

dr Anna Ptak

Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Autoreferat

Kraków, grudzień 2014

1. Imię i nazwisko

Anna Ptak

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

Magister biologii, studia ukończone w 2002 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, na podstawie pracy magisterskiej: *Wpływ hormonu wzrostu na IGF-I indukowaną sekrecję progesteronu w ciałku żółtym świni.*

Doktor nauk biologicznych, tytuł uzyskany w 2006 roku na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, na podstawie rozprawy doktorskiej: *Charakterystyka i mechanizm działania 4-chlorobifenylu (PCB3) oraz jego metabolitów: 4'-hydroksy-4-chlorobifenylu, 3',4'-dihydroksy-4-chlorobifenylu (4'-OH-PCB3, 3',4'-diOH-PCB3) w steroidogenezie jajnika świni.*

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1-10-2006 – 31-09-2009 – **asystent** naukowo-dydaktyczny w Zakładzie Fizjologii i Toksykologii Rozrodu Instytutu Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

1-10-2009 – do chwili obecnej – **adiunkt** naukowo-dydaktyczny w Zakładzie Fizjologii i Toksykologii Rozrodu Instytutu Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

4. Wskazanie osiągnięcia 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.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Udział bisfenolu A i leptyny oraz ich wzajemnych interakcji w procesie progresji raka jajnika na modelu linii OVCAR-3.

b) Autor/autorzy, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania

1. **Ptak A**, Wróbel A, Gregoraszcuk EL. (2011) *Effect of bisphenol-A on the expression of selected genes involved in cell cycle and apoptosis in the OVCAR-3 cell line*. Toxicology Letters. 10;202(1):30-5. Impact Factor₂₀₁₁: 3.230; Punkty MNiSW: 35; liczba cytacji: 21

2. **Ptak A**, Gregoraszcuk EL. (2012) *Bisphenol A induces leptin receptor expression, creating more binding sites for leptin, and activates the JAK/Stat, MAPK/ERK and PI3K/Akt signalling pathways in human ovarian cancer cell*. Toxicology Letters. 5;210(3):332-7. Impact Factor₂₀₁₂: 3.145; Punkty MNiSW: 35; liczba cytacji: 14

3. **Ptak A**, Kolaczowska E, Gregoraszczuk EL. (2013) *Leptin stimulation of cell cycle and inhibition of apoptosis gene and protein expression in OVCAR-3 ovarian cancer cells*. Endocrine. 43(2):394-403. Impact Factor₂₀₁₃: 3.527; Punkty MNiSW: 20; liczba cytacji: 7
4. **Ptak A**, Rak-Mardyla A, Gregoraszczuk EL. (2013) *Cooperation of bisphenol A and leptin in inhibition of caspase-3 expression and activity in OVCAR-3 ovarian cancer cells*. Toxicology In Vitro. 27(6):1937-43. Impact Factor₂₀₁₃: 3.207; Punkty MNiSW: 30; liczba cytacji: 2
5. **Ptak A**, Hoffmann M, Gruca I, Barć J. (2014) *Bisphenol A induce ovarian cancer cell migration via the MAPK and PI3K/Akt signalling pathways*. Toxicology Letters. 2;229(2):357-65. Impact Factor₂₀₁₃: 3.355; Punkty MNiSW: 35; liczba cytacji: 0

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

Rak jajnika jest drugą (po raku piersi) przyczyną śmierci wśród nowotworów narządów płciowych u kobiet. Rocznie dotyka on około 3 500 kobiet i jest przyczyną około 2 500 zgonów [Krajowy Rejestr Nowotworów]. Ponad 95% nowotworów złośliwych jajnika ma pochodzenie nabłonkowe, pozostałe mogą wywodzić się z komórek rozrodczych albo ze sznurów płciowych. Wśród czynników ryzyka występowania raka jajnika coraz częściej wymieniana jest otyłość. Aż 24 z 28 raportów epidemiologicznych wskazuje na związek między występowaniem raka jajnika i otyłością [1]. Tkanka tłuszczowa jest obecnie postrzegana nie tylko jako rezerwuuar energii, ale także jako tkanka endokrynną, produkująca szereg substancji. Do najważniejszych z nich należą adipokiny, czyli hormony regulujące m. in. procesy metaboliczne i zapalne w organizmie, ale także i estrogeny, których wysoki poziom zwiększa ryzyko występowania nowotworów hormono-zależnych (w tym też i raka jajnika). Pomimo sugerowanego hormonalnego mechanizmu łączącego raka jajnika z otyłością, dokładny biologiczny mechanizm nie został dotychczas wyjaśniony. Powyższe dane stanowiły inspirację do podjęcia badań nad rolą czynników endogennych i egzogennych związanych z otyłością w biologii raka jajnika.

Modelem doświadczalnym w moich badaniach była ludzka linia komórkowa wyprowadzona z nabłonkowego raka jajnika NIH:OVCAR-3, pochodząca z kolekcji amerykańskiej (American Type Culture Collection – ATCC). Pomimo istniejącej już bardzo dokładnej charakterystyki tej linii komórkowej opracowanej przez grupę badawczą ze Stanów Zjednoczonych [2], ponownie określiłam ekspresję podstawowych receptorów steroidowych (receptorów androgenowych, progesteronowych i estradiolowych), używając technik: PCR w czasie rzeczywistym oraz Westen blot. Wykazałam ekspresję wszystkich wyżej wymienionych receptorów zarówno na poziomie genu jak i białka (dane niepublikowane). Ponadto, po raz pierwszy, wykazałam ekspresję receptorów leptyny (Ob-Rb,

izoforma długa; Ob-Rt, izoforma krótka receptora) na poziomie białka w tej linii komórkowej. Tak scharakteryzowana linia OVCAR-3 posłużyła mi jako model badawczy dla zaplanowanych badań.

Wśród czynników egzogennych moją uwagę zwrócił bisfenol A (BPA) należący do środowiskowych związków endokrynnie czynnych tzw. *endocrine disruptors* i, jak wykazały badania ostatnich lat, do związków zaangażowanych w rozwój otyłości. O znaczącej roli ksenobiotyków w rozwoju tej choroby może świadczyć wprowadzony przez Gruna i Blumberga w 2009 roku termin „environmental obesogens”, który charakteryzuje szereg związków zaburzających równowagę lipidową organizmu, co w konsekwencji przyczynia się do rozwoju otyłości [3]. BPA używany jest między innymi do produkcji papieru termicznego, opakowań żywności, wypełnień stomatologicznych oraz kosmetyków. Będąc substancją lipofilną akumuluje się on w tkance tłuszczowej. Jego stężenie w surowicy krwi osób dorosłych i dzieci wynosi 0,2–18,9 ng/ml (~0,5–50 nM) [4]. Wyższe stężenia tego związku oznaczano w surowicy krwi kobiet otyłych niż u kobiet szczupłych [5]. Ponadto, oznaczony został on także w płynie owodniowym, surowicy płodowej, tkankach łożyska oraz w płynie pęcherzykowym [4]. BPA wykazuje estrogenne właściwości i podobnie jak endogenne estradiol, charakteryzuje go tzw. U-kształtna odpowiedź na dawkę [6]. Uważam, że poznanie mechanizmu działania „obesogenów środowiskowych” oraz skutków, jakie mogą one wywołać w przypadku nowotworów hormono-zależnych (dla których otyłość jest uznawana za czynnik ryzyka) jest obecnie jednym z istotniejszych problemów biologii rozrodu.

Nie opublikowano dotychczas badań dotyczących wpływu BPA na proces proliferacji, apoptozy oraz migracji komórek raka jajnika, w kontekście procesów związanych z progresją nowotworu. Do doświadczeń wybrałam bardzo niewielkie, nanomolowe stężenia BPA, ponieważ odzwierciedlają one środowiskowe narażenie ludzi na ten związek. Ma to szczególne znaczenie, gdyż wiele ksenobiotyków wykazuje swoją aktywność w bardzo niskich stężeniach [7]. W swojej pracy wykazałam po raz pierwszy, że BPA wykazuje działanie mitogenne w komórkach OVCAR-3 poprzez wpływ na ekspresję genów związanych z cyklem komórkowym. Genami najsilniej indukowanymi przez BPA były: cyklina *CCND1*, *CCNA2* i *CDK4*; czynnik transkrypcyjny *E2F1* i *E2F3* oraz antygen *PCNA*; wszystkie zaangażowane w progresję cyklu komórkowego. Równocześnie BPA najmocniej hamował ekspresję genów *P21CIP1*, *WEE1* i *GADD45A*, które należą do inhibitorów cyklu komórkowego **(Ptak i inni, 2011, poz. 1)**. Jest to szczególnie interesujące w świetle danych literaturowych, które wskazują na to, że niski poziom inhibitora p21 jest złym czynnikiem prognostycznym u pacjentów z rakiem jajnika [8]. Ponadto, spadek ekspresji inhibitorów cyklu komórkowego, takich jak p21, p27 i p16, jest często obserwowany w różnych typach nowotworów i jest jedną z przyczyn ich niekontrolowanej proliferacji [9]. Ponadto, brak danych literaturowych opisujących związek BPA z procesem apoptozy

w raku jajnika skłonił mnie do określenia jego wpływu na ten proces. W badaniach własnych wykazałam, że BPA hamuje aktywność enzymu wykonawczego, kaspazy-3, przez co ogranicza możliwość wejścia komórki na drogę apoptotycznej śmierci. Analizując ekspresję genów związanych z tym procesem, wykazałam, że BPA hamuje ekspresję pro-apoptotycznych genów, takich jak: *FAS*, *FADD*, *RAIDD*, *CASP8*, *CASP10*, *CASP3*, *CASP6*, *CASP7*, *CAD*, *BAX*, *BAK1*, *BOK* i *APAF1*. Jednocześnie wpływa on stymulująco na ekspresję genów warunkujących przeżycie komórki, między innymi *BCL2L1* oraz *MCL1* (Ptak i inni, 2011, poz. 1).

Zmiany właściwości adhezyjnych i wzrost zdolności migracyjnych mają zasadniczy wpływ na inwazyjność nowotworów złośliwych. Istotną dla tego procesu grupę cząsteczek powierzchniowych stanowią kadheryny. W prawidłowym powierzchniowym nabłonku jajnika (*ang. ovary surface epithelium*, OSE) składnikiem połączeń przylegających jest typowa dla komórek mezenchymalnych N-kadheryna, natomiast ekspresja E-kadheryny jest niska lub białko to w ogóle nie występuje. Ta cecha OSE sprzyja procesom naprawy uszkodzeń nabłonka jajnika powstających w czasie owulacji [10]. W komórkach OSE ze zmianami metaplastycznymi i dysplastycznymi oraz w komórkach raka jajnika z guzów pierwotnych występuje znaczny wzrost ekspresji E-kadheryny [11]. Jednak w komórkach pobranych z przerzutów ekspresja E-kadheryny jest często niewysoka lub niewykrywalna [12]. Tej zmianie towarzyszy jednak pojawienie się innej formy tej glikoproteiny, o przeciwnym działaniu do E-kadheryny, czyli N-kadheryny. Promuje ona ruchliwość i migrację komórek nowotworowych, a wykrycie jej ekspresji jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym [13]. Za degradowanie cząsteczek adhezyjnych w tym E-kadheryny, odpowiadają metaloproteazy (*ang. matrix metalloproteinases*, MMPs). Badania pokazują, że w raku jajnika szczególnie ważną rolę odgrywają MMP-2 i MMP-9 [14]. Jedną z najistotniejszych ich funkcji jest degradacja kolagenu typu IV, który jest głównym składnikiem błony podstawnej, w wyniku czego zniszczeniu ulega fizyczna bariera uniemożliwiająca komórkom migrację. Dlatego też postanowiłam określić wpływ BPA na proces migracji komórek OVCAR-3 oraz związanych z tym procesem kadheryn E i N, jak również metaloproteaz MMP-2 i MMP-9. W efekcie wykazałam, po raz pierwszy, że BPA w dawkach odzwierciedlających jego rzeczywisty poziom w surowicy krwi u ludzi, stymuluje migrację komórek OVCAR-3. W badaniach tych potwierdziłam również zaangażowanie zarówno MMP-2, jak i MMP-9, w indukowany przez BPA proces migracji komórek OVCAR-3. BPA stymulował ekspresję zarówno genu, jak i białka dla MMP-2 i MMP-9 oraz aktywność obu metaloproteaz. Natomiast zastosowane inhibitory zarówno dla MMP-2, jak i MMP-9, znosiły stymulujący wpływ BPA na migrację komórek. Obserwowałam również, że BPA zmienia stosunek kadheryn w komórkach OVCAR-3 na korzyść pro-inwazyjnej N-kadheryny poprzez podnoszenie jej ekspresji na poziomie genu i białka (Ptak i inni, 2014, poz. 5). Podobne zmiany opisywane są przez wielu badaczy w procesie migracji komórek

nowotworowych jako tzw. „przełączenie kadheryn” (*ang. „cadherin switch”*) z pro-adhezyjnych E-kadheryn na pro-migracyjne N-kadheryny. Ponadto, dane literaturowe wskazują na zaangażowanie szlaków sygnałowych kinazy białkowej aktywowanej mitogenem/kinazy zależnej od sygnału zewnątrzkomórkowego 1/2 (*ang. mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-related kinase1/2*, MAPK/ERK 1/2) oraz kinazy 3-fosfatydylinozytolu/serynowo-treoninowa kinazy Akt (*ang. phosphatidylinositol 3-kinase/serine/threonine protein kinase*, PI3K/Akt) w procesie migracji raka jajnika [15,16]. Dlatego też, w kolejnych badaniach, określiłam zaangażowanie szlaku PI3K/Akt oraz MAPK/ERK1/2 w stymulowaną przez BPA migrację komórek OVCAR-3. Wyniki tych badań wykazały, że zastosowanie inhibitora ERK1/2 (PD098059) oraz PI3 kinazy (LY294002) znosi stymulujący wpływ BPA na migrację komórek, aktywność MMP-2 i MMP-9, a także na ekspresję białka dla tych metaloproteaz. Ponadto, stymulujące działanie BPA na ekspresję białka dla N-kadheryny po zastosowaniu obu inhibitorów zostało zniesione do poziomu kontroli. Wyniki te wykazały, że działanie BPA na migrację komórek mediowane jest poprzez szlak PI3K/Akt oraz MAPK/ERK1/2 (**Ptak i inni, 2014, poz. 5**). Podsumowując, przeprowadzone badania wykazują, że BPA odgrywa istotną rolę w progresji raka jajnika poprzez stymulację procesu proliferacji i migracji. Rezultaty moich badań stanowią znaczny wkład do istniejącej wiedzy na temat zaburzeń, jakie może spowodować bisfenol A u ludzi. Prace te włączone w cykl stanowiący osiągnięcie naukowe wnoszą nowe dane o roli BPA w procesie progresji raka jajnika oraz wskazują na rolę jaką odgrywają „environmental obesogens” w nowotworach hormono-zależnych, takich jak rak jajnika. Wyniki tych prac spotkały się z dużym zainteresowaniem na międzynarodowych warsztatach dotyczących środowiskowych związków endokrynnie czynnych „Copenhagen Workshop on Endocrine Disrupters – COW” (poz. III.B.25; poz. III.B.32).

Uzyskane wyniki wskazują, że BPA jako „environmental obesogen” zaangażowany jest w progresję raka jajnika, dla którego otyłość jest wymieniana jako jeden z czynników ryzyka. Dlatego uważam, że należy dołożyć wszelkich starań aby rozszerzyć zapis Dyrektywy Komisji Europejskiej z dnia 28 stycznia 2011 roku, w której zakazuje się stosowania bisfenolu A do produkcji butelek do karmienia niemowląt. Jest to duży postęp w sprawie ograniczenia stosowania BPA w butelkach z tworzyw sztucznych. Jednak ta decyzja dotyczy tylko problemu narażenia na ten związek małych dzieci, zaś nadal nie jest poruszana kwestia narażenia osób dorosłych i niekorzystnych konsekwencji z tego płynących.

Spośród czynników endogennych związanych z otyłością moją uwagę zwróciła leptyna, będąca obecnie – bez wątpienia – najlepiej scharakteryzowaną adipokiną. Leptyna jest hormonem wykazującym działanie pleiotropowe, bierze ona udział nie tylko w regulacji masy ciała, ale również w

regulacji proliferacji, apoptozy komórek oraz angiogenezy. Jej stężenie w surowicy krwi jest dodatnio skorelowane z współczynnikiem masy ciała (*ang. Body Mass Index, BMI*) oraz z procentową zawartością tłuszczu w organizmie. Poziom leptyny w osoczu krwi osób otyłych wynosi 37,7 ng/ml i jest wyższy w porównaniu z jej poziomem u osób szczupłych (3,92-16,9 ng/ml) [17]. W niektórych przypadkach (u osób skrajnie otyłych) może osiągać poziom do 100 ng/ml [18].

Ostatnimi czasy, badacze coraz śmielej łączą nawet nie samą otyłość, ale już bezpośrednio leptynę, ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nowotworów hormonozależnych. Mimo, że wykazano stymulujący wpływ leptyny na proliferację komórek raka jajnika w liniach komórkowych BG-1, SKOV-3 i MDAH2774 [19,20], to jednak molekularny mechanizm odpowiedzialny za to działania nie został dotychczas opisany. Dlatego też w swoich badaniach podjęłam się scharakteryzowania tego mechanizmu. Podobnie, jak w przypadku BPA, interesowało mnie jedynie działanie leptyny w stężeniach odzwierciedlających jej poziom w surowicy krwi u ludzi. Po potwierdzeniu stymulującego wpływu leptyny na proliferację komórek OVCAR-3 przeanalizowałam ekspresję szeregu genów związanych z cyklem komórkowym. W badaniach tych wykazałam stymulujący wpływ leptyny, w dawkach odzwierciedlających jej poziom u osób otyłych, na geny: cykliny *CCND1*, *CCNA2*, czynnika transkrypcyjnego *E2F3* oraz antygenu *PCNA*; z jednoczesnym zahamowaniem ekspresji inhibitorów cyklu komórkowego: *P21CIP1*, *P27KIP1* oraz *GADD45A* (**Ptak i inni, 2013, poz. 3**). Dodatkowo, leptyna hamowała apoptozę komórek poprzez zmianę ekspresji szeregu genów zaangażowanych w ten proces. Wykazałam także, że leptyna hamuje ekspresję pro-apoptotycznych genów, takich jak: *TNFR1*, *FADD*, *CASP3*, *CASP6*, *CASP7*, *CASP9*, *CASP10*, *CAD*, *ICAD*, *BAX*, *BAD*, *BAK1*, *BID*, *BOK* oraz *APAF1*. Ekspresję najsilniej zmienionych pod wpływem leptyny genów potwierdziłam również na poziomie białka. Rezultaty tych badań poszerzają znacząco wiedzę na temat molekularnych mechanizmów działania leptyny w komórkach raka jajnika.

Biorąc pod uwagę fakt, że spośród efektów, jakie może wywoływać BPA jako „environmental obesogen” wskazuje się, poza rozwojem otyłości, także jego stymulujący wpływ na ekspresję leptyny [21] i hamowanie ekspresji adiponektyny [22] w adipocytach. Dlatego też zadałam sobie pytanie, czy BPA może zmieniać ekspresję receptora leptyny lub samej leptyny w komórkach raka jajnika. W badaniach tych po raz pierwszy wykazałam że komórki OVCAR-3 nie produkują leptyny, co potwierdziłam na poziomie zarówno genu jak i białka. Bardzo ciekawe wyniki uzyskałam analizując wpływ BPA na ekspresję receptora dla leptyny. W badaniach tych po raz pierwszy wykazałam, że BPA w dawko-zależny sposób stymuluje ekspresję receptora leptyny (Ob-Rb) w komórkach raka jajnika OVCAR-3 zarówno na poziomie genu, jak i białka. Jest to pierwsze doniesienie literaturowe pokazujące zdolność BPA do modulowania ekspresji receptora dla adipokin w innych niż adipocyty komórkach (**Ptak i inni, 2012, poz. 2**).

Ponieważ wykazałam, że zarówno BPA jak i leptyna wykazują mitogenne działanie w raku jajnika, a także to, że BPA stymuluje ekspresję receptora leptyny, powstało pytanie, czy BPA może potęgować działanie leptyny. Większość autorów jest zdania, że tzw. forma długa receptora leptyny (OB-Rb) posiadająca pełno funkcyjną domenę cytoplazmatyczną, jest jedynym przenośnikiem informacji przekazywanej przez leptynę komórkom docelowym. Istnieją trzy główne wewnątrzkomórkowe szlaki przekazu informacji prowadzące od aktywowanej kinazy JAK2 receptora OB-Rb, która następnie uruchamia 1) szlak czynnika transkrypcyjnego STAT-3; 2) szlak MAP Kinazy (ERK1/2) oraz 3) szlak kinazy 3 fosfatydyloinozytolu (PI3K) [23]. Mając na uwadze te dane w kolejnym etapie badań postanowiłam sprawdzić, czy leptyna i BPA współdziałają w procesie proliferacji komórek oraz czy towarzyszy temu działaniu aktywacja wyżej wymienionych ścieżek sygnałowych. W badaniach tych wykazałam, że w proliferacyjne działanie zarówno leptyny jak i BPA zaangażowane były wewnątrzkomórkowe szlaki przekazu sygnału ERK1/2, PI3K, oraz STAT-3. Zarówno leptyna, jak i BPA podnosiły fosforylacje wyżej wymienionych białek. Związki te nie współdziałały w stymulacji proliferacji. Jednak, co ciekawe, podane razem, przedłużały czas utrzymywania się formy fosforyzowanej dla wszystkich trzech badanych białek ERK1/2, PI3K, oraz STAT-3 (**Ptak i inni, 2012, poz. 2**). W dalszych badaniach analizowałam możliwość współdziałania tych związków w procesie apoptozy. Jak wykazałam uprzednio, zarówno leptyna, jak i BPA, obniżały ekspresję genu dla kaspazy-3, zaliczanej do kaspaz wykonawczych w procesie apoptozy. W badaniach tych wykazałam, że leptyna i BPA współdziałają w hamowaniu ekspresji genu dla kaspazy-3 *CASP3*, co następnie potwierdziłam na poziomie ekspresji białka dla kaspazy-3 (35 kDa) oraz przez analizę aktywności tego białka metodą fluorometryczną. Aktywność kaspazy-3 oraz poziom jej białka regulowane są przez leptynę z udziałem czynnika transkrypcyjnego STAT-3, co wykazałam używając inhibitora AG490 (inhibitor czynnika transkrypcyjnego STAT-3). Z kolei BPA hamuje aktywność oraz ekspresję kaspazy-3 poprzez szlak kinazy ERK1/2, gdyż użycie inhibitora PD098059 odwracało hamujący działanie BPA (**Ptak i inni, 2013, poz. 4**).

Podsumowując, w prezentowanych pracach wykazałam, że oba czynniki związane z otyłością – endogenne (leptyna) i egzogenne (BPA) – stymulują progresję raka jajnika poprzez aktywację procesu proliferacji oraz hamowania procesu apoptozy. Ponadto, BPA jest czynnikiem stymulującym migrację komórek poprzez działanie na białka związane z adhezją komórkową. Czynniki te wykorzystują wewnątrzkomórkowe szlaki przekazu sygnału ERK1/2, PI3K, oraz STAT-3. Efekt ich działania potęguje się, jeżeli wpływając na dany proces wykorzystują one odmienne ścieżki sygnałowe, jak to ma miejsce w przypadku procesu apoptozy. Natomiast, jeżeli aktywują one te same ścieżki sygnałowe, jak dzieje się w przypadku ich wpływu na proces proliferacji, efekt ich działania nie sumuje się.

d) Dalsze plany badawcze

Szczególną uwagę w moich dotychczasowych badaniach zwróciło odkrycie, że BPA może zmieniać ekspresję receptora leptyny w komórkach raka jajnika. Tkanka tłuszczowa syntetyzuje wiele innych adipokin, które ze względu na wykazywane działanie można podzielić na dwie grupy: takie, które nasilają wzrost komórek nowotworowych i angiogenezę (między innymi rezystyna, apelina) oraz takie, które działają ochronnie i wykazują własności antyproliferacyjne (między innymi adiponektyna, chemeryna). Wydaje się być zasadne stwierdzenie, że stosunek wydzielania poszczególnych adipokin może odgrywać ważniejszą rolę niż ich bezwzględna koncentracja w tkance. Te obserwacje stały się podstawą mojego nowego projektu badawczego, który realizuję od marca 2014 roku (OPUS 5, 2013/09/B/NZ7/00405, *Nowy mechanizm działania bisfenolu A i jego analogów w biologii raka jajnika*). Hipoteza badawcza projektu zakłada, że BPA i jego bromowane (TBBPA) i chlorowane (TCBPA) pochodne poprzez zmianę ekspresji adipokin lub/oraz ich receptorów w komórkach raka jajnika wpływają w sposób pośredni na proces progresji raka jajnika, angażując w to działanie szlak receptorów PPAR γ lub ER α i β . Projekt ten ma na celu: 1) zbadanie podstawowej ekspresji adiponektyny, rezystyny, chemerin i apeliny oraz ich receptorów w ludzkich liniach wyprowadzonych z raka jajnika. W tym celu prowadzone są hodowle nabłonkowych (OVCAR-3, Caov-3, SKOV-3) i gonadalnych (COV434, KGN) nowotworów jajnika, jak również hodowle prawidłowych komórek nabłonkowych jajnika (HOSEpiC); 2) określenie, czy BPA, TBBPA, TCBPA mogą wpływać na ekspresję badanych adipokin i ich receptorów; 3) wykazanie, czy badane adipokin wywołują efekt proliferacyjny w komórkach nowotworu jajnika; 4) określenie zaangażowanie receptorów PPAR γ , ER α i ER β , w działaniu BPA i jego pochodnych na ekspresję adipokin.

e) Literatura

- [1] Olsen CM, Green AC, Whiteman DC, Sadeghi S, Kolahdooz F, Webb PM. *Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis*. Eur J Cancer. 2007;43,690-709.
- [2] Hamilton TC, Young RC, McKoy WM, Grotzinger KR, Green JA, Chu EW, Whang-Peng J, Rogan AM, Green WR, Ozols RF. *Characterization of a human ovarian carcinoma cell line (NIH:OVCAR-3) with androgen and estrogen receptors*. Cancer Res. 1983;43,5379-5389.
- [3] Grün F, Blumberg B. *Endocrine disruptors as obesogens*. Mol Cell Endocrinol. 2009;304,19-29.
- [4] Dekant W, Völkel W. *Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2008;228,114-134.
- [5] Takeuchi T, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Takai Y, Taketani Y. *Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction*. Endocr. J. 2004;51,165-169.
- [6] Welshons WV, Nagel SC, vomSaal FS. *Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure*. Endocrinology 2006;147,56-69.
- [7] Kamrin MA. *The "low dose" hypothesis: validity and implications for human risk*. Int J Toxicol. 2007;26,13-23.

- [8] Bali A, O'Brien PM, Edwards LS, Sutherland RL, Hacker NF, Henshall SM. *Cyclin D1, p53, and p21Waf1/Cip1 expression is predictive of poor clinical outcome in serous epithelial ovarian cancer*. Clin. Cancer Res. 2004;10,5167–5177.
- [9] Sherr CJ, Roberts JM. *CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression*. Genes Dev. 1999;13,1501–1512
- [10] Auersperg N, Wong AS, Choi KC, Kang SK, Leung PC. *Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology*. Endocr Rev 2001;22,255–288.
- [11] Reddy P, Liu L, Ren C, Lindgren P, Boman K, Shen Y, Lundin E, Ottander U, Rytinki M, Liu K. *Formation of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion activates AKT and mitogen activated protein kinase via phosphatidylinositol 3 kinase and ligand-independent activation of epidermal growth factor receptor in ovarian cancer cells*. Mol. Endocrinol. 2005;19,2564–2578.
- [12] Hudson LG, Zeineldin R, Stack MS. *Phenotypic plasticity of neoplastic ovarian epithelium: unique cadherin profiles in tumor progression*. Clin. Exp. Metastasis 2008;25,643–655.
- [13] Hazan RB, Phillips GR, Qiao RF, Norton L, Aaronson SA. *Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis*. J. Cell. Biol. Cancer 2000;148,779–790.
- [14] Planagumà J, Liljeström M, Alameda F, Bützow R, Virtanen I, Reventós J, Hukkanen M. *Matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 codistribute with transcription factors RUNX1/AML1 and ETV5/ERM at the invasive front of endometrial and ovarian carcinoma*. Hum Pathol. 2011;42,57–67.
- [15] Egeblad M, Werb Z. *New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression*. Nat Rev Cancer 2002;2,161–174.
- [16] Jeong GO, Shin SH, Seo EJ, Kwon YW, Heo SC, Kim KH, Yoon MS, Suh DS, Kim JH. *TAZ mediates lysophosphatidic acid-induced migration and proliferation of epithelial ovarian cancer cells*. Cell. Physiol. Biochem. 2013;32,253–263.
- [17] Owecki M, Nikisch E, Miczke A, Pupek-Musialik D, Sowinski J. *Leptin, soluble leptin receptors, free leptin index, and their relationship with insulin resistance and BMI: high normal BMI is the threshold for serum leptin increase in humans*. Horm. Metab. Res. 2010;42,585–589.
- [18] Knerr I, Herzog D, Rauh M, Rascher W, Horbach T. *Leptin and ghrelin expression in adipose tissues and serum levels in gastric banding patients*. Eur. J. Clin. Invest. 2006;36,389–394.
- [19] Choi JH, Lee KT, Leung PC. *Estrogen receptor alpha pathway is involved in leptin-induced ovarian cancer cell growth*. Carcinogenesis 2011;32,589–596.
- [20] Uddin S, Bu R, Ahmed M, Abubaker J, Al-Dayel F, Bavi P, Al-Kuraya KS. *Overexpression of leptin receptor predicts an unfavorable outcome in Middle Eastern ovarian cancer*. Mol. Cancer 2009;8,74.
- [21] Phrakonkham P, Viengchareun S, Belloir C, Lombès M, Artur Y, Canivenc-Lavier MC. *Dietary xenoestrogens differentially impair 3T3-L1 preadipocyte differentiation and persistently affect leptin synthesis*. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008;110,95–103.
- [22] Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW, Ben-Jonathan N. *Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes*. Environ Health Perspect. 2008;116,1642–1647.
- [23] Garofalo C, Surmacz E. *Leptin and cancer*. J. Cell. Physiol. 2006;207,12–22.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć badawczych

Moje zainteresowania badawcze, które nie są podstawą wniosku do wszczęcia postępowania habilitacyjnego, można podzielić na dwa główne nurty tematyczne:

- Rola endogennych hormonów, takich jak hormon wzrostu (GH), insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-I) czy leptyna, w regulację funkcji jajnika.

- Wpływ egzogennych czynników zaliczanych do „endocrine disruptors”, na funkcje jajnika oraz łożyska.

Z Instytutem Zoologii UJ związałam się już w czasie studiów magisterskich na kierunku biologia, prowadzonym przez Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego, wybierając na promotora mojej pracy magisterskiej panią profesor dr hab. Ewę Gregoraszczuk. Już od trzeciego roku studiów uczestniczyłam w specjalizacyjnych seminariach prowadzonych przez Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, kierowanych przez mojego promotora, zapoznając się i pogłębiając swoją wiedzę w dziedzinie fizjologii rozrodu, która w przyszłości stała się tematem mojej pracy magisterskiej. Dzięki temu na czwartym roku studiów podjęłam badania dotyczące „Wpływu hormonu wzrostu na IGF-I indukowaną sekrecję progesteronu w ciałku żółtym świni”. Wyniki tych badań wykazały bezpośrednie zaangażowanie GH i IGF-I w utrzymaniu funkcji ciała żółtego i potwierdziły wysuniętą hipotezę o istnieniu – poza tradycyjnym działaniem GH i IGF-I poprzez drogę podwzgórzowo-przysadkowo-jajnikową – również możliwość lokalnego modulowania funkcji jajnika. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w formie dwóch prac oryginalnych: *Ptak i inni, 2003, poz. II.A.1; Ptak i inni, 2004, poz. II.A.3.*

W trakcie realizacji mojej pracy magisterskiej, zostałam włączona w badania prowadzone w Zakładzie Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, które dotyczyły roli ksenobiotyków zaliczanych do grupy związków zaburzających funkcje endokrynne „endocrine disruptors” na funkcje pęcherzyka jajnikowego świni. Wyniki tych badań wskazywały, że zarówno polichlorowane bifenyle: PCB126 i PCB153, jak i o,p'-DDT i p,p'-DDT oraz ich metabolity zaburzają funkcje pęcherzyka jajnikowego świni, poprzez wpływ na proces steroidogenezy oraz apoptozy. W związku z tymi badaniami jestem współautorką dwóch publikacji: *Gregoraszczuk i inni, 2003, poz. II.A.2; Wójtowicz i inni, 2004, poz. II.A.4.*

Po obronie pracy magisterskiej z wynikiem bardzo dobrym w 2002 roku, rozpoczęłam studia doktoranckie na Wydziale BiNoZ, pod opieką pani profesor dr hab. Ewy Gregoraszczuk. Dzięki nawiązanej współpracy pani profesor z zespołem profesora Lary Robertsona (University of Iowa, Department of Occupational and Environmental Health, College of Public Health, Iowa City, USA) możliwe było podjęcie badań dotyczących „Charakterystyki i mechanizmu działania 4-chlorobifenylu (PCB3) oraz jego metabolitów: 4'-hydroksy-4-chlorobifenylu, 3',4'-dihydroksy-4-chlorobifenylu (4'-OH-PCB3, 3',4'-diOH-PCB3) w steroidogenezie jajnika świni”. Należy tu podkreślić fakt, że zarówno w Polsce, jak i na świecie, żaden z ośrodków naukowych nie zajmował się wpływem hydroksylowanych metabolitów PCB na procesy rozrodcze. Decyzją Rady Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ w 2003

roku został otwarty mój przewód doktorski. To umożliwiło mi staranie się o grant promotorski, który został mi przyznany na lata 2004–2006 i miał tytuł: „Porównanie wybranych mechanizmów działania PCB3 i jego hydroksylowanych metabolitów (4-OH-PCB3 oraz 3,4-diOH-PCB3) w pęcherzyku jajnikowym” i numer: 0431/PO4/04/27. Prowadząc te badania wykazałam, że nie tylko PCB, ale także jego hydroksylowane metabolity można zaliczyć do odpadów niebezpiecznych w środowisku. Pęcherzyk jajnikowy świnii posiada baterię enzymów (m.in. CYP1A1, CYP1A2, CYP2B), umożliwiających mu metabolizm m.in. ksenobiotyków. Metabolizm PCB3 prowadzi do powstania związków o wyższej aktywności endokrynej. Ponieważ PCB3 nie jest ligandem dla receptora AhR (receptor węglowodorów aromatycznych), aktywuje metabolizm drogą alternatywną wykorzystując współdziałanie receptorów AhR oraz ER obecnych w pęcherzyku jajnikowym. Prawdopodobnie wykorzystuje on podobne szlaki aktywacji jak estradiol. Wprawdzie nie wykazałam cytotoksycznego działania ani PCB3, ani jego metabolitów, ale stwierdziłam powstawanie uszkodzeń DNA w komórkach, co w efekcie może prowadzić do mutacji i inicjacji nowotworu jajnika. W roku 2005 otrzymałam stypendium krajowe Fundacji na rzecz Nauki Polskiej dla młodych naukowców. Pracę doktorską obroniłam w 2006 roku, uzyskując Dyplom Uznania za wybitną rozprawę doktorską od Rektora Uniwersytetu Jagiellońskiego. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w formie czterech prac oryginalnych: *Ptak i inni, 2005, poz. II.A.5*; *Ptak i inni, 2006, poz. II.A.7*; *Ptak i inni, 2006, poz. II.A.8*; *Ptak i inni, 2008, poz. II.A.13*.

Poza wykonywaniem badań dotyczących tematu mojej rozprawy doktorskiej włączyłam się w badania prowadzone w ramach współpracy z doktorem Romanem Grabicem z Instytutu Zdrowia Publicznego w Ostrawie (Institute of Public Health in Ostrava, National Reference Laboratory of Analysis of POPs Ministry of Health OR, Ostrava Czech Republic), a dotyczących wpływu mieszanin handlowych PCB o nazwie *Delor 103* oraz *Delor 106* na rozród. Mieszaniny te różnią się od siebie zawartością poszczególnych kongenerów PCB – *Delor 103* zawiera nisko chlorowane bifenyle w przeciwieństwie do *Deloru 106*, składającego się głównie z wysoko chlorowanych bifenyli. Związki te na skalę przemysłową były produkowane na terenie byłej Czechosłowacji. Badania te wykazały różnice w działaniu tych mieszanin, w zależności od sposobu narażenia (jedenkrotne lub wielokrotne) oraz od rodzaju tkanki docelowej (pęcherzyk jajnikowy, łożysko). Jak również odmienny profil akumulacji tych mieszanin wskazujący na słaby metabolizm przez tkanki łożyska wysoko chlorowanych PCB. W ramach tego projektu jestem współautorką dwóch publikacji: *Gregoraszczyk i inni, 2005, poz. II.D.26*; *Grabic i inni, 2006, poz. II.A.10*.

Równolegle z prowadzeniem badań dotyczących mojej pracy doktorskiej, jak również badań dotyczących wpływu ksenoestrogenów na rozród samic prowadziłam także badania w ramach projektu zamawianego „Ekspresja receptora leptyny (Ob-Rb) i udział tego hormonu w regulacji

funkcji endokrynej jajnika świni” koordynowanego przez panią profesor dr hab. Ewę Gregoraszcuk. W badaniach tych potwierdzono zaangażowanie leptyny w procesy rozrodcze, co tłumaczyło doniesienia mówiące o wpływie leptyny na proces dojrzewania. Wskazano również na ważną rolę leptyny w okresie przekształcania pęcherzyka jajnikowego świni w ciało żółte (CL). W ramach tego projektu jestem współautorką czterech publikacji: *Gregoraszcuk i inni, 2003, poz. II.D.23; Gregoraszcuk i inni, 2004, poz. II.D.25; Gregoraszcuk i inni, 2005, poz. II.A.6; Gregoraszcuk i inni, 2006, poz. II.A.9; Gregoraszcuk i inni, 2007, poz. II.A.11.*

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych, w październiku 2006 roku, zostałam zatrudniona w Zakładzie Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Katedrze Fizjologii Zwierząt, Instytucie Zoologii UJ, na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego. Prowadziłam działalność dydaktyczną w ramach następujących kursów: Fizjologia Zwierząt (WBNZ816), Fizjologiczne techniki badań (WBNZ126) oraz Hodowla tkanek – zastosowanie w badaniach naukowych (WBNZ467).

W tym okresie zaangażowałam się w badania prowadzone we współpracy z Zakładem Rozrodczości i Medycyny Sądowej w Oslo, kierowanej przez profesora Erika Ropstada (Department of Reproduction and Forensic Medicine, Norwegian School of Veterinary Sciences, Oslo, Norway) dotyczących wpływu mieszanin różnych kongenerów PCB oraz mieszanin naturalnych: *Mjosa mix* i *Marine mix* na funkcje rozrodcze. Mieszanina *Mjosa mix* jest olejem wyizolowany z miętusa (burbot, *Lota lota*), żyjącego w jeziorze Mjosa w Norwegii. Dominującą ilościowo grupą zanieczyszczeń w tym oleju są PBDE (polibromowane etery difenyłowe), stosowane jako środki zmniejszające palność w produktach codziennego użytku. *Marine mix*, druga z badanych mieszanin, jest olejem pochodzący z ryb morskich, w którego skład wchodzi głównie mieszanina PCB, ale także duże ilości chloroorganicznego DDT oraz jego metabolitów: DDD i DDE. W badaniach tych potwierdzono zakładaną hipotezę, że niemożliwe jest przewidzenia działania mieszaniny na podstawie działania pojedynczych kongenerów, jak również i to, że estrogenne właściwości badanych mieszanin wynikają z dużej zawartości w nich DDT. Podobne rezultaty otrzymano badając mieszaninę kongenerów PCB wraz z 17 β -estradiolem. W ramach tych badań powstały trzy publikacje, których jestem współautorką: *Gregoraszcuk i inni, 2008, poz. II.A.12; Gregoraszcuk i inni, 2009, poz. II.A.15; Ptak i inni 2011, poz. II.A.17.*

Ponadto, byłam też wykonawcą w projekcie badawczym „Porównanie mechanizmów działania endo- i egzogennych estrogenów”. Badania te miały na celu porównanie działania estradiolu oraz jego hydroksylowanych metabolitów z działaniem PCB3 oraz jego hydroksylowanych metabolitów na wybrane parametry linii komórkowej raka piersi MCF-7. W badaniach tych wykazano, że anty-apoptotyczne działania zarówno endogennych, jak i egzogennych estrogenów

odbywa się poprzez hamowanie aktywności kaspazy-9, należącej do wewnątrzkomórkowego szlaku apoptotycznego. Związki te podnoszą poziom białek wiążących hormony steroidowe (SHBG). Jednak ich działanie na proliferację jest odmienne, gdyż endogenne estrogeny stymulują proliferację, natomiast egzogenne estrogeny ją hamują w linii komórek MCF-7. W ramach tych badań jestem współautorką pięciu publikacji: *Ptak i inni, 2009, poz. II.A.14; Ptak i inni, 2010, poz. II.A.16; Gregoraszcuk i Ptak, 2011, poz. II.D.28; Gregoraszcuk i inni, 2011, poz. II.D.29; Kwiecińska i inni, 2012, poz. II.D.30.*

Współpraca Zakładu Fizjologii i Toksykologii Rozrodu z profesorem Jerzym Falandyszem z Pracowni Chemii Środowiska i Ekotoksykologii (Wydziału Chemii, Uniwersytetu Gdańskiego), zaowocowała badaniami nad takimi związkami, jak: heksachlorobenzen (HCB) oraz pentachlorobenzen (PeCB). Należą one do grupy chlorowanych węglowodorów i zgodnie z decyzją Rady Parlamentu Europejskiego 2455/2001/WE – od listopada 2001 roku funkcjonują jako priorytetowe substancje niebezpieczne. Współpraca z profesorem Jerzym Falandyszem umożliwiła określenie akumulacji tych związków w pęcherzyku jajnikowym świni i tkankach łożyska ludzkiego, a finansowanie jakie otrzymałam w ramach środków statutowych Instytutu Zoologii UJ, pozwoliło na zbadanie wpływu tych związków na funkcje endokrynne wyżej wymienionych tkanek. W badaniach tych wykazano, że związki te nie akumulują się w tkankach łożyska ludzkiego, natomiast silnie aktywują enzymy należące do I oraz II fazy metabolizmu. Zaburzają też homeostazę hormonalną łożyska poprzez swój wpływ na ekspresję i aktywność enzymu CYP11A1, co skutkuje zmianą wydzielania progesteronu. Związki te akumulują się natomiast w pęcherzyku jajnikowym świni oraz również zaburzają jego homeostazę hormonalną poprzez zmianę ekspresji enzymów steroidogennych. W ramach tych badań jestem współautorką dwóch publikacji: *Gregoraszcuk i inni, 2011, poz. II.A.18; Gregoraszcuk i inni, 2014, poz. II.A.22.*

W roku 2010 otrzymałam finansowanie dla własnego projektu badawczego (Określenie mechanizmu działania PBDE w jajniku na podstawie wskaźnikowego kongeneru BDE-47, 0654/B/PO1/2010/39). W projekcie tym podjęłam badania nad wpływem kolejnej grupy ksenobiotyków – należących do czynników zaburzających funkcje endokrynne „endocrine disruptors” – jaką stanowią polibromowane etery difenylowe (PBDE). Są one stosowane jako syntetyczne addytywne uniepalniacze i dzięki temu znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle elektronicznym i elektrycznym (komputery, telewizory, sprzęt AGD), a także w przemyśle tekstylnym (tkaniny obiciowe, dywany). Unia Europejska w 2004 roku zakazała używania dwóch z trzech powszechnie stosowanych mieszanin PBDE, Penta- oraz Octa-BDE. Pomimo wycofania z produkcji dwóch mieszanin handlowych, PBDE są dalej obecne w środowisku ponieważ charakteryzują się dużą

trwałością. W badaniach przeprowadzonych w ramach tego projektu wykazano, że BDE-47 stymuluje aktywność enzymów I oraz II fazy metabolizmu (CYP2B1/2, SULT1A i COMT) w pęcherzyku jajnikowym świni. Należy tutaj podkreślić, że aktywacja tych faz zachodziła w znacznym przesunięciu czasowym, co wskazuje na możliwość działania lokalnie powstających hydroksylowanych metabolitów PBDE w jajniku. Wykazano również, że metabolity BDE-47 (5-OH-BDE-47 i 6-OH-BDE-47) poprzez stymulujący wpływ na ekspresję i aktywność enzymu aromatazy zwiększały wydzielanie estradiolu w pęcherzykach jajnikowych świni. Ponadto, metabolity te podnosiły ekspresję genu i białka dla obu form receptora estradiolowego α i β (ER α , ER β). Doświadczenia te pokazały, że metabolity BDE-47 mają inne działanie w jajniku niż związek wyjściowy. BDE-47 nie tylko nie stymulował wydzielania estradiolu, ale również w sposób istotny statystycznie obniżał ekspresję na poziomie genu i białka głównej formy receptora estradiolowego β . Mechanizm działania BDE-47 oraz jego metabolitów w jajniku wynika z bezpośredniego wpływu tych związków na wydzielanie hormonów steroidowych, jak również wpływu na ekspresję receptorów steroidowych. Ponieważ związki te wykorzystują do swojego metabolizmu te same enzymy, co hormony steroidowe, mogą również modyfikować metabolizm endogennych hormonów. Z uwagi na zdolność do zaburzania równowagi hormonalnej organizmu, stanowią one bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia. W ramach realizacji projektu powstały trzy publikacje, których jestem współautorką: *Karpeta i inni, 2012, poz. II.A.19; Karpeta i inni, 2013, poz. II.A.20; Karpeta i inni, 2014, poz. II.A.21.*

Poza pracami eksperymentalnymi jestem współautorką dwóch prac przeglądowych (*Przała i inni, poz. II.A.30; Gregoraszczuk i Ptak, poz. II.A.23*) oraz dwóch rozdziałów książkowych podsumowujących wyniki badań dotyczących działania ksenoestrogenów (*Ptak i Gregoraszczuk, poz. II.E.2*) i adipokin (*Rak-Mardyła i inni, poz. II.E.1*) w żeńskim układzie rozrodczym. Moja praca naukowa została wyróżniona pięciokrotnie nagrodą J. M. Rektora UJ. Wyniki badań zostały opublikowane w 33 pracach oryginalnych i 40 doniesieniach zjazdowych prezentowanych na konferencjach krajowych i zagranicznych. Łączny Impact Factor moich publikacji według bazy Web of Science wynosi 69,995; Indeks cytacji (z wyłączeniem auto cytacji) wynosi 175; a Indeks Hirsha równy jest 10.

Pozostałe osiągnięcia naukowe i dydaktyczne przedstawiono w „Wykazie opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacji o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki”.

Kraków, dn. 05.12.2014 r.


dr Anna Ptak