



**Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk**

AUTOREFERAT

**Modulacja stanów neurozapalnych przez kannabinoidy
w modelach chorób neurologicznych i neuropsychiatrycznych**

Dr EWA KOZELA

KRAKÓW 2026

Spis treści

1	Imię i nazwisko	3
2	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe.....	3
3	Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	4
4	Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy	5
4.1	Tytuł osiągnięcia naukowego	5
4.2	Zestawienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego	5
4.3	Opis wkładu własnego w publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	7
4.4	Omówienie celu naukowego osiągnięcia naukowego oraz otrzymanych wyników	10
4.4.1	Kontekst historyczny badań nad medycznym Cannabis	10
4.4.2	Potencjał terapeutyczny CBD: od nieaktywnego fitokannabinoidu do wielocelowego modulatora układu endokannabinoidowego	11
4.4.3	Cel naukowy osiągnięcia habilitacyjnego	12
4.4.4	Skrócony opis osiągnięcia habilitacyjnego	14
4.4.5	Omówienie wyników badań	14
4.4.6	Bibliografia	29
5	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej	32
5.1	Aktywność naukowa przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora	32
5.1.1	Spis publikacji przed doktoratem:	33
5.1.2	Najważniejsze osiągnięcia przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora	34
5.2	Aktywność naukowa po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	35
5.2.1	Aktywność naukowo-badawcza po doktoracie	35
5.2.2	Inne publikacje w roli współautora z okresu w którym powstał cykl H1-H8	36
5.2.3	Aktywność naukowa i zarządzanie zespołem	37
5.2.4	Najważniejsze osiągnięcia po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	41
5.2.4	Podsumowanie dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	42
5.3	Prezentowanie sumarycznego dorobku działalności naukowo-badawczej	42
6	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	43
6.1	Działalność dydaktyczna	43
6.2	Działalność popularyzacyjna	43
6.3	Działalność organizacyjna	44
6.4	Działalność w zakresie zarządzania innowacjami i działalności wdrożeniowej	44
7	Pozostałe informacje	46
7.1	Udział w projektach badawczych (kierowanie lub uczestnictwo)	46
7.2	Recenzowanie publikacji w czasopiśmie międzynarodowych i krajowych	46
7.3	Udział w konferencjach naukowych i sympozjach o zasięgu krajowym oraz międzynarodowym	46
7.4	Nagrody i wyróżnienia	47

1 Imię i nazwisko

Ewa Kozela

ORCID <https://orcid.org/0009-0001-6167-2156>

2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

24.11.2005 Doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej

Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk (PAN), Kraków

Tytuł rozprawy doktorskiej: Rola układu glutaminianergicznego w toleracji opioidowej (ang. *The role of glutamate system in opioid tolerance*)*

Promotor: Prof. dr hab. Piotr Popik

28.06.1999 Magister biologii

Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Tytuł pracy magisterskiej: Hamowanie tolerancji morfinowej przez memantynę, niekompetytywnego antagonistę glutaminergicznego receptora NMDA

Promotor: Prof. dr hab. Jerzy Vetulani

Certyfikaty

Luty 2020 Good Clinical Practice (GCP), GCP Training Center, Rosh HaAyn, Izrael

* rozprawa przygotowana w języku polskim i w języku angielskim

3 Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Okres	Stanowisko	Miejsce zatrudnienia
09.2025 - obecnie	Adiunkt	Zakład Neurobiologii Emocji i Procesów Poznawczych, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polska Akademia Nauk (PAN), Kraków
12.2021 – 08.2025	Research Associate & Lab Manager	Department of Biomolecular Sciences, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Izrael
04.2020 – 12.2021	Senior Research Fellow & Lab Manager	Department of Psychology, Hebrew University of Jerusalem, Jerozolima, Izrael
08.2018 – 07.2019*	Chief Scientific Officer (CSO)	Nextage Cannabis Innovation Center (Nextar Chempharma Solutions Ltd), Nes Tziona, Izrael
08.2012 – 07.2018	Research Associate	School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Awiw, Izrael
12.2009 – 05.2012	Postdoctoral Fellow	School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Awiw, Izrael
02.2007 – 11.2009	Postdoctoral Fellow	Department of Neurobiology, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Izrael
12.2025 - 07.2026	Asystent	Zakład Biochemii, Instytut Farmakologii PAN
03.2002 – 09.2002	Visiting Scholar	The Vontz Center for Molecular Studies, University of Cincinnati, OH, USA
07.1999 - 11.2025	Doktorant	Zakład Biochemii, Instytut Farmakologii PAN, Kraków [#]
1998 - 1999	Wolontariusz	Zakład Biochemii, Instytut Farmakologii PAN, Kraków [#]

Uwagi i symbole:

Zachowano oryginalne nazewnictwo stanowisk w przypadku staży zagranicznych aby uniknąć nieścisłości w opisie funkcji wynikających z braku odpowiedników w polskim systemie szkolnictwa wyższego i nauki.

* zatrudnienie w kontraktowym ośrodku badawczym (ang. *Contract Research Organization*, CRO)

[#] ówczesna nazwa zakładu i instytutu

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

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Modulacja stanów neurozapalnych przez kannabinoidy w modelach chorób neurologicznych i neuropsychiatrycznych

4.2 Zestawienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Przedstawione osiągnięcie naukowe wynikające z art. 219, ust. 1, pkt. 2b ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stanowi cykl 8 powiązanych tematycznie artykułów naukowych, z których 7 stanowią prace oryginalne, natomiast 1 artykuł jest publikacją przeglądową. Prace te zostały opublikowane w latach 2010–2020. Sumaryczny wskaźnik cytowań (Impact Factor, IF) prac składających się na osiągnięcie naukowe wynosi 34,351, natomiast łączna liczba punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW) wynosi 334. Wykazana w autoreferacie punktacja publikacji odzwierciedla systemy ocen parametrycznych MNiSW obowiązujące w latach ich wydania, uwzględniając przejście z wcześniejszej skali punktowej (0-50 pkt) na system wprowadzony reformą z 2018 roku (0-200 pkt). Pozostałe osiągnięcia naukowe zostały omówione w rozdziałach 5, 6, 7 autoreferatu.

Mój dorobek naukowy stanowiący podstawę postępowania habilitacyjnego obejmuje **cykl 8 autorskich publikacji (H1–H8), w których pełniłam rolę pierwszego autora (a w 6 przypadkach autora korespondencyjnego)**. W realizację tych prac byłam zaangażowana na każdym etapie, od konceptualizacji i zaplanowania badań, przez ich wykonanie, aż po nadzór merytoryczny nad procesem publikacyjnym. Głównym kierunkiem mojej aktywności badawczej była analiza mechanizmów działania kannabinoidów w procesach neurozapalnych. Szczególną uwagę poświęciłam właściwościom kannabidiolu (CBD) i jego oddziaływaniu na ośrodkowy układ nerwowy (OUN), w tym na aktywność mikrogleju oraz komórek układu odpornościowego infiltrujących struktury OUN. Wykorzystując zróżnicowany warsztat badawczy, w tym zaawansowane platformy wysokoprzepustowe, poddałam analizie międzykomórkowej i molekularnej podłoże kannabinoidowej modulacji procesów neurozapalnych. Moje badania objęły szerokie spektrum zagadnień: od aktywacji i polaryzacji mikrogleju, przez mechanizmy autoimmunizacyjne, aż po komponenty neuroimmunologiczne deficytów poznawczych w schizofrenii. Wyniki tych prac zostały opublikowane w renomowanych czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Równolegle do nurtu głównego uczestniczyłam w projektach komplementarnych, co zaowocowało współautorstwem w licznych publikacjach nie wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego.

L.p.	Dane bibliograficzne publikacji	Punktacja	
		IF@	MNiSW@
H1	Kozela E. , Pietr M., Juknat A., Rimmerman N., Levy R., Vogel Z. [§] . <i>Cannabinoids Δ9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol differentially inhibit the lipopolysaccharide-activated NF-κB and interferon-β/STAT proinflammatory pathways in BV-2 microglial cells.</i> J Biol Chemistry , 2010 . 285 (3), 1616-1626. doi: 10.1074/jbc.M109.069294	5,328	32
H2	Kozela E. [#] , Lev N. [#] , Kaushansky N., Eilam R., Rimmerman N., Levy R., Ben-Nun A., Juknat A. [#] , Vogel Z. ^{#,§} . <i>Cannabidiol inhibits pathogenic T cells, decreases spinal microglial activation and ameliorates multiple sclerosis-like disease in C57BL/6 mice.</i> Br J Pharmacol. 2011 . 163(7):1507-19. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01379.x.	4,409	32
H3	Kozela E. [§] , Juknat A., Kaushansky N., Rimmerman N., Ben-Nun A., Vogel Z. <i>Cannabinoids decrease the th17 inflammatory autoimmune phenotype.</i> J Neuroimmune Pharmacol. 2013 . 8(5):1265-76. doi: 10.1007/s11481-013-9493-1.	3,172	35
H4	Kozela E. [§] , Juknat A., Kaushansky N., Ben-Nun A., Coppola G., Vogel Z. <i>Cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid, leads to EGR2-dependent anergy in activated encephalitogenic T cells.</i> J Neuroinflammation 2015 . 15; 12:52. doi: 10.1186/s12974-015-0273-0.	4,667	40
H5	Kozela E. [§] , Juknat A., Gao F., Kaushansky N., Coppola G., Vogel Z. <i>Pathways and gene networks mediating the regulatory effects of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabinoid, in autoimmune T cells.</i> J Neuroinflammation. 2016 . 3;13(1):136. doi: 10.1186/s12974-016-0603-x	5,102	40
H6	Kozela E. ^{# §} , Haj C. [#] , Hanuš L., Chourasia M., Shurki A., Juknat A., Kaushansky N., Mechoulam R., Vogel Z. <i>HU-446 and HU-465, Derivatives of the Non-psychoactive Cannabinoid Cannabidiol, Decrease the Activation of Encephalitogenic T Cells.</i> Chem Biol Drug Des. 2016 . 87(1):143-53. doi: 10.1111/cbdd.12637	2,396	25
H7	Kozela E. [§] , Juknat A., Vogel Z. <i>Modulation of Astrocyte Activity by Cannabidiol, a Nonpsychoactive Cannabinoid.</i> Int J Mol Sci. 2017 . 31;18(8):1669. doi: 10.3390/ijms18081669	3,687	30
H8	Kozela E. [§] , Krawczyk M., Kos T., Juknat A., Vogel Z., Popik P. <i>Cannabidiol Improves Cognitive Impairment and Reverses Cortical Transcriptional Changes Induced by Ketamine, in Schizophrenia-Like Model in Rats.</i> Mol Neurobiol. 2020 . 57(3):1733-1747. doi: 10.1007/s12035-019-01831-2	5,590	100
Podsumowanie		34,351	334

Symbole:

równorzędny wkład

§ autor korespondencyjny

@ wartość IF w roku ukazania się publikacji; Wartości punktowe MNiSW wg. wykazów obowiązujących w roku publikacji z uwzględnieniem zmiany systemowej skali oceniania z przedziału 0–50 na 0–200 pkt (rok 2018).

4.3 Opis wkładu własnego w publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

[H1] **Kozela E., Pietr M., Juknat A., Rimmerman N., Levy R., Vogel Z.** *Cannabinoids Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol differentially inhibit the lipopolysaccharide-activated NF- κ B and interferon- β /STAT proinflammatory pathways in BV-2 microglial cells.* *Journal of Biological Chemistry*, 2010. 285 (3), 1616-1626. doi: 10.1074/jbc.M109.069294

Mój wkład w przygotowanie publikacji obejmował sformułowanie koncepcji badawczej dotyczącej porównania mechanizmów wewnątrzkomórkowych działania przeciwzapalnego głównych fitokannabinoidów. Byłam odpowiedzialna za zaplanowanie, optymalizację i realizację całości cyklu eksperymentalnego, w tym (a) prowadzenie hodowli komórkowych, (b) dobór i kalibrację parametrów w testach aktywności prozapalnej oraz cytotoksyczności CBD i THC, a także (c) analizę molekularnych mechanizmów odpowiedzi komórkowej na kannabinoidy. Ponadto dokonałam pełnej analizy statystycznej i interpretacji wyników, przygotowałam manuskrypt wraz z materiałem ilustracyjnym i tabelarycznym, a także pełniłam kluczową rolę w procesie redakcyjnym, przygotowując odpowiedzi na uwagi recenzentów. Praca cytowana 244 razy (według Web of Science, aktualne na dzień 25.03.2026).

[H2] **Kozela E. [#], Lev N. [#], Kaushansky N., Eilam R., Rimmerman N., Levy R., Ben-Nun A., Juknat A. [#], Vogel Z. [#].** *Cannabidiol inhibits pathogenic T cells, decreases spinal microglial activation and ameliorates multiple sclerosis-like disease in C57BL/6 mice.* *Br J Pharmacol*. 2011. 163(7):1507-19. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01379.x.

Mój wkład w przygotowanie publikacji (wskazany jako równorzędny wkład autorski) obejmował współautorstwo koncepcji badawczej oraz planowanie i koordynację prac eksperymentalnych we współpracy z jednostkami zewnętrznymi. Moje zadania badawcze koncentrowały się na realizacji analiz histochemicznych tkanek *ex vivo* oraz prowadzeniu badań *in vitro*. Kluczowym elementem mojego wkładu była integracja, analiza statystyczna oraz interpretacja wyników uzyskanych na różnych etapach projektu (model zwierzęcy, komórkowy, analizy tkankowe). Opracowałam pierwotną wersję manuskryptu oraz przygotowałam warstwę ilustracyjną (ryciny 2–8 oraz opracowanie graficzne ryciny 1). Ponadto byłam odpowiedzialna za merytoryczne przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów w toku procesu wydawniczego w konsultacji z resztą zespołu. Praca cytowana 166 razy.

[H3] **Kozela E. ^s, Juknat A., Kaushansky N., Rimmerman N., Ben-Nun A., Vogel Z.** *Cannabinoids decrease the *th17* inflammatory autoimmune phenotype.* *J Neuroimmune Pharmacol*. 2013. 8(5):1265-76. doi: 10.1007/s11481-013-9493-1.

W ramach prezentowanej pracy byłam odpowiedzialna za pełny cykl badawczy, od konceptualizacji, przez realizację, aż po analizę końcową wyników, pełniłam funkcję **autora korespondencyjnego**. Kluczowym osiągnięciem o charakterze metodologicznym była moja autorska modyfikacja modelu *in vitro* służącego do badania autoimmunologicznych, encefalitogennych limfocytów T. Wprowadzone zmiany pozwoliły na detekcję poziomu cytokin oraz analizę interakcji międzykomórkowych, co stanowiło istotne rozszerzenie możliwości pierwotnego modelu. W toku prac zoptymalizowałam szereg technik, w tym pomiary proliferacji limfocytów metodą radiometryczną ($[^3\text{H}]$ -tymidyna), cytometrię przepływową, qPCR oraz testy immunoenzymatyczne (ELISA). Dokonałam integracji danych i analizy porównawczej, przygotowałam pełną wersję manuskryptu wraz z dokumentacją graficzną oraz opracowałam odpowiedzi na uwagi recenzentów, w konsultacji z pozostałymi członkami zespołu. Praca cytowana 100 razy.

[H4] **Kozela E. [§], Juknat A., Kaushansky N., Ben-Nun A., Coppola G., Vogel Z. Cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid, leads to EGR2-dependent anergy in activated encephalitogenic T cells. *J Neuroinflammation*. 2015. 15; 12:52. doi: 10.1186/s12974-015-0273-0.**

W prezentowanej pracy pełniłam rolę kierownika projektu oraz głównego wykonawcy, co zostało sformalizowane **statusem autora korespondencyjnego**. Byłam odpowiedzialna za opracowanie całościowej koncepcji badań, w której zintegrowałam autorski model komórkowy z metodami selekcji immunomagnetycznej. Zaprojektowałam, wykonałam i/lub nadzorowałam wieloparametryczne analizy cytometryczne, a także badania biochemiczne i transkrypcyjne, wykorzystując przy tym nowoczesne platformy bioinformatyczne do interpretacji danych. Dokonałam integracji uzyskanych wyników, przygotowałam manuskrypt oraz dokumentację graficzną. Jako autor korespondencyjny samodzielnie prowadziłam proces redakcyjny, przygotowując merytoryczne odpowiedzi na uwagi recenzentów w konsultacji z innymi członkami zespołu. Praca cytowana 39 razy.

[H5] **Kozela E. [§], Juknat A., Gao F., Kaushansky N., Coppola G., Vogel Z. Pathways and gene networks mediating the regulatory effects of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabinoid, in autoimmune T cells. *J Neuroinflammation*. 2016. 3;13(1):136. doi: 10.1186/s12974-016-0603-x**

W prezentowanej pracy pełniłam rolę koordynatora projektu oraz głównego wykonawcy, sprawując **funkcję autora korespondencyjnego**. Odpowiadałam za sformułowanie koncepcji badawczej oraz realizację etapu eksperymentalnego, obejmującego izolację populacji limfocytów T i przygotowanie mRNA do sekwencjonowania transkryptomicznego. Kluczowym aspektem mojej aktywności było zarządzanie współpracą międzynarodową z zespołem prof. Giovanniego Coppoli (UCLA, USA). Koordynowałam proces logistyczny oraz merytoryczny, w tym transport próbek i przepływ danych między ośrodkami. Samodzielnie przeprowadziłam analizy funkcjonalne z wykorzystaniem platformy *Ingenuity Pathway Analysis* (IPA) oraz dokonałam integracji danych bioinformatycznych z wynikami walidacji biochemicznej i molekularnej (ELISA, qPCR). Przygotowałam pełną strukturę manuskryptu, dokumentację graficzną, materiały uzupełniające (*Supplementary Data*). Współ-edytowałam Rycinę 6 na podstawie opracowanych modułów genów w analizie WGCNA, wykonanej przez zespół profesora Coppoli. Jako autor korespondencyjny przygotowałam odpowiedzi na recenzje we współpracy z partnerami z USA. Praca cytowana 70 razy.

[H6] **Kozela E. ^{#§}, Haj C. [#], Hanuš L., Chourasia M., Shurki A., Juknat A., Kaushansky N., Mechoulam R., Vogel Z. HU-446 and HU-465, Derivatives of the Non-psychoactive Cannabinoid Cannabidiol, Decrease the Activation of Encephalitogenic T Cells. *Chem Biol Drug Des*. 2016. 87(1):143-53. doi: 10.1111/cbdd.12637**

W prezentowanej pracy pełniłam **rolę autora korespondencyjnego** oraz głównego koordynatora badań o charakterze interdyscyplinarnym. Zaprojektowałam i wykonałam doświadczenia *in vitro* oraz dokonałam integracji wyników pochodzących z różnych dziedzin: syntezy nowych pochodnych CBD, analiz wiązania receptorowego oraz zaawansowanych modelowań *in silico*. Zarządzałam merytorycznym przepływem informacji pomiędzy współpracownikami z kilku wiodących ośrodków i zespołów (m.in. zespoły prof. Mechoulama, dr Hanuša, dr Shurki, dr Mukesh). Dokonałam interpretacji uzyskanych danych, przygotowałam tekst manuskryptu oraz opracowałam dokumentację graficzną (ryciny 2–4). Jako autor korespondencyjny zarządzałam procesem recenzji, przygotowując merytoryczne odpowiedzi na uwagi recenzentów we współpracy z konsorcjum badawczym. Praca cytowana 24 razy.

[H7] **Kozela E. [§], Juknat A., Vogel Z. Modulation of Astrocyte Activity by Cannabidiol, a Nonpsychoactive Cannabinoid. *Int J Mol Sci*. 2017. 31;18(8):1669. doi: 10.3390/ijms18081669**

W prezentowanej pracy o charakterze przeglądowym dokonałam syntezy literatury, koncentrując się na modulacji funkcji astrocytów przez niepsychotropowy CBD. Moim zadaniem było krytyczne omówienie aktualnego stanu wiedzy oraz wskazanie nowych kierunków badawczych w obszarze modulacji neurogleju przez ten fitokannabinoid. W publikacji tej wykorzystałam do przygotowanej przeze mnie ryciny podsumowującej (Rycina 1) autorskie wyniki immunocytochemiczne uzyskane w czasie moich wcześniejszych badań astrocytów *in vitro*. Jako **autor korespondencyjny** sformułowałam tekst manuskryptu oraz zarządzałam procesem redakcyjnym, uwzględniając rekomendacje recenzentów i wzbogacając pracę o istotne komentarze merytoryczne. Praca cytowana 52 razy.

[H8] Kozela E. [§], Krawczyk M., Kos T., Juknat A., Vogel Z., Popik P. *Cannabidiol Improves Cognitive Impairment and Reverses Cortical Transcriptional Changes Induced by Ketamine, in Schizophrenia-Like Model in Rats*. *Mol Neurobiol.* 2020. 57(3):1733-1747. doi: 10.1007/s12035-019-01831-2

W prezentowanej publikacji pełniłam funkcję koordynatora projektu oraz głównego wykonawcy części molekularnej, sprawując jednocześnie **rolę autora korespondencyjnego**. Brałam aktywny udział w projektowaniu założeń eksperymentu behawioralnego realizowanego przez zespół prof. Piotra Popika (IF PAN), służąc doradztwem w zakresie farmakologii CBD. Moim głównym zadaniem była realizacja wielkoskalowej analizy transkryptomicznej tkanki mózgowej szczurów (RNA-Seq), którą przeprowadziłam w the *Nancy and Stephen Grand Israel National Center for Personalized Medicine* (Naukowy Instytut Weizmanna, Izrael). Odpowiadałam za cały cykl analityczny: od izolacji i kontroli jakości mRNA, po samodzielną analizę bioinformatyczną szlaków sygnałowych (platforma IPA) oraz walidację molekularną (qPCR). Dokonałam pełnej integracji wyników behawioralnych z danymi transkryptomicznymi, przygotowałam manuskrypt wraz z dokumentacją graficzną oraz jako autor korespondencyjny merytorycznie prowadziłam proces redakcyjny. Praca cytowana 36 razy.

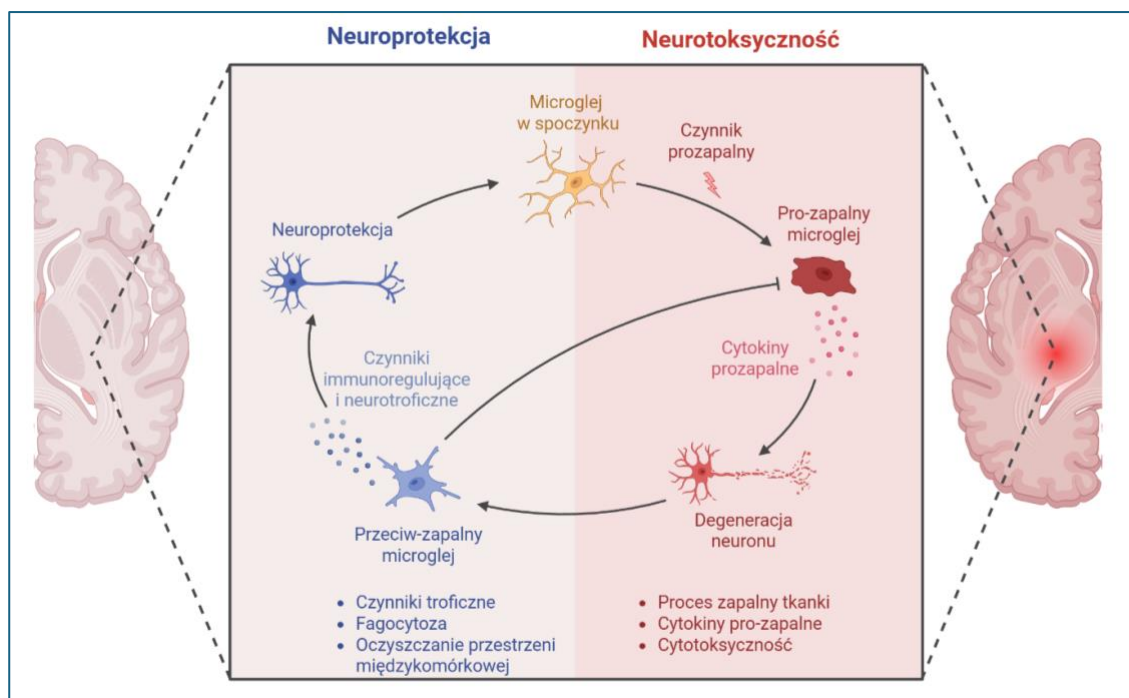
4.4 Omówienie celu naukowego osiągnięcia naukowego oraz otrzymanych wyników

4.4.1 Kontekst historyczny badań nad medycznym *Cannabis*

Cannabis jest jedna z kilku roślin wykorzystywanych przez ludzi od tysiącleci do celów rekreacyjnych, rytualnych oraz medycznych¹. Wiedza na temat medycznego działania *Cannabis* i jego produktów (marihuana, haszysz) ewoluowała od anegdotycznych lecz spójnych informacji do rygorystycznej nauki molekularnej, która ostatecznie przeddefiniowała nasze rozumienie ludzkiej fizjologii^{2,3}. Impulsem do rozpoczęcia badań nad mechanizmami działania *Cannabis* były, między innymi, pierwsze udane izolacje biologicznie aktywnych związków z konopii *Cannabis* (kannabinoidów), czyli kannabinolu (CBN) i **kannabidiolu (CBD)**⁴. Struktura CBD została wyjaśniona dopiero w 1963 r. przez Raphaela Mechoulama i Youvala Shvo w Instytucie Weizmanna w Izraelu⁵. Prawdziwym przełomem dla nauki o medycznym zastosowaniu *Cannabis* był rok 1964, w którym Raphael Mechoulam i Yehiel Gaoni wyizolowali i określili strukturę **Δ9-tetrahydrokannabinolu (THC)**, głównego psychoaktywnego składnika rośliny⁶. THC na długo pozostał synonimem bioaktywności *Cannabis*. Kolejne dekady przyniosły odkrycie i dogłębne opisanie endogennego systemu kannabinoidowego w tym receptora CB1 w mózgu ssaków⁷ oraz receptora CB2 w komórkach odpornościowych⁸. Następnie, zespół Mechoulama (wtedy już pracujący na Uniwersytecie Hebrajskim w Jerozolimie) wyizolował z tkanek główne endogenne ligandy (endokannabinoidy), czyli anandamid⁹ oraz 2-arachidonyloglicerol (2-AG, wspólnie z grupą Zvi Vogla z Naukowego Instytutu Weizmanna)¹⁰. Kolejne lata przyniosły opisanie syntezy i metabolizmu endokannabinoidów^{11,12} oraz pozostałych ligandów endogennych. Składowe te objęte zostały wspólną nazwą kannabinoidomu, ze względu na swoją złożoną strukturę, wielość elementów, sieć powizań i regulację (ang. *endocannabinoidome*, *expanded endocannabinoid system* czyli rozszerzony układ endokannabinoidowy)¹³.

Obecnie wiadomo, że **THC** jest ligandem receptorów CB1 i CB2 „naśladującym” endogenne anandamid¹⁴. THC jako ligand obu receptorów, przez długie lata stanowił modelowy związek w badaniach nad właściwościami i potencjałem terapeutycznym *Cannabis*. Selektywne użycie THC przysłużyło się do dogłębnego opisania złożonego układu endokannabinoidowego a równocześnie pozwoliło na szerokie i rygorystycznie udokumentowanie i wyjaśnienie właściwości THC, np. wykazanie, że jego działanie psychoaktywne jest mediowane przez neuronalne receptory CB1. W licznych modelach zwierzęcych i klinicznych potwierdzono działanie przeciwbólowe THC, jego wpływ na percepcję i procesy sensoryczne, pamięć i uczenie się, emocje, apetyt, jak również działanie przeciwzapalne i neuroprotektoryjne^{2,15}. Badania nad THC przyczyniły się do sformułowania koncepcji, zgodnie z którą układ endokannabinoidowy pełni funkcję nadrzędnego systemu homeostatycznego. Główne role układu endokannabinoidowego zostały w przekonującym uproszczeniu przedstawione jako działania obejmujące zasady „odpoczywaj, jedz, śpij, zapominaj i chroń”^{11,12}. Dysfunkcja tego układu może przyczyniać się do wielu rozległych stanów patologicznych^{16,17}.

Badania nad fitokannabinoidami i systemem endokannabinoidowym zbiegły się w czasie z przełomem w neurobiologii, polegającym na opisanu niezwykle ciekawej komunikacji między OUN a układem odpornościowym, zarówno peryferyjnym, jak i rezydującym i funkcjonującym w mózgu, pod postacią komórek **mikrogleju**^{18,19} (**Schemat 1**). Dynamiczny i fascynujący rozwój tej dziedziny, **neuroimmunologii**^{18,19}, pozwolił opisać, że THC wykazuje działanie neuroprotektoryjne i przeciwzapalne w modelach chorób neurodegeneracyjnych i autoimmunologicznych^{20–24}, a nawet neuropsychiatrycznych¹⁵.



Schemat 1. Rola komórek mikrogleju w procesach neurozapalnych i homeostatycznych (neuroprotekcji) w tkance ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Schemat utworzony w oparciu o Biorender.com

Badania nad modulacją procesów neuroimmunologicznych i neurozapalnych przez kannabinoidy stanowiły dla mnie wówczas fascynującą dziedzinę nauki. Ta ciekawość zmotywowała mnie o do ubiegania się o stypendium podoktorskie w Naukowym Instytucie Weizmanna w Izraelu w grupie profesora Zvi Vogla z Zakładu Neurobiologii, jednego z pionierów badań nad *Cannabis* i układem kannabinoidowym (a wcześniej opioidowym). Po przyznaniu mi tego prestiżowego stypendium przez Feinberg Graduate School w Instytucie Naukowym Weizmanna, staż podoktorski rozpoczął w lutym 2007 roku. Praca w zespole profesora Vogla była dla mnie niezwykle inspirującym doświadczeniem, a jego stałe merytoryczne wsparcie oraz motywująca postawa stały się fundamentem mojego dalszego rozwoju naukowego. Ta udana współpraca, wykraczająca poza ramy jednego laboratorium, zaowocowała również synergia badawczą między kilkoma zespołami, w tym z zespołem profesora Mechoulama. **Wyniki tych badań składają się na trzon przedstawionej rozprawy habilitacyjnej.**

4.4.2 Potencjał terapeutyczny CBD: od nieaktywnego fitokannabinoidu do wielocelowego modulatora układu endokannabinoidowego

Kannabidiol (cannabidiol, CBD) stanowi drugi pod względem zawartości fitokannabinoid występujący w *Cannabis*. Związek ten nie oddziałuje bezpośrednio z ortosterycznymi miejscami wiązania receptorów kannabinoidowych CB1 i CB2, w konsekwencji nie wykazuje działania psychotropowego mediowanego przez mózgowe CB1¹⁴. Paradoksalnie, z tego względu przez wiele lat CBD pozostawał poza głównym nurtem zainteresowań naukowych i biomedycznych, funkcjonując jako substancja uznawana za farmakologicznie nieaktywną i fitokannabinoid pozbawiony istotnego znaczenia terapeutycznego²⁵. Stan ten utrzymywał się pomimo wczesnych, pionierskich doniesień z lat

70-tych zespołu Elisaldo Carlini z Brazylii, już wtedy dokumentujących przeciwdrgawkowe oraz przeciwpowietrzne właściwości CBD^{26,27}. Zmiana nastąpiła po kolejnej przełomowej pracy zespołów Mechoulama i Marca Feldmanna (Kennedy Institute of Rheumatology, London, UK), których wspólne badania wykazały, że podawanie CBD myszom z indukowanym kolagenem zapaleniem stawów (ang. *murine collagen-induced arthritis* (CIA)), poprawiło obraz kliniczny choroby i zahamowało procesy zapalne²⁸. Praca ta zapoczątkowała „renesans” zainteresowania CBD, prowadząc do intensywnych badań nad jego potencjałem terapeutycznym w obszarach takich jak epilepsja lekooporna, zaburzenia lękowe, choroby neurodegeneracyjne, ból czy stany zapalne^{15,25,29}. Obecnie, w oparciu o modele zwierzęce i prace kliniczne, wiadomo, że CBD posiada właściwości przeciwlękowe, przeciwdepresyjne, przeciwpowietrzne, przeciwdrgawkowe, przeciwwymiotne, przeciwtętniujące, przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe^{25,29}. Jedną z najciekawszych właściwości CBD, jest jego zdolność do antagonizowania (przeciwdziałania) efektów THC^{15,30}.

Następujące później badania nad CBD przyniosły ogromny postęp w zrozumieniu złożonej farmakologii tego związku. CBD ma zdolność do modulacji licznych układów sygnałowych niezależnych od klasycznych receptorów kannabinoidowych. Tym samym, badania z użyciem CBD przeddefiniowały nasze pojęcie o systemie endokannabinoidowym i wsparły uznanie jego „rozszerzonej” wersji określanej nazwą kannabidiomu¹³. Wykazano, że CBD oddziałuje z wieloma celami molekularnymi, zależnie od modelu badawczego¹⁵. Główne mechanizmy obejmują: (i) modulację receptorów kannabinoidowych i pokrewnych: bezpośrednie i pośrednie działanie na receptor CB1 (jako ujemny modulator allosteryczny), CB2, GPR55 oraz GPR18; (ii) wpływ na kanały jonowe, receptory przejściowego potencjału (TRP): np. TRPV1, TRPV2, TRPA1 i TRPM8, należące do „rozszerzonego” układu endokannabinoidowego; (iii) interakcje z receptorami i enzymami spoza układu endokannabinoidowego: receptory serotoninowe 5-HT1A, jądrowe PPARγ, wpływ na enzymy metabolizujące endokannabinoidy (np. hydrolaza amidów kwasów tłuszczowych – FAAH), kaskadę kwasu arachidonowego (AA), sygnalizację tlenu azotu (NO), cytokiny, ścieżki redoks oraz mechanizmy apoptozy^{13,15,30,31}.

Podsumowując, CBD jako substancja niepsychotomimetyczna, stało się niezwykle atrakcyjnym obiektem badań a jego liczne punkty uchwytu podkreśliły pleiotropowe działanie CBD, wykraczające poza klasyczny system kannabinoidowy¹⁵. Tym samym CBD zyskał status obiecującego kandydata, który w wielu obszarach medycyny mógłby stanowić bezpieczniejszą alternatywę nie tylko dla kontrowersyjnego, odurzającego THC, ale też innych związków i terapii.

4.4.3 Cel naukowy osiągnięcia habilitacyjnego

Opisywane przeze mnie osiągnięcie badawcze, jest istotną częścią intensywnych prób zrozumienia działania CBD i innych, naturalnych oraz syntetycznych kannabinoidów, w procesach neurozapalnych. Prezentowane osiągnięcie habilitacyjne stanowi podsumowanie cyklu badań przeprowadzonych przeze mnie w ramach stażu podoktorskiego w Instytucie Naukowym Weizmanna w Rehovot (Izrael), kontynuowanego na Uniwersytecie w Tel Awiwie oraz podczas pracy na stanowisku asystenta naukowego (ang. *research associate*) w tym ostatnim ośrodku. Badania te realizowane były w laboratoriach profesora Zvi Vogla (Department of Neurobiology, Weizmann Institute of Science oraz w The Dr. Miriam and Sheldon G. Adelson Center for the Biology of Addictive Diseases, Tel Aviv University).

Przedstawiona w niniejszym autoreferacie działalność naukowa, obejmuje spójny tematycznie cykl publikacji poświęcony identyfikacji międzykomórkowych, komórkowych i molekularnych mechanizmów modulacji procesów neurozapalnych przez kannabinoidy, ze szczególnym uwzględnieniem niepsychotomimetycznego CBD. Moje badania koncentrowały się na schorzeniach

OUN o istotnym znaczeniu klinicznym i społecznym, takich jak stwardnienie rozsiane (*multiple sclerosis*, MS), schizofrenia, a w dalszym ciągu moich badań, depresja (nie wchodzących w skład tego osiągnięcia habilitacyjnego ale omówionych w uzupełnieniu do niego). Zaprojektowany i konsekwentnie realizowany przeze mnie cykl badań opierał się na wieloetapowym podejściu eksperymentalnym, obejmującym zastosowanie uzupełniających się modeli badawczych oraz szerokiego spektrum nowoczesnych technik molekularnych, komórkowych i biochemicznych. Pełniłam wiodącą rolę w projektowaniu i interpretacji badań, które zrealizowano przy współudziale wskazanych niżej naukowców i grup badawczych:

- Profesor Zvi Vogel i jego zespół dr Ana Juknat, Rivka Levy, Maciej Pietr (zmarł w 2009), dr Neta Rimmerman, Neurobiology Department, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
- Dr Nirit Lev, Neurology Department, Rabin Medical Center, School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel [H2],
- Dr Raya Eilam, Histology Department, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel [H2]
- Dr Nathali Kaushansky [H2, H3, H4, H5, H6] i profesor Avraham Ben-Nun ([H2, H3, H4], zmarł w 2019), Immunology Department, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel
- Profesor Giovanni Coppola [H4, H5] oraz Mrs Fuying Gao [H5], Departments of Psychiatry and Neurology, Semel Institute for Neuroscience and Human Behavior, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, CA 90095, USA
- Dr Christeene Haj, Dr Lumir Hanuš, Dr Avital Shurki, Profesor Raphael Mechoulam (zmarł w 2023), Institute for Drug Research, Faculty of Medicine, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel [H6]
- Dr Mukesh Chourasia, Department of Pharmacoinformatics, National Institute of Pharmaceutical Education and Research, Hajipur, Bihar, India [H6]
- Dr Tomasz Kos, Mgr Martyna Krawczyk, Profesor Piotr Popik, Zakład Neurobiologii Behawioralnej i Badania Nowych Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków, Polska [H8]

Szczegółowe określenie wkładu współautorów w publikacje H1-H8 zostały zawarte w oświadczeniach współautorów i dołączone w formie załączników. Ze względu na trudności w uzyskaniu oświadczeń od kilku współautorów wynikające z braku aktualnych danych kontaktowych (i pomimo podjętych prób) lub zakończenia przez nich aktywności zawodowej, jako autor korespondencyjny prac H3-H8 deklaruje pełną odpowiedzialność za wykazany wkład autorski oraz stronę merytoryczną tych publikacji.

* podane adresy, nazwy laboratoriów i/lub jednostek naukowych odnoszą się do miejsca pracy badaczy w czasie wykonywania omawianych publikacji (ang. *affiliation*).

4.4.4 Skrócony opis osiągnięcia habilitacyjnego

W wyniku podjętych badań jako pierwsza wykazałam istotne i interesujące różnice w mechanizmach działania przeciwzapalnego pomiędzy THC a CBD w mikrogłęju, kluczowej populacji komórek odpornościowych OUN [H1]. Ponadto, we współpracy z zespołem neurologów z Kliniki Neurologii Szkoły Medycznej Uniwersytetu w Tel Awiwie (dr Nirit Lev, Department of Neurology Meir Medical Center), jako pierwsi wykazaliśmy przeciwzapalne, tym samym neuroprotektoryjne działanie CBD w mysim modelu chorób autoimmunologicznych, konkretnie modelu stwardnienia rozsianego [H2]. Zaintrygowana tymi wynikami, podjęłam wieloletnią próbę scharakteryzowania molekularnego mechanizmu przeciwnieurozapalnego działania CBD [H2, H3, H4, H5, H7]. W tym celu, we współpracy z zespołem prof. Avrahama Ben-Nuna i dr Nathali Kaushansky z Zakładu Immunologii Instytutu Weizmanna, wykorzystałam model *in vitro* oparty na hodowlach encefalitogennych limfocytów T swoistych dla białka oligodendrocytów. Stosując autorskie modyfikacje tego modelu oraz interdyscyplinarne techniki analityczne, (w tym wysokoprzepustowa transkryptomika we współpracy z profesorem Giovanni Coppola, UCLA, CA, USA), opisałam unikalne właściwości CBD odpowiedzialne za jego działanie przeciwzapalne [H3, H4, H5, H6]. Moje badania dowiodły, że związek ten nie działa tylko poprzez ogólne (często cytotoksyczne) hamowanie reakcji prozapalnej, lecz poprzez precyzyjną modulację i wzmacnianie endogennych mechanizmów wygaszania stanu zapalnego [H4, H5]. Równolegle, we współpracy z grupą prof. Raphaela Mechoulama z Jerozolimy, badałam w opisanym modelu komórkowym syntetyczne pochodne CBD, szukając związków o ulepszonym profilu farmakologicznym [H6]. W skład obecnego osiągnięcia wchodzi również praca dotycząca molekularnych mechanizmów prokognitywnych efektów CBD w szczurzym modelu schizofrenii, realizowana we współpracy z zespołem profesora Piotra Popika z IF PAN [H8]. W oparciu o zaawansowane analizy transkryptomiczne OUN, w pracy tej wykazałam, że poprawa funkcji poznawczych po podaniu CBD koreluje ze zmianami w obrębie neurogłęju i angażuje białka odpowiedzi immunologicznej i immunoregulacyjnej [H8]. Wyniki moich badań skłoniły mnie też do napisania pracy przeglądowej, w której opisuję potencjalną rolę astrocytów, największej populacji komórek glejowych w mózgu, w przeciwnieurozapalnych i neuroprotektoryjnych właściwościach CBD [H7].

Podsumowując, moje osiągnięcie naukowe polega na wykazaniu niekonwencjonalnego mechanizmu działania niepsychotropowego kannabinoidu, CBD, który poprzez regulację aktywności neurogłęju oraz komórek o potencjale neurotoksycznym, wykazuje silne działanie przeciwzapalne, immunoregulacyjne, tym samym neuroprotektoryjne i prokognitywne, chroniąc integralność funkcjonalną OUN.

4.4.5 Omówienie wyników badań

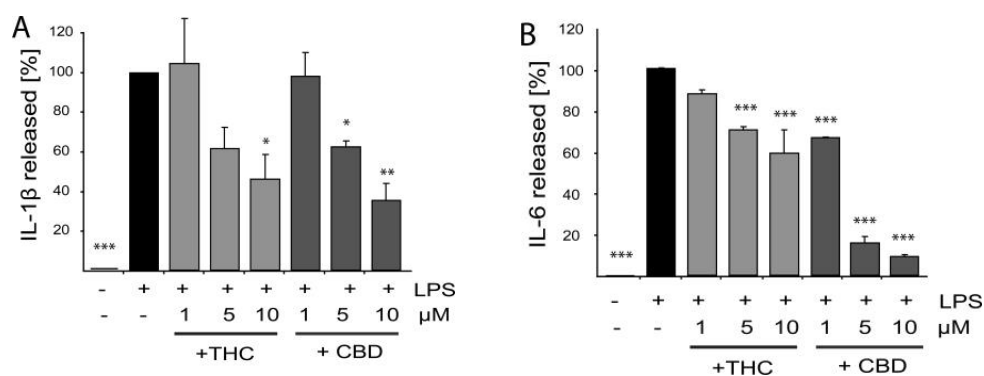
[H1] **Kozela E., Pietr M., Juknat A., Rimmerman N., Levy R., Vogel Z. *Cannabinoids Δ9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol differentially inhibit the lipopolysaccharide-activated NF-κB and interferon-β/STAT proinflammatory pathways in BV-2 microglial cells. Journal of Biological Chemistry*, 2010. 285 (3), 1616-1626. doi: 10.1074/jbc.M109.0692.**

Ówczesne doniesienia literaturowe wskazywały, że kannabinoidy, głównie psychoaktywny THC, wykazują istotny potencjał przeciwzapalny w modelach *in vitro* i *in vivo*, zmniejszając dojrzewanie, proliferację, migrację, adhezję oraz wydzielanie cytokin przez aktywowane komórki układu odpornościowego^{32,33}. Właściwości te wykazano dla kilku schorzeń o podłożu neurodegeneracyjnym, w tym stwardnienie rozsiane (SM), choroba Alzheimera oraz choroba

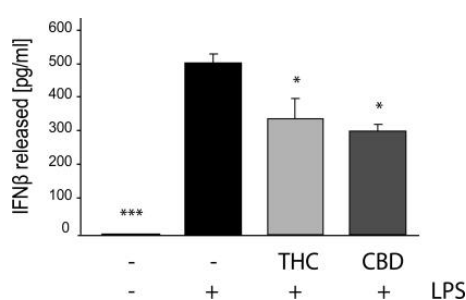
Parkinsona³⁴. Mimo udokumentowanego potencjalnego wpływu terapeutycznego, wewnątrzkomórkowe mechanizmy odpowiedzialne za to działanie pozostały niewyjaśnione.

W niniejszej pracy [H1] podjęłam próbę scharakteryzowania aktywności dwóch głównych fitokannabinoidów, THC oraz CBD. Wykorzystując linię komórkową mysiego mikrogleju (BV-2³⁵) stymulowaną lipopolisacharydem (LPS), przeanalizowałam kaskadę procesów immunologicznych na trzech poziomach, (i) **sekrecji**: uwalniania mediatorów zapalnych (cytokin) przez komórki mikrogleju, (ii) **sygnalizacji**: zmian w aktywacji białek wewnątrzkomórkowych stanowiących szlaki prozapalne mikrogleju, (iii) **transkrypcji**: modulacji ekspresji genów (mRNA) mikrogleju.

Moje badania wykazały, że zarówno THC, jak i CBD skutecznie hamują produkcję oraz uwalnianie kluczowych cytokin prozapalnych: interleukiny 1 β (IL-1 β), interleukiny 6 (IL-6, **Rycina H1-1**) oraz interferonu β (IFN β) (**Rycina H1-2**). Co istotne, wykazałam, że działanie to zachodzi niezależnie od klasycznych receptorów kannabinoidowych CB1 i CB2, a także nie angażuje receptorów wrażliwych na abnormal-CBD, syntetyczny izomer CBD [H1].



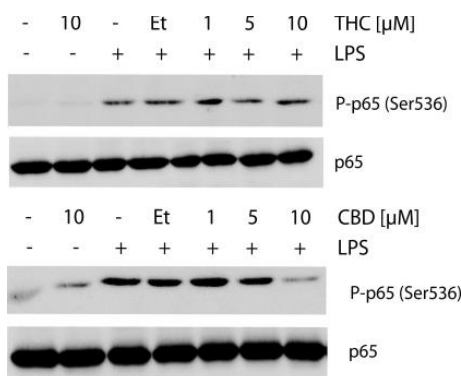
Rycina H1-1. THC i CBD zmniejszają indukowane przez LPS uwalnianie cytokin IL-1 β oraz IL-6 z komórek mikrogleju BV-2. BV-2 poddano 2-godzinnej inkubacji wstępnej z THC lub CBD w podanych stężeniach, a następnie aktywowano przez 4 godziny LPS (100 ng/ml). Pomiar IL-1 β (A) oraz IL-6 (B) w supernatancie metodą ELISA. *Symbole: * versus BV-2 aktywowane LPS.*



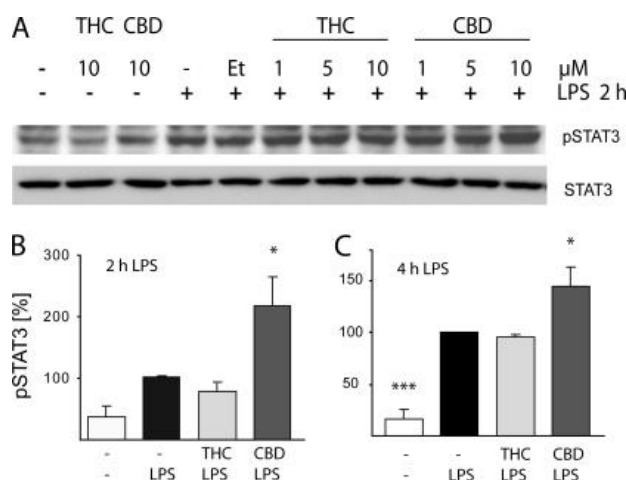
Rycina H1-2. THC i CBD zmniejszają indukowane przez LPS uwalnianie IFN β z komórek mikrogleju BV-2. Warunki eksperymentu jak dla Ryciny H1-1, THC lub CBD 10 μ M. Stężenie IFN β oznaczono metodą ELISA. *Symbole: * versus BV-2 aktywowane LPS.*

Kluczową i najciekawszą obserwacją był fakt, że THC i CBD modułują stan zapalny poprzez jedynie częściowo pokrywające się szlaki sygnałowe. Zarówno THC jak i CBD ingerują w oś prozapalną TRIF/IFN/STAT³⁶, prowadząc do supresji czynnika transkrypcyjnego, przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji STAT1 (**Rycina H1-3**). Moje analizy wskazały jednak, że CBD charakteryzuje się szerszym spektrum aktywności molekularnej niż THC. Jego unikalność opiera się na dwóch działaniach: (i) **silniejszej od THC inhibicji szlaków prozapalnych** czyli hamowaniu

fosforylacji podjednostki p65 czynnika NF- κ B, będącego głównym regulatorem odpowiedzi immunologicznej (**Rycina H1-4**) oraz (ii) aktywacji mechanizmów homeostacyjnych - zaobserwowałam, że wyłącznie CBD indukuje wzrost fosforylacji białka czynnika transkrypcyjnego STAT3 (**Rycina H1-5**).



Rycina H1-4. CBD, lecz nie THC, redukuje indukowaną przez LPS fosforylację podjednostki p65 czynnika NF- κ B. Komórki poddano 2-godzinnej inkubacji wstępnej z CBD lub THC w podanych stężeniach, a następnie aktywacji LPS (100 ng/ml) przez 15 minut. Analiza Western blot poziomu fosfo-p65 (Ser-536, P-p65) czynnika NF- κ B. Et – etanol, rozpuszczalnik kannabinoidów w równoważnym stężeniu.



Rycina H1-5. CBD zwiększa indukowaną przez LPS fosforylację białka STAT3. Komórki BV-2 poddano inkubacji wstępnej z THC lub CBD w różnych stężeniach przed dodaniem LPS. (A) Reprezentatywne wyniki Western blot dla pSTAT3 (Tyr-705) i całkowitego STAT3. Panele (B, C) przedstawiają względne i uśrednione poziomy fosforylacji STAT3 dla LPS (B, 2 godziny LPS, C, 4 godziny). Symbole: * versus LPS. Et – etanol.

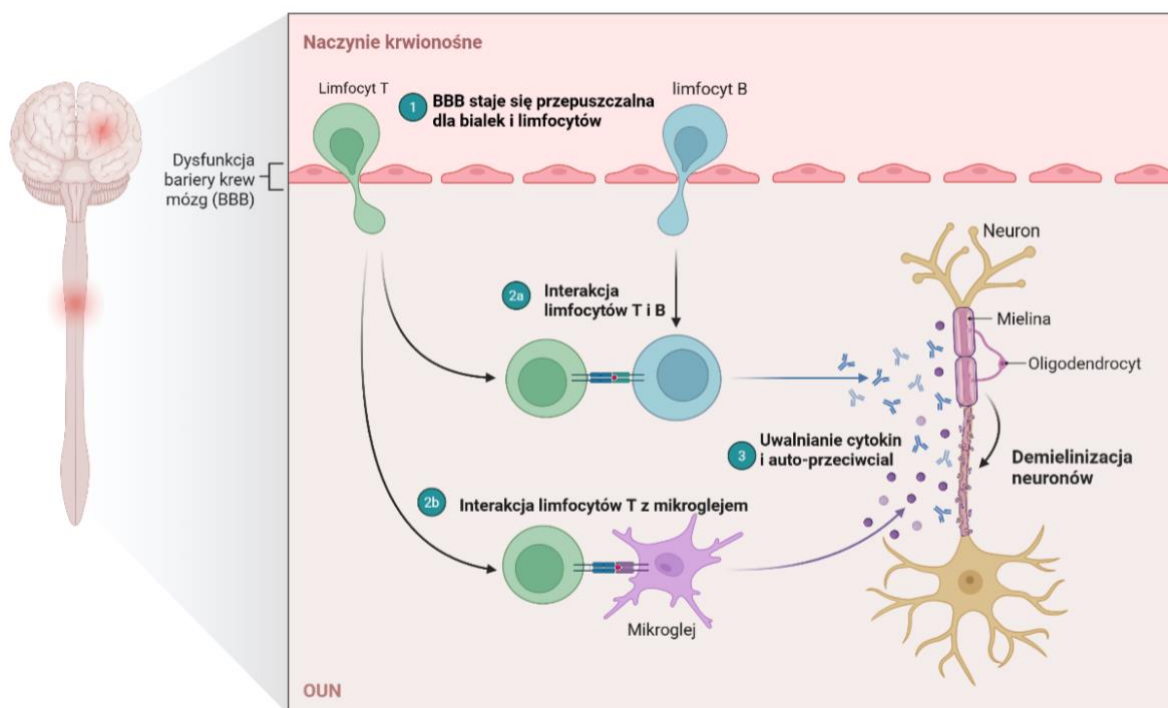
Białko STAT3 jest mediatorem tzw. odpowiedzi przeciwzapalnej. Aktywowany STAT3 translokuje do jądra komórkowego, gdzie blokuje transkrypcję genów prozapalnych (np. TNF α lub IL-6) i promuje ekspresję genów ochronnych/przeciwzapalnych (mechanizm negatywnego sprzężenia zwrotnego)³⁷. Potwierdzeniem tej tezy jest zaobserwowany przeze mnie w obecności CBD istotny spadek poziomu mRNA dla genu Socs3 (ang. *Suppressors of Cytokine Signaling*, negatywny regulator białek STAT, szczególnie STAT3) oraz chemokiny CCL2³⁶. Hamowanie CCL2 przez CBD ma kluczowe znaczenie kliniczne, ponieważ ogranicza nasilaną przez CCL2 chemotaksję obwodowych limfocytów T do ośrodkowego układu nerwowego, tym samym hamując rozprzestrzenianie się

neurozapalenia. Ta ostatnia obserwacja może wyjaśnić efekt CBD zmniejszający infiltrację limfocytów T do rdzenia kręgowego myszy EAE, opisany przeze mnie w publikacji [H2].

Podsumowując, uzyskane przez ze mnie dane dowodzą, że choć oba badane fitokannabinoidy wykazują silny potencjał neuroimmunomodulacyjny, to CBD wywiera to działanie przez dualistyczny mechanizm, (i) CBD ingeruje w sygnały prozapalne (NF- κ B, STAT1) ale też (ii) nasila naturalne procesy immunomodulacyjne poprzez oś STAT3.

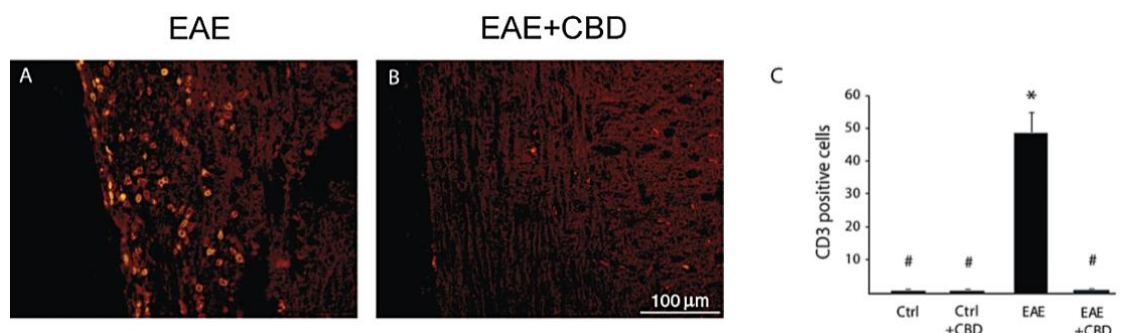
[H2] **Kozela E. #, Lev N. #, Kaushansky N., Eilam R., Rimmerman N., Levy R., Ben-Nun A., Juknat A. #, Vogel Z. #. *Cannabidiol inhibits pathogenic T cells, decreases spinal microglial activation and ameliorates multiple sclerosis-like disease in C57BL/6 mice*. Br J Pharmacol. 2011. 163(7):1507-19. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01379.x.**

Stwardnienie rozsiane (SM; ang. *Multiple Sclerosis*, MS) jest jedną z najlepiej scharakteryzowanych chorób neurodegeneracyjnych, w których kluczową rolę odgrywa proces zapalny i neurozapalny³⁸. W patogenezie SM autoreaktywne (encefalitogenne) limfocyty T migrują do OUN, inicjując procesy cytotoksyczne, w tym demielinizację, śmierć oligodendrocytów oraz degenerację aksonów. Prowadzi to do wystąpienia objawów neurologicznych (klinicznych) i postępującej niepełnosprawności. Istotnym elementem tej kaskady jest mikroglej, który pod wpływem napływających do OUN limfocytów ulega aktywacji. Poprzez uwalnianie cytokin i chemokin oraz ciągłą prezentację autoantygenów, mikroglej nasila rekrutację limfocytów T i ich polaryzację w kierunku fenotypów prozapalnych (znanych jako *Thelper 1* [Th1] i Th17), co potęguje proces destrukcji mieliny³⁸ (**Schemat 2**). Modele eksperymentalne SM potwierdziły wcześniej, że ograniczenie aktywności mikrogleju łagodzi przebieg choroby, co wskazuje na jego kluczową rolę w inicjacji i progresji MS³⁹.

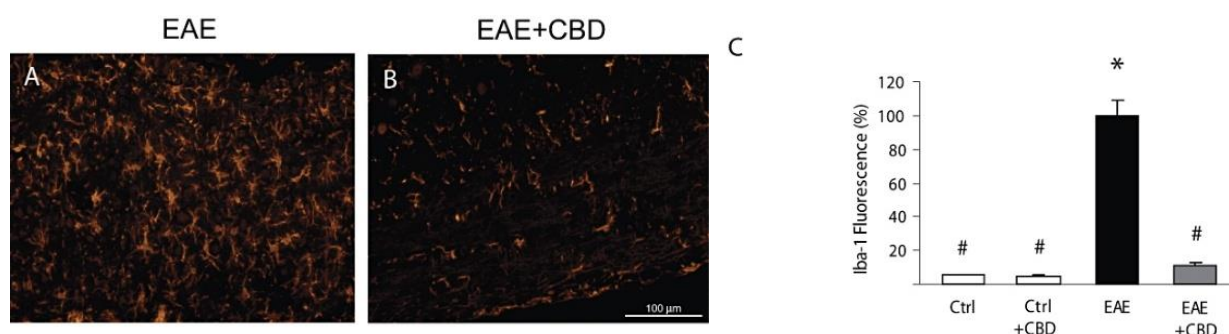


Schemat 2. Graficzne przedstawienie procesów zapalnych i neurozapalnych prowadzących w SM do demielinizacji, neurotoksyczności i dysfunkcji OUN. Skróty: BBB – ang. *blood brain barrier*, bariera krew-mózg, OUN – osłowy układ nerwowy. Schemat powstał w oparciu o *Biorender.com*.

Celem publikacji [H2] było sprawdzenie czy CBD może zahamować rozwój SM w modelach zwierzęcych tej choroby. W publikacji [H2] przedstawiam wyniki eksperymentów, w których wykorzystałam myszy model eksperymentalnego autoimmunologicznego zapalenia mózgu i rdzenia (ang. *Experimental autoimmune encephalitis* [EAE] ³⁹). W modelu tym obwodowa immunizacja myszy szczepu C57BL/6 peptydem 35-55 glikoproteiny mieliny oligodendrocytów (MOG₃₅₋₅₅) prowadzi do szybkiej, postępującej demielinizacji OUN i objawów klinicznych imitujących SM. Podawanie CBD w fazie efektorowej EAE istotnie łagodziło przebieg kliniczny i postęp choroby u myszy [H2], hamowało proliferację encefalitogennych limfocytów T (**Rycina H2-1**) oraz ograniczało aktywację mikrogleju (**Rycina H2-2**).

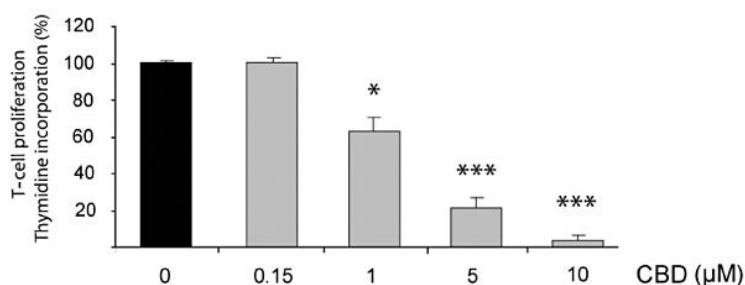


Rycina H2-1. CBD łagodzi wywołaną w modelu EAE infiltrację limfocytów T CD3+ do rdzenia kręgowego myszy. Barwienie limfocytów CD3+ w istocie białej rdzenia kręgowego myszy z EAE. (A) Myszy z EAE, (B) EAE + CBD. (C) średnie ekspresji CD3+ w grupach. Symbole: * versus grupa kontrolna (Ctrl), # versus EAE.



Rycina H2-2. CBD redukuje podwyższoną przez iniekcję MOG₃₅₋₅₅ aktywację mikrogleju w rdzeniach kręgowych myszy w modelu EAE. (A, B) Reprezentatywne barwienia mikrogleju na Iba-1 (marker aktywacji mikrogleju) w rdzeniu kręgowym. (C) Uśrednione wartości ekspresji Iba-1 u myszy kontrolnych (Ctrl) oraz myszy z EAE leczonych i nieleczonych CBD. Symbole: * versus Ctrl, # versus EAE.

Podania CBD skutkowały również zmniejszoną utratą aksonów w rdzeniu kręgowym myszy EAE [H2]. Działanie CBD opisane przy pomocy technik histochemicznych potwierdziłam później w warunkach *in vitro*, gdzie inkubowałam aktywowane autoreaktywne, encefalitogenne limfocyty pamięciowe T_{MOG} z CBD (1-10 μ M). Inkubacja z CBD prowadziła do istotnego, dawkozależnego zmniejszenia proliferacji T_{MOG} w odpowiedzi na auto-antygen (**Rycina H2-3**). Używając selektywnych antagonistów receptorów CB1 i CB2 (odpowiednio związki SR141716 lub SR144528), wykazałam, że efekt CBD jest niezależny od głównych receptorów kannabinoidowych [H2].



Rycina H2-3. CBD hamuje proliferację encefalitogennych limfocytów T_{MOG} indukowaną przez autoantigen MOG₃₅₋₅₅. Proliferację mierzono metodą inkorporacji [³H]-tymidyny. Symbole: * versus MOG (dawka 0).

Podsumowując, opisane przeze mnie w publikacji [H2] wyniki, po raz pierwszy wskazały na neuroprotektoryjne i przeciwzapalne działanie niepsychotropowego fitokannabinoidu CBD w zwierzęcym modelu SM. W publikacji tej, opisałam również po raz pierwszy redukcję ekspansji autoreaktywnych, encefalitogennych limfocytów T w odpowiedzi na CBD.

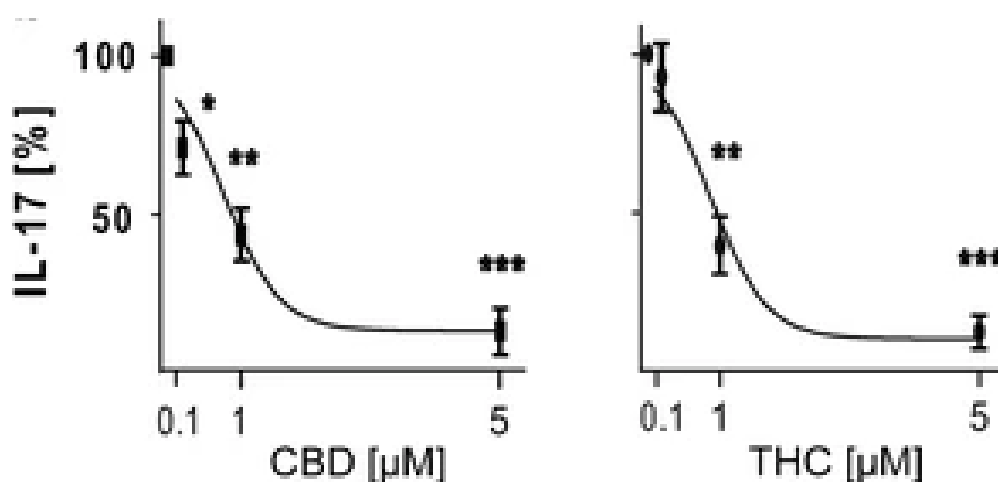
[H3] **Kozela E., Juknat A., Kaushansky N., Rimmerman N., Ben-Nun A., Vogel Z. Cannabinoids decrease the th17 inflammatory autoimmune phenotype. J Neuroimmune Pharmacol. 2013. 8(5):1265-76. doi: 10.1007/s11481-013-9493-1.**

Patologie autoimmunologiczne, w tym SM/EAE, są wywoływane przez specyficzne podgrupy limfocytów T, zwane pamięciowymi limfocytami T⁴⁰. Te auto-reaktywne limfocyty T są błędnie pobudzane przez komórki prezentujące antygen (ang. *Antigen presenting cells* [APC]) do atakowania własnych komórek organizmu, co prowadzi do degeneracji tkanek i rozwoju chorób, takich jak cukrzyca typu I, reumatoidalne zapalenie stawów czy właśnie SM. Pamięciowe limfocyty T wykazują wysoki potencjał proliferacyjny w odpowiedzi na własne antygeny (jak pokazałam w publikacji [H2]), wraz z silnymi patogennymi funkcjami efektorowymi kontrolowanymi przez specyficzne szlaki sygnałowe³⁸.

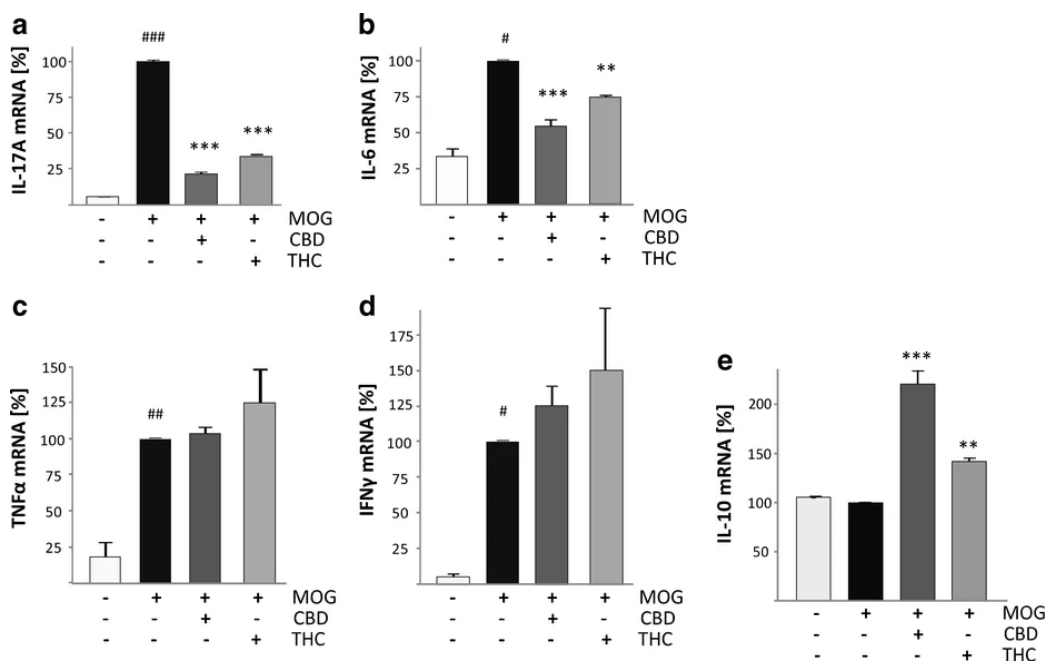
Celem kolejnych badań, było sprawdzenie czy główne fitokannabinoidy mogą zahamować aktywację patogennych, autoreaktywnych limfocytów T. W publikacji [H3] (podobnie jak w [H2]) wykorzystałam auto-reaktywną linię limfocytów encefalitogennych T specyficznych wobec peptydu MOG₃₅₋₅₅ (T_{MOG}). Komórki T_{MOG} wykazują ekspresję receptorów specyficznych dla MOG₃₅₋₅₅ i proliferację w odpowiedzi na stymulację tym peptydem (model *in vitro* opracowany przez Avrahama Ben-Nun z Instytutu Weizmanna⁴⁰, współautora publikacji [H2, H3]). Autoimmunologiczne pamięciowe limfocyty T (także te atakujące osłonkę mielinową i prowadzące do rozwoju SM) wydzielają interleukinę (IL)-17 w sposób zależny od receptora RORγt oraz przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji 3 (STAT3). Komórki te zostały zdefiniowane jako autoimmunologiczny fenotyp Th17^{38,41}. Transfer tych encefalitogennych T_{MOG} do zdrowych zwierząt wywołuje szybkie i ciężkie objawy eksperymentalnego autoimmunologicznego zapalenia mózgu i rdzenia (ang. *passive EAE*)³⁹ a ponowna aktywacja spoczynkowych, krążących pamięciowych limfocytów T przez antygen może przyczyniać się do nawrotów choroby w jej postaciach rzutowo-remisyjnych. Wysoka patogenność tych limfocytów wynika z ich zdolności do przekraczania bariery krew-mózg oraz amplifikacji odpowiedzi immunologicznej, t.j., rekrutowania innych komórek odpornościowych, takich jak monocyty, mikroglej czy endogenne limfocyty B (CD19+) specyficzne wobec MOG₃₅₋₅₅, co przyspiesza produkcję autooprzeciwciał. Takie autoreaktywne populacje pamięciowych limfocytów T stanowią więc ważny cel w poszukiwaniu terapii chorób autoimmunologicznych i innych zależnych od limfocytów T³⁸.

Wpływ kannabinoidów na te swoiste, pamięciowe limfocyty T pozostawał słabo poznany. Obiecującą obserwacją był wynik przedstawiony w publikacji [H2] (Rycina H2-3), pokazujący, że CBD silnie hamuje proliferację limfocytów T_{MOG} już w niskich/umiarkowanych stężeniach (1-5 μ M). Co ważne, w pierwotnej wersji modelu aktywacji limfocytów T_{MOG} nie była możliwa detekcja cytokin w odpowiedzi na stymulację MOG₃₅₋₅₅. Detekcje cytokin umożliwiła dopiero **moja autorska modyfikacja tego modelu *in vitro***. Kluczowym rezultatem tej modyfikacji był fakt, że stymulacja limfocytów T_{MOG} w obecności komórek prezentujących antygen, prowadziła też do znaczącego wzrostu produkcji i wydzielania IL-17, markera fenotypu Th17 i chorób autoimmunologicznych ⁴¹.

W niniejszej pracy [H3] wykazałam, że psychoaktywny THC oraz niepsychoaktywny CBD znacząco obniżają aktywność fenotypu Th17. Zaobserwowałam, że CBD i THC silnie i zależnie od dawki (0.1–5 μ M) hamują syntezę (mRNA) i wydzielanie (białko) cytokiny IL-17 (**Ryciny H3-1 i H3-2**) oraz zmniejszają ekspresję mRNA (**Rycina H3-2**) i białka IL-6 [H3], kluczowego czynnika w indukcji fenotypu Th17 ⁴¹. Podanie CBD silnie zwiększało także poziom przeciwwzapalnej cytokiny IL-10 (**Rycina H3-2**). Co ciekawe, CBD i THC nie wpływały na poziomy mRNA TNF α ani IFN γ (**Rycina H3-2**), co wskazuje na wybiórczą modulację wydzielania cytokin i regulacji szlaków zapalnych przez te związki. Mechanizm receptorowy hamowania wydzielania IL-17 przez oba kannabinoidy nie angażował receptorów CB1, CB2, PPAR γ , 5-HT1A ani TRPV1, co wykazałam stosując selektywnych antagonistów tych receptorów [H3].



Rycina H3-1. CBD i THC zmniejszają wydzielanie cytokiny IL-17 przez aktywowane limfocyty T_{MOG}. Encefalitogenne limfocyty T stymulowano MOG₃₅₋₅₅ przez 24 godziny w obecności APC, wraz z CBD lub THC w podanych stężeniach. Poziom IL-17 zbadano metoda ELISA. Symbole: * *versus* T_{MOG}/APC aktywowane MOG₃₅₋₅₅.



Rycina H3-2. Wpływ CBD i THC na poziomy mRNA cytokin w aktywowanych T_{MOG} . Kultury komórkowe T_{MOG}/APC stymulowano MOG₃₅₋₅₅ przez 8 godzin w obecności lub bez CBD lub THC. Poziomy mRNA oznaczono metodą qPCR: (a) IL-17A, (b) IL-6, (c) TNFα, (d) IFNγ, oraz (e) IL-10. Symbole: # versus grupa kontrolna; * versus T_{MOG}/APC aktywowane wyłącznie MOG₃₅₋₅₅.

Podsumowując, w tej części omawianego osiągnięcia naukowego [H3] wykazałam, że fitokannabinoidy THC i CBD skutecznie zmniejszają aktywność fenotypu Th17, specyficznego dla chorób autoimmunologicznych, w tym SM.

[H4] [Kozela E.[§], Juknat A., Kaushansky N., Ben-Nun A., Coppola G., Vogel Z. Cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid, leads to EGR2-dependent anergy in activated encephalitogenic T cells. J Neuroinflammation. 2015. 15; 12:52. doi: 10.1186/s12974-015-0273-0.](#)

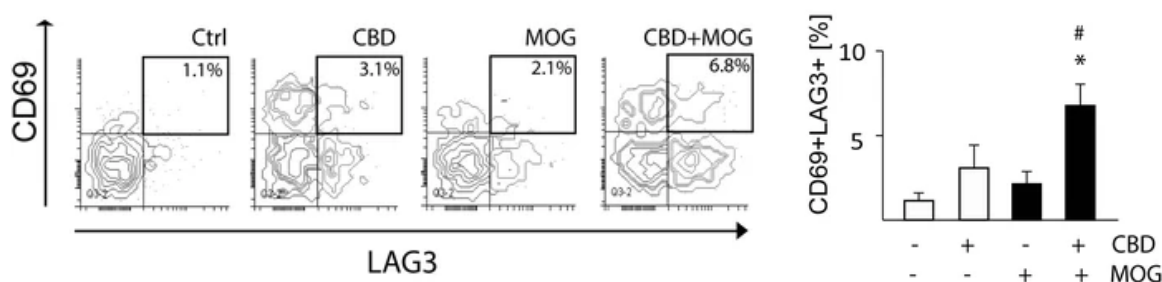
W uprzednio opisanej pracy [H3] wykazałam, że niepsychoaktywny CBD osłabia funkcję encefalitogennych komórek Th17, t.j. zmniejsza produkcję i uwalnianie IL-17 i IL-6 przez komórki T_{MOG} . W publikacji [H4] podjęłam próbę opisanego mechanizmów komórkowych i międzykomórkowych tego działania CBD. Większość poprzedzających moje badania danych dotyczących szlaków komórkowych mediujących działanie kannabinoidów została uzyskana przy użyciu „naiwnych” komórek odpornościowych pobudzanych przez nieswoiste aktywatory, takie jak fitohemaglutynina, PMA/jonomycyna i/lub endotoksyny bakteryjne. Aktywatory te w ograniczonym stopniu naśladują stan zapalny *in vivo*, szczególnie o podłożu autoimmunologicznym. Moje badania z wykorzystaniem zmodyfikowanego przeze mnie modelu *in vitro* złożonego z pamięciowych limfocytów T (T_{MOG}) stymulowanych antygenem mieliny (MOG₃₅₋₅₅) w obecności obwodowych komórek pomocniczych (APC), umożliwiło mi dogłębne zbadanie wpływu CBD na złożone, wielokomórkowe interakcje odpowiedzialne za procesy autoimmunologiczne na obwodzie i w OUN, czyli w warunkach najbardziej zbliżonych do patologii SM.

Moje badania opisane w publikacji [H4] wykazały, że przeciwzapalna aktywność CBD w stanach autoimmunologicznych obejmuje indukcję *de novo* komórkowych fenotypów regulacyjnych, czyli (i) **transkrypcyjne i funkcjonalne przeprogramowanie pamięciowych limfocytów T** w

kierunku komórek niepatogennych, a nawet hamujących (zwiększona ilość IL-10), jak również **(ii) zmniejszoną aktywację limfocytów B**, komórek prezentujących antygeny.

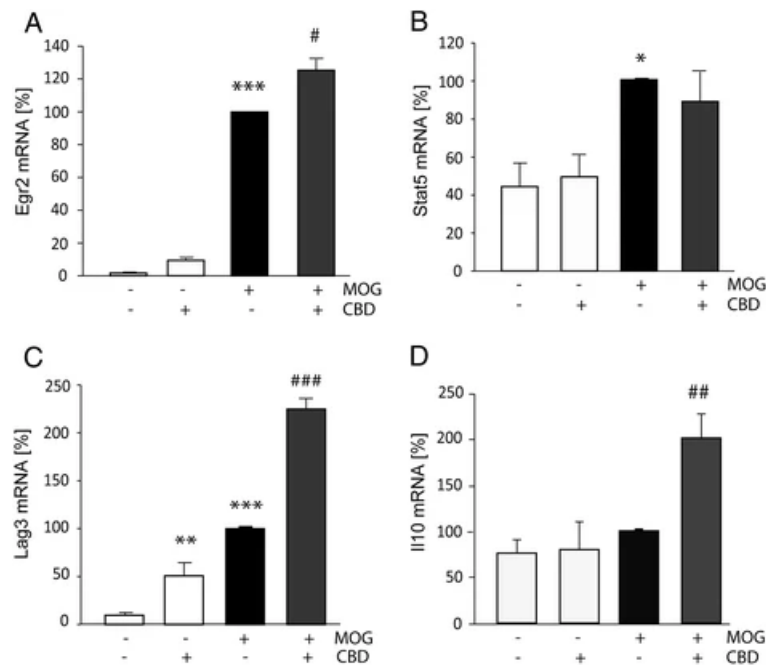
Funkcje efektorowe i/lub tolerancja limfocytów T są aktywnie kontrolowane przez liczne szlaki sygnałowe regulowane przez interakcje z APC (w tym limfocyty B CD19+), z naiwnymi limfocytami CD4+, oraz z innymi pomocniczymi komórkami, np. aktywowanymi astrocytami w OUN. Wśród cząsteczek regulujących funkcję pamięciowych limfocytów T opisano gen aktywacji limfocytów 3 (LAG3; CD223) oraz CD69. LAG3 jest homologiem CD4 (marker limfocytów T), który poprzez interakcję z głównym kompleksem zgodności tkankowej klasy II (MHCII) prezentującym antygen na komórkach APC, hamuje funkcję i proliferację pamięciowych limfocytów T w odpowiedzi na antygen (czyli np. MOG₃₅₋₅₅)⁴². Nasilenie ekspresji LAG3 indukuje anergię (wyczerpanie) aktywowanych limfocytów T zależną od białka EGR2 (ang. *early growth response 2*), i zmniejsza ich aktywność patogenną⁴². W tym kontekście, CD69 pozostaje bardzo silnym koreceptorem hamującym, który pełni rolę konstytutywnego supresora różnicowania limfocytów Th17. Prezentacja antygeny pamięciowym/encefalitogennym limfocytom T prowadzi do aktywacji kilku szlaków cyklu komórkowego i efektorowych, w tym szlaku kinazy fosfatydyloinozytolo-3-OH (PI3K)/Akt/mTOR, szlaku kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MAPK) oraz szlaku kinaz Janusowych/przekaźników sygnału i aktywatorów transkrypcji (JAK/STAT). W publikacji [H1] opisałam, że CBD wywiera działanie przeciwzapalne w aktywowanych komórkach mikrogleju poprzez regulację równowagi STAT1/STAT3, co już wtedy sugerowało, że rodzina czynników STAT może być celem w działaniu CBD. Co ciekawe, STAT3 został opisany jako kluczowy pozytywny regulator proliferacji i funkcji Th17, w tym nadrzędnej regulacji zależnej od ROR γ t produkcji IL-17⁴². Skądinąd, STAT5 jest głównym czynnikiem immunoregulacyjnym hamującym aktywność białka STAT3 promującą Th17⁴³. Ostatecznie więc, wzajemna proporcja (ang. *ratio*) w aktywacji czynników STAT3 i STAT5 służy jako kluczowy parametr określający aktywność patogenną (lub nieczynność) autoreaktywnych limfocytów Th17 (wyższa aktywność STAT3), lub ich wyciszenia (anergii, wyższa aktywność STAT5). Głównym czynnikiem regulującym ta równowagę jest EGR2, działający jako niezbędny negatywny regulator STAT3, wpływając na ekspresję IL-17 i ekspansję Th17⁴².

Moje wyniki uzyskane w oparciu o wielomarkerową cytometrię przepływową opisane w publikacji [H4] pokazały, że CBD wywiera efekty immunoregulacyjne poprzez silne zwiększenie ekspresji cząsteczek hamujących CD69 i LAG3 na subpopulacji limfocytów pomocniczych T CD4+CD25- (Rycina H4-1).

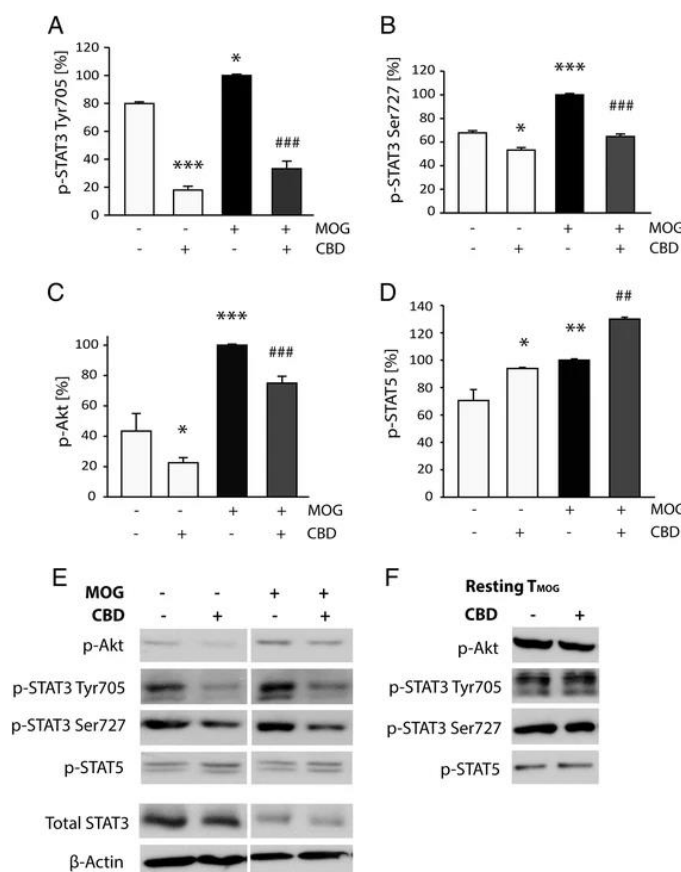


Rycina H4-1. Inkubacja z CBD prowadzi do zwiększenia ekspresji białek regulacyjnych CD69 i LAG3 na populacji limfocytów T CD4+CD25-. Reprezentatywne wykresy (ang. *contour density plots*, technika wielomarkerowej cytometrii przepływowej) i uśrednione dane prezentujące odsetki komórek CD4+CD25- wykazujących jednoczesną ekspresję CD69 i LAG3. *Symbole: * versus komórki niestymulowane; # versus aktywacja MOG₃₅₋₅₅.*

Towarzyszy temu utrzymywana przez podniesione poziomy EGR2, LAG3 i IL-10 anergia stymulowanych autoreaktywnych komórek T_{MOG} (metoda qPCR; **Rycina H4-2**) oraz zmiana stosunku aktywacji STAT3 ▼ /STAT5 ▲ (metoda Western Blot; **Rycina H4-3**), w konsekwencji zmniejszenie aktywności typu Th17 w inkubowanych z CBD pamięciowych encefalitogennych limfocytach T, jak opisałam w [H3].



Rycina H4-2. Wpływ CBD na poziomy mRNA EGR2, STAT5, LAG3 oraz IL-10 w wyselekcjonowanych limfocytach T. T_{MOG} hodowano z komórkami APC i stymulowano MOG₃₅₋₅₅ w obecności lub bez CBD, T_{MOG} wyizolowano przy użyciu „immuno magnetic microbeads” do analiz qPCR. (A) EGR2, (B) STAT5, (C) LAG3, (D) IL-10. Symbole: * versus komórki niestymulowane; # versus MOG₃₅₋₅₅.



Rycina H4-3. CBD moduluje szlaki sygnałowe Th17 w komórkach T_{MOG}. Szczegóły eksperymentów jak na Rycinie H4-2. Wyniki analiz Western blot dla (A) fosfo-STAT3 Tyr705, (B) fosfo-STAT3 Ser727, (C) fosfo-Akt, (D) fosfo-STAT5, (E) reprezentatywne immunoblotty dla ufosforylowanych form Akt, STAT3 oraz STAT5 oraz kontroli β -aktyny i STAT3. (F) reprezentatywne immunoblotty wskazują, że CBD nie wpływa na poziomy fosfo-Akt, fosfo-STAT3 i fosfo-STAT5 w nie-aktywowanych T_{MOG} - eksperyment kontrolny gdzie T_{MOG} hodowano bez APC i bez MOG₃₅₋₅₅ w obecności lub bez CBD. Symbole: * versus niestymulowane T_{MOG}; ## versus aktywowane T_{MOG}.

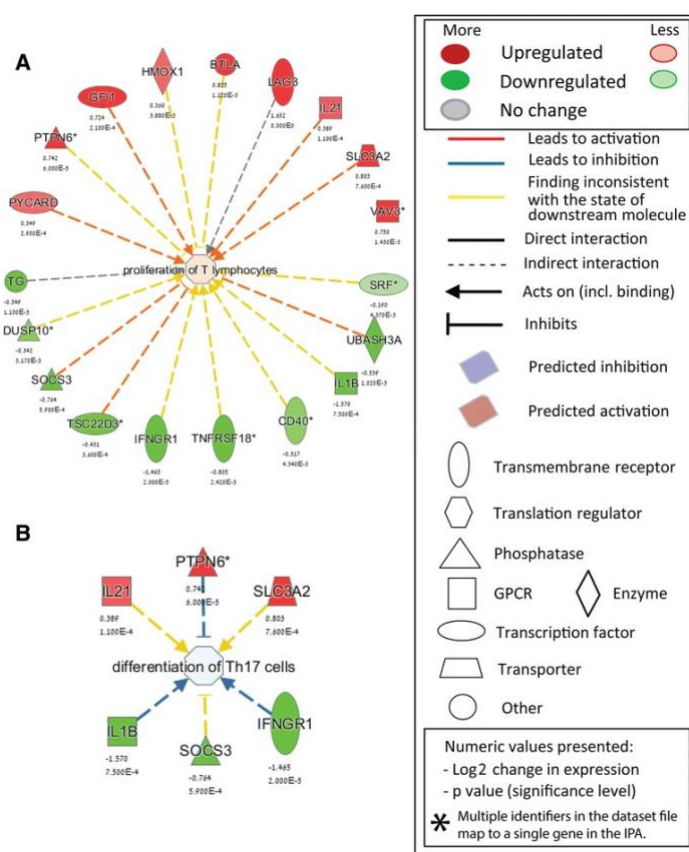
Co więcej, w obecności CBD zaobserwowałam zmniejszenie zdolności do prezentacji antygeny (niższa ekspresja MHCII) oraz zmniejszoną aktywność prozapalną (niższa ekspresja CD69 i CD25) stymulowanych przez MOG₃₅₋₅₅ limfocytów B pełniących funkcje APC [H4].

Podsumowując, CBD nie tylko (i) hamuje aktywność wykonawczych komórek prozapalnych, ale też (ii) indukuje powstanie nowej populacji komórek regulacyjnych oraz (iii) ogranicza zdolność limfocytów B do prezentacji autoantygeny limfocytom T. Moje wyniki opisane w [H4] wskazują więc na unikalną zdolność kannabinoidów do modulowania środowiska cytokinowego w chorobach autoimmunologicznych poprzez jednoczesne tłumienie patogenego fenotypu Th17 i wspieranie odpowiedzi przeciwzapalnej (tolerancja immunologiczna i wyciszenie stanu zapalnego). Ten mechanizm CBD może mieć istotne znaczenie terapeutyczne w leczeniu SM i innych chorób neurozapalnych.

[H5] [Kozela E.^s, Juknat A., Gao F., Kaushansky N., Coppola G., Vogel Z. Pathways and gene networks mediating the regulatory effects of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabinoid, in autoimmune T cells. J Neuroinflammation. 2016. 3;13\(1\):136. doi: 10.1186/s12974-016-0603-x](#)

Kontynuując próby zrozumienia przeciw-neurozapalnych właściwości CBD, w pracy [H5] użyłam analiz bioinformatycznych aby opisać regulatory nadrzędne, sieci genów i szlaki wewnątrzkomórkowe pośredniczące w supresyjnym działaniu CBD na pamięciowe komórki T_{MOG}. Za pomocą wysokoprzepustowych mikromacierzy (*Illumina microarrays*, we współpracy w grupą profesora Giovanni Coppola, UCLA, USA) sporządziliśmy profil ekspresji genów w oparciu o całkowite mRNA wyizolowane z aktywowanych, a potem wyselekcjonowanych komórek T_{MOG}.

Profilowanie ekspresji genów w oparciu o platformę *Ingenuity Pathway Analysis* (Ingenuity, IPA) wsparte analizą ważonych sieci ko-ekspresji genów (WGCNA) oraz analizą funkcjonalną ontologii genów (GO) wykazało, że CBD zmniejszyło transkrypcję wielu genów prozapalnych w aktywowanych komórkach T_{MOG} w tym cytokin, receptorów cytokin, czynników transkrypcyjnych oraz cząsteczek sygnałowych nadrodziny czynnika TNF. Wśród głównych procesów, na które wpływa CBD, zidentyfikowałam „różnicowanie IL-17” (Rycina H5-1) oraz „sygnalizację IL-6 i IL-10”, zgodnie z wynikami opisanymi w [H4]. CBD zwiększa transkrypcję genów zależnych od IFN, o których wiadomo, że wykazują działanie antyproliferacyjne w limfocytach T. Co ciekawe, niektóre transkrypty nasilone przez MOG₃₅₋₅₅ utrzymywały się na wysokim poziomie w obecności CBD, w tym czynniki transkrypcyjne (m.in. Egr2), cytokiny (Csf2, Tnf, Ifng) i chemokiny (Ccl3, Ccl4, Cxcl10), co potwierdza, że CBD promuje „wyczerpanie” (ang. *exhaustion*) pamięciowych komórek T_{MOG} jak opisałam w [H4]. Najciekawszą obserwacją był fakt, że CBD zwiększyło transkrypcję szeregu cząsteczek hamujących aktywność limfocytów T (ko-inhibitorów BtlA, Lag3, Trat1 i CD69), które ingerują w interakcje T/APC. Ponadto CBD wzmocniło transkrypcję modulatorów stresu oksydacyjnego o silnym działaniu przeciwzapalnym, które są kontrolowane przez szlak Nfe2l2/Nrf2.



Rycina H5.1. Wyróżnione („enriched”) pod wpływem CBD klaster funkcjonalne („functional terms”) zidentyfikowane przez analizę IPA w aktywowanych komórkach T_{MOG}. (A) Geny tworzące klaster (ang. *annotation*) „Proliferacja limfocytów T” oraz (B) geny składające się na klaster „Różnicowanie komórek Th17”, na które wpływa CBD. Kolor **zielony oznacza obniżenie ekspresji, a kolor **czerwony** podwyższenie. Wartości log2 wyrażają zmianę wywołaną przez CBD w stosunku do komórek stymulowanych wyłącznie MOG₃₅₋₅₅; wartości „p” podano pod każdym transkryptem. Objaśnienie symboli graficznych w Ramce.**

Podsumowując, profilowanie ekspresji genów oparte na mikromacierzach wykazało, że CBD wywiera efekty immunoregulacyjne w aktywowanych pamięciowych komórkach T_{MOG} poprzez (i) tłumienie prozapalnej transkrypcji związanej z Th17, (ii) promowanie wyczerpania/tolerancji

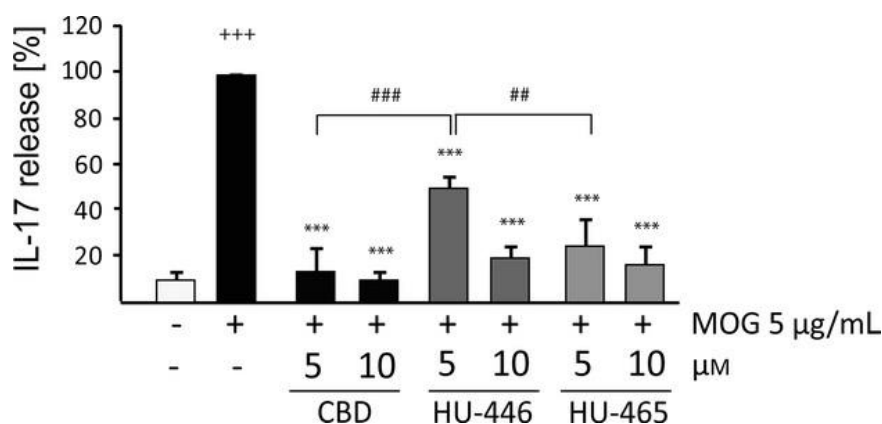
limfocytów T (anergii), (iii) wzmacnianie zależnego od IFN programu antyproliferacyjnego, (iv) utrudnianie prezentacji antygeny oraz (v) indukowanie środowiska antyoksydacyjnego wygaszającego stan zapalny. Moje obserwacje wskazują na mechanizm, poprzez który CBD wywiera działanie przeciwzapalne, a także dogłębnie wyjaśniają korzystną rolę CBD w supresji patologicznych pamięciowych limfocytów T i chorób autoimmunologicznych.

[H6] **Kozela E. # \$, Haj C.#, Hanuš L., Chourasia M., Shurki A., Juknat A., Kaushansky N., Mechoulam R., Vogel Z. HU-446 and HU-465, Derivatives of the Non-psychoactive Cannabinoid Cannabidiol, Decrease the Activation of Encephalitogenic T Cells. Chem Biol Drug Des. 2016. 87(1):143-53. doi: 10.1111/cbdd.12637**

CBD pozostaje niepsychotropowym fitokannabinoidem o istotnym potencjale terapeutycznym i szerokim spektrum działania. Niemniej jednak, jego niekorzystne właściwości farmakokinetyczne (intensywny metabolizm pierwszego przejścia oraz niska biodostępność), a także złożona farmakodynamika obserwowana w badaniach przedklinicznych (zależność dawka–efekt typu odwróconego U; *reversed U shape*²⁸) mogą utrudniać jego skuteczne zastosowanie kliniczne. Czynniki te skłaniają do poszukiwania pochodnych CBD o korzystniejszym profilu farmakokinetycznym i farmakodynamicznym. CBD jest dostępny w różnych formach stereochemicznych, jako naturalnie występujący w *Cannabis* enancjomer (–)-CBD oraz jako (+)-CBD, jego syntetyczny odpowiednik. W publikacji [H6], która powstała we współpracy z zespołami z Uniwersytetu Hebrajskiego (profesor Raphael Mechoulam, Dr Avital Shurki) oraz z National Institute of Pharmaceutical Education and Research, Hajipur, Indie (Dr Chourasia Mukesh) opisuję syntezę oraz właściwości przeciwzapalne dwóch izomerycznych pochodnych CBD: **HU-446** oraz **HU-465**, odpowiednio (–)- i (+)-8,9-dihydro-7-hydroksy-CBD. Związek HU-446, pochodna naturalnego (–)-CBD, wykazuje znikome powinowactwo do receptorów kannabinoidowych CB1 i CB2. Natomiast HU-465, będący pochodną syntetycznego (+)-CBD, wykazuje zdolność do interakcji z oboma receptorami w zakresie wysokich stężeń nanomolarnych [H6].

Wykonane przeze mnie badania *in vitro* opisane w [H6] wykazały, że zarówno HU-446, jak i HU-465 istotnie zmniejszają aktywację encefalitogennych limfocytów T, hamując zarówno ich proliferację (niezależnie od receptorów CB1 i CB2 [H6]), jak i uwalnianie cytokiny IL-17 (**Rycina H6-1**). Eksperymenty porównujące siłę hamowania uwalniania IL-17 przez T_{MOG} wykazały, HU-446 i HU-465 są nieco mniej skuteczne niż macierzysty (–)-CBD kiedy inkubowano komórki w obecności tych związków w porównywalnych stężeniach.

Uzyskane przez ze mnie dane sugerują, że HU-446 i HU-465 wykazują potencjał przeciwzapalny w chorobach zapalnych i autoimmunologicznych, działając niezależnie od klasycznych receptorów kannabinoidowych.



Rycina 6-1. HU-446 i HU-465, pochodne CBD, zmniejszają uwalnianie IL-17 z aktywowanych, encefalitogennych limfocytów T. T_{MOG}/APC stymulowano przez 24 godziny MOG₃₅₋₅₅ w obecności lub przy braku HU-446, HU-465 lub (-)-CBD. Supernatant zbadano metodą ELISA dla IL-17. *Symbol:* + *versus* kontrola T_{MOG}/APC bez stymulacji MOG₃₅₋₅₅; * *versus* aktywowane komórki T_{MOG}/APC; # *versus* MOG₃₅₋₅₅ + HU-446 5 μ M.

[H7] [Kozela E. [§], Juknat A., Vogel Z. Modulation of Astrocyte Activity by Cannabidiol, a Nonpsychoactive Cannabinoid. Int J Mol Sci. 2017. 31;18\(8\):1669. doi: 10.3390/ijms18081669](#)

W ostatnich dekadach astrocyty wzbudziły ogromne zainteresowanie jako potencjalny cel neuroterapii, ze względu na ich kluczową i plejotropową rolę w fizjologii oraz patologii mózgu. Precyzyjna regulacja ich funkcji wciąż nie jest w pełni zrozumiana, choć wskazuje się na kilka obiecujących cząsteczek i układów, które mogą służyć jako punkty uchwytu dla neuroregulacji i/lub neuroprotekcji mediowanej przez astrocyty ⁴⁴. Wykazano, że układ kannabinoidowy i jego ligandy wchodzi w interakcje z astrocytami i wpływają na ich aktywność. W niniejszej pracy przeglądowej [H7] podjęłam próbę podsumowania (wtedy) aktualnych doniesień na temat wpływu CBD na aktywność astrocytów, a tym samym na OUN, w oparciu o różne modele badawcze i neuropatologie.

Na podstawie zebranych i przedyskutowanych przeze mnie prac oryginalnych i prac przeglądowych, opisałam, że nadmierna aktywność astrocytów jest hamowana przez CBD w modelach niedokrwienia, neurodegeneracji typu Alzheimer'a i stwardnienia rozsianego, uszkodzenia nerwu kulszowego, epilepsji oraz schizofrenii. Ponadto odniosłam się do danych wskazujących, że CBD zmniejsza funkcje i sygnalizację prozapalną w astrocytach i podałam przykłady takiej regulacji posługując się szeroką literaturą naukową.

[H8] [Kozela E. [§], Krawczyk M., Kos T., Juknat A., Vogel Z., Popik P. Cannabidiol Improves Cognitive Impairment and Reverses Cortical Transcriptional Changes Induced by Ketamine, in Schizophrenia-Like Model in Rats. Mol Neurobiol. 2020. 57\(3\):1733-1747. doi: 10.1007/s12035-019-01831-2](#)

CBD wykazuje działanie przeciwpyschotyczne i prokognitywne u ludzi oraz w zwierzęcych modelach schizofrenii. Mechanizmy stojące za tymi korzystnymi efektami CBD pozostają wciąż słabo poznane. Współczesne hipotezy dotyczące etiopatogenezy schizofrenii coraz częściej wskazują na istotną rolę procesów neuroimmunologicznych oraz aktywacji komórek glejowych w rozwoju objawów tej choroby ⁴⁵. W publikacji [H8] wykazałam, że wielokrotne podawanie kannabidiolu (CBD) odwraca deficyty poznawcze oraz zmiany transkrypcyjne w korze przedczołowej (PFC) szczurów, wywołane przez wielokrotne podania ketaminy, procedurę stanowiącą farmakologiczny model deficytów

poznawczych charakterystycznych dla schizofrenii. Wykorzystując sekwencjonowanie RNA-Seq oraz analizę bioinformatyczną (*Ingenuity*), ustaliłam, że profil transkrypcyjny CBD i ketaminy obejmuje głównie geny i szlaki „immunopodobne” i immunoregulacyjne, co wskazuje na kluczową rolę komponentu glicyjowego (mikrogleju i astrogleju) w działaniu prokognitywnym i przeciwpsychotycznym CBD. Większość zidentyfikowanych przeze mnie genów uczestniczy w procesach immunologicznych pośredniczących też w synaptogenezie i plastyczności neuronalnej. Moja analiza bioinformatyczna wykazała, że głównymi regulatorami tych szlaków są TGFβ1 oraz IFNγ (Tabela H8-1) [H8].

KET-V vs V-V				KET-CBD vs KET-V		
Upstream regulator	Predicted activity	Activation z-score	Target molecules	Predicted activity	Activation z-score	Target molecules
TGFB1	↓	- 2.6	CIQA, CIQB, CIQC, ITGB2, MMP2, PTPN6, SELPLG, SPI1	↑	2.97	CIQA, CIQB, CIQC, CX3CR1, CYBB, FCGR3A/FCGR3B, ITGB2, MPZ, P2RY6, PTX3, SELPLG, SPI1
IFNG	↓	- 2.3	CIQA, CIQB, CIQC, CSF1R, CTSC, CTSS, IRF8, ITGB2, MMP2, PTPN6, RAC2, TRAF6	↑	2.81	CIQA, CIQB, CIQC, CCL19, CSF1R, CTSS, CX3CR1, CYBB, FCGR3A/FCGR3B, IRF8, ITGB2, LAT2, P2RY6, PTX3, TLR7
PSEN1	↑	2.4	CIQA, CIQB, CIQC, CTSC, CTSS, SELPLG	↓	- 2.23	ARL11, CIQA, CIQB, CIQC, CTSS, SELPLG
L-dopa	–	–	–	↓	- 2.24	CIQA, CYTH4, LAPTM5, LAT2, P2RY6

Tabela H8-1. Zidentyfikowane z użyciem analizy bioinformatycznej *Ingenuity* nadrzędne regulatory transkrypcji i zależne transkrypty w komórkach PFC u szczurów badanych w farmakologicznym modelu deficytów poznawczych w schizofrenii (KET), które nie otrzymały lub otrzymały CBD. Skróty: V-V grupa kontrolna (ang. *Vehicle-Vehicle*), KET-V grupa otrzymująca tylko ketaminę, KET-CBD grupa otrzymująca ketaminę i CBD.

Podsumowując, w farmakologicznym modelu deficytów kognitywnych typowych dla schizofrenii, CBD działa jako modulator neuroimmunologiczny, który przywraca homeostazę transkrypcyjną tkanki mózgowej. Wyniki te *przesuwają* paradygmat mechanizmu działania CBD w chorobach neuropsychiatrycznych z bezpośredniego wpływu na neurony w stronę regulacji komórek glicyjnych, które poprzez kaskady immunologiczne stabilizują strukturę synaps. CBD nie tylko maskuje objawy, ale też przywraca profil transkrypcyjny OUN do stanu zbliżonego do fizjologicznego.

4.5 Podsumowanie osiągnięcia habilitacyjnego

Przedmiotem mojego osiągnięcia naukowego była kompleksowa analiza mechanizmów immunomodulujących fitokannabinoidów, ze szczególnym uwzględnieniem niepsychoaktywnego CBD, w modelach neuropatologicznych: (i) modelu aktywacji mikrogleju, (ii) w modelu autoimmunologicznego zapalenia OUN oraz (iii) farmakologicznym modelu deficytów kognitywnych typowych dla schizofrenii. Moje osiągnięcie naukowe obejmuje wykazanie:

- **Selektywnej rekonfiguracji fenotypu neuroimmunologicznego:** Wykazałam, że CBD (w przeciwieństwