jądrowej oraz post-jądrowej z wykorzystaniem techniki ELISA. Przygotowaniu wyników do publikacji. Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **60 %**.

15. Rogalińska M; Bloński, J; Robak, T, Kiliańska ZM. Two-dimensional gel electrophoresis of nuclear proteins of different stages of B-chronic lymphocytic leukaemia. *Cytobios* 2001, 106: 101-112.

IF = 0,353 (punkty MNiSW 6).

Mój wkład w powstanie pracy polegał na wykonaniu analiz ekspresji białek jądrowych w różnym stadium zaawansowania przewlekłej białaczki limfocytowej z wykorzystaniem elektroforezy 2DE i porównaniu ich z odnośnikowymi preparatami prawidłowymi. Przygotowaniu wyników do publikacji.

Mój udział w powstaniu artykułu szacuję na **60 %**.

Najważniejsze abstrakty z konferencji międzynarodowych opublikowane w czasopismach znajdujących się na liście Journal Citation Reports:

- **Rogalińska M,** Góralski P, Bednarek J, Blonski JZ, Wesierska-Gadek J, Piekarski H, Hanausek M, Walaszek Z, Robak T, Kilianska ZM. In vitro studies of nuclear fraction of leukemic cells treated with anticancer drug(s) by thermal technique. *FEBS J* 2007, 274: 151.
- **Rogalinska M;** Blonski, JZ; Robak, T; Kiliańska ZM. Apoptosis induced by cladribine and its combination with other drugs in B-CLL cells. *Blood* 2010, 98: 286-286; ASH Meeting Abstract: 4887.

Artykuły przeglądowe:

16. Rogalińska M, Kilianska ZM. Potential new agents for chronic lymphocytic leukemia treatment. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2012, 10: 666-682.

IF = 2,61 (punkty MNiSW 30).

Mój udział polegał na koncepcji pracy, przygotowaniu przeglądu na podstawie dostępnego piśmiennictwa dotyczącego związków anty-nowotworowych będących w fazie badań klinicznych lub przedklinicznych lub o udokumentowanej aktywności anty-nowotworowej dla przewlekłej białaczki limfocytowej.

Swój udział oceniam na **85%**.

17. Rogalinska M. Alterations in cell nuclei during apoptosis. *Cellular & Molecular Biology Letters* 2002, 7: 995-1018.

IF = 0,651 (punkty MNiSW 15).

Inne osiągnięcia naukowe:

- Udział w NATO/FEBS Advanced Study Institute „Protein modules in cellular signaling” St. Martin-de-Londres, Francja, 13-22.09.2000 r.
- Udział w kursie przygotowującym do pracy eksperymentalnej z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych (grudzień 2000r. – styczeń 2001r.).
- Udział w letnim kursie hodowli komórek zwierzęcych organizowanym przez Zakład Cytologii, Wydział Biologii, Uniwersytetu Warszawskiego, 13-19.06.2005r.
- Udział w programie Copernicus wyemitowanym 10 marca 2012 nt personalizacji terapii w stacji Polsat News.
- Krótkie staże w laboratorium Prof. Wesierskiej, Uniwersytet Medyczny w Wiedniu w ramach współpracy austriacko-polskiej (No. PL-06/2008, 2011/2011) - 15-30.04. 2008; 24.08-3.09. 2008; 1-11.02.2009; 16-24.05.2010;17-27.05.2011.
- Udział w 7th FEBS Young Science Forum oraz FEBS Congress, Wiedeń, Austria, 6-12.07.2007.
- Udział w grupie ekspertów zewnętrznych Delphi Programu Horyzont 2020.

Finansowanie badań:

- Grant młodego badacza na badania na realizację pracy doktorskiej, No. Grantu 6PO5A 01821; kierownik grantu;
- Zastosowanie kalorymetrii skaningowej w badaniach DNA jąder komórkowych limfocytów pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową B-komórkową - badania własne, umowa dwuletnia Uniwersytetu Łódzkiego nr 505/704(2005), 505/714(2006) kierownik zespołu, bez wynagrodzenia;

Projekty badawcze w ramach współpracy dwustronnej austriacko-polskiej (Nr PL-003/2006-2007; PL-06/2008; 2010/2011) – członek zespołu badawczego;

Projekt międzynarodowy niewspółfinansowany; Decyzja Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr 298/N-Austria/2008 – członek zespołu badawczego;

- Wpływ wybranych inhibitorów substancji biologicznie czynnych na efektywność terapii białaczki limfocytowej B-komórkowej – umowa międzynarodowa polsko-austriacka nr 003/2006/2007; członek zespołu;
- Wrażliwość komórek białaczkowych na wybrane czynniki przeciwnowotworowe – umowa międzynarodowa polsko-austriacka nr PL 06/2008; członek zespołu, bez wynagrodzenia;
- Ocena wrażliwości komórek nowotworowych na wybrane czynniki przeciwnowotworowe projekt międzynarodowy niewspółfinansowany objęty decyzją MNiSW 298/N/Austria na lata 2008-2010; członek zespołu;
- Przeciwbiałaczkowa aktywność analogów purynowych i przeciwciał monoklonalnych stosowanych samodzielnie lub w kombinacjach – umowa międzynarodowa o współpracy naukowej z Austrią na lata 2010-2011 nr PL 06/2008; 2010-2011; członek zespołu;
- Grant na badania własne nr 505/430 w 2002r finansowane na Uniwersytecie Łódzkim na badania nad różnicową kalorymetrią skaningową (DSC) – kierownik projektu;
Tytuł projektu: Białka frakcji jądrowej limfocytów pacjentów z przewlekłą białaczką limfatyczną B-komórkową”;
- Grant Opus z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie na badania nad personalizacją terapii leczenia białaczek pt. „Personalizacja leczenia przewlekłej białaczki limfocytowej” w latach 2012-2013 (No. 2011/01/B/NZ4/01702);
- Strategmed II wysłany projekt badawczy przez zespół Prof. Barciszewskiego z Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu pt. Nowe inhibitory metylotransferazy 1 DNA oraz deacetylazy 1 histonów w epigenetycznej terapii przeciwnowotworowej” (udział jako konsorcjum badawcze).

Nagrody i wyróżnienia:

- Zespołowa Ministra Edukacji Narodowej i Sportu w 2005 r. za współautorstwo prac nt.: „Zaburzeń ekspresji genów/białek w wybranych nowotworach człowieka”;
- Wyróżnienie zespołowe „Łódzkie EUREKA” 2005 za badania nad nowymi aspektami molekularnych mechanizmów transformacji nowotworowej;
- Zespołowa Ministra Zdrowia w 2006 r. za cykl publikacji dotyczących badań nad biologią i terapią białaczek;
- Nagroda zespołowa I stopnia Rektora w 2014 r. za cykl publikacji „Mechanizmy transformacji nowotworowej i ich znaczenie w strategiach terapeutycznych”;
- Medal brązowy od Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej za wieloletnią służbę (25.05.2015 r.).

Wystąpienia na Konferencjach, Festiwalach Nauki oraz Towarzystwach

Naukowych:

- V Festiwal Nauki, Techniki i Sztuki, Łódź 2005 „Fabryki energetyczne komórki” – długo nieznanie ich funkcje;
- 41 Zjazd PTBioch Białystok 2006, wystąpienie ustne pt. „Differential scanning calorimetry of nuclei as a manner for study of anticancer drug effect on B-CLL leukemic cells”;
- Inflammation 2010, Inflammatory cell signaling mechanisms as therapeutic target. Luxemburg „Usefulness of differential scanning calorimetry for evaluation of treatment efficacy and development of personalized therapy of chronic lymphocytic leukemia”;
- Łódzki Oddział Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (grudzień 2010r) , wykład pt „Potencjalne zastosowanie techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) w wyborze sposobu leczenia pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową”;

- Łódzki Oddział Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów (styczeń 2011r); wykład pt „Potencjalne zastosowanie techniki różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) w wyborze sposobu leczenia pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową”;
- Piknik naukowy UŁ 2013 r., wystąpienie pt. „Fabryki energetyczne komórki” – długo nieznane ich funkcje;
- Anticancer Drugs Meeting, Stockholm, Sweden, 2013r., wykład pt „Personalized medicine in chronic lymphocytic leukemia”;
- 2nd Central and Eastern European Conference on Thermal Analysis and Calorimetry in Vilnius, Lithuania, 2013r., prezentacja ustna „Differential scanning calorimetry as a useful technique for anti-leukemic treatment selection”.

Udział w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism

Nie dotyczy

Udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych i krajowych konferencji naukowych

Członek Komitetu Organizacyjnego 44 Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, 16-19.09. 2009 r., Łódź.

Udzielone patenty międzynarodowe i krajowe

Nie dotyczy

Wynalazki oraz wzory użytkowe i przemysłowe, które uzyskały ochronę i zostały wystawione na międzynarodowych lub krajowych wystawach i targach

Nie dotyczy

Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie, o której mowa w pkt IIA:

18. **Rogalinska M, Kilianska ZM.** Nuclear proteins specifically-expressed in B-CLL cells. Rozdział w książce: Protein modules in cellular signaling. Book Series: NATO Science Series: Life Science, Edited by: Heilmeyer, L; Friedrich, vol.: 318, 182-191, 2001.

Praca powstała na zaproszenie mnie jako uczestnika szkoły letniej NATO-FEBS Advanced Study Institute, gdzie prezentowałam wyniki dotyczące zmian ekspresji białek w przewlekłej białaczce limfocytowej. Swój udział w rozdziale zawierającym głównie wyniki prezentowane na szkoleniu oceniam na **70%**.

- 19.** Żołnierczyk JD, Borowiak A, Cebula-Obrzut B, **Rogalińska M**, Kotkowska A, Wawrzyniak E, Smolewski P, Robak T, Kiliańska ZM. In vitro and ex vivo responses of leukemic cells to cladribine or fludarabine combined with cyclophosphamide. LAP Lambert Academic Publishing, Saarbrücken, 1-53, 2014. ISBN: 987-3-659-11163-1.

Praca została napisana przez Prof. dr hab. Zofię M. Kiliańską na zaproszenie LAP Lambert Academic Publishing i zawiera m.in. wyniki opublikowane w Pharmacological Reports w 2013 roku. Mój wkład w powstanie pracy polegał na oznaczeniu techniką Western blot ekspresji polimerazy poly(ADP)-rybozy-1 (zakres wykonanych badań taki sam jak w publikacji nr 7).

Mój udział w powstaniu pracy szacuję na **10 %**.

Opracowania zbiorowe, katalogi zbiorów, dokumentacja prac badawczych, ekspertyzy, utworów i dzieł artystycznych

Nie dotyczy

Sumaryczny Impact Factor według listy Journal Citation Reports zgodnie z rokiem opublikowania: 34, 7278 (punktacja MNiSzW = 357)

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: 118

Liczba cytowań bez autocytowań: 94

Indeks Hirscha według bazy Web of Science: 5

Udział w zespołach eksperckich i konkursowych

Udział w grupie ekspertów zewnętrznych Delphi Programu Horyzont 2020.

Recenzowanie projektów międzynarodowych i krajowych

- Recenzja grantu w Programie Innowacyjna Gospodarka
- Recenzja w Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Portugalia)
- Recenzja manuskryptu w Mini Reviews in Medicinal Chemistry
- Recenzja manuskryptu w Cytometry: Clinical Cytometry
- Recenzja manuskryptu w Medicinal Research Reviews
- Recenzja projektu badawczego z NCBIR
- Recenzja manuskryptu w European Scientific Journal

Inne osiągnięcia nie wymienione powyżej

Nie dotyczy

Prowadzone zajęcia dydaktyczne:

Wykłady:

1. Wykład pt. Regulacja hormonalna metabolizmu dla studentów I roku II stopnia kierunku Biologia specjalności Biochemia (od 2010/2011 r)
2. Wykład pt. Regulacja metabolizmu komórkowego dla studentów I roku II stopnia kierunku Biologia specjalności Genetyka (od 2010/2011 r)
3. Wykład pt. Molekularne podstawy działania leków dla studentów I roku II stopnia kierunku Biologia specjalności Biochemia i biologia molekularna (od 2013/2014 r.)

Ćwiczenia:

- Ćwiczenia z Cytobiochemii dla studentów III roku kierunku Biologia, specjalność Biochemia
- Pracownia metodyczna dla studentów III roku kierunku Biologia, specjalność Genetyka
- Ćwiczenia z Biochemii klinicznej i analityki dla studentów III roku kierunku Biologia, specjalność Biochemia i Biologia Molekularna, Biofizyka
- Ćwiczenia z Biochemii klinicznej i analityki dla studentów III roku kierunku Biologia, specjalność Genetyka (lub kierunku Genetyka)
- Ćwiczenia z Biochemii klinicznej i analityki dla studentów III roku kierunku Mikrobiologia
- Cytologia kliniczna dla studentów III roku kierunku Mikrobiologia
- Konwersatorium Biochemia kliniczna i analityka dla studentów III roku kierunku Biologia, specjalność Biochemia/Biochemia i biologia molekularna

- Elementy genetyki dla studentów II roku kierunku Chemia, specjalność Kosmetologia
- Pracownia specjalistyczna dla studentów II roku II stopnia kierunku Biologia, specjalność Biochemia/Biochemia i biologia molekularna
- Pracownia specjalistyczna dla studentów II roku II stopnia kierunku Biologia, specjalność Genetyka/kierunku Genetyka
- Seminarium licencjackie dla studentów III roku kierunku Biologia, specjalność Biochemia/Biochemia i biologia molekularna lub kierunku Genetyka
- Biochemia dla studentów II roku studiów niestacjonarnych zaocznych kierunku Biologia

Liczba prac magisterskich, w których opiekowałam się częścią eksperymentalną prac magisterskich: 15

Promotorstwo prac licencjackich: 6

Nie byłam promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim.

Członkostwo w Towarzystwach Naukowych:

- Polskie Towarzystwo Biochemiczne: Sekretarz Oddziału Łódzkiego od roku 2012 r.
- European Cell Death Organization (ECDO): członek od 2012 r.
- European Association for Cancer Research organization (EACR): członek od 2013 r.

Funcje pełnione związane z pracą na Uniwersytecie Łódzkim

- Opiekun Sekcji Biologii Molekularnej przy Studenckim Kole Biologów Uniwersytetu Łódzkiego od 1.10.2011-30.08.2013 r.
- Organizacja dydaktyki w Katedrze Cytobiochemii (1998-2012, 2014/15 r.)
- Członek Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego na kadencję: 2013-2016.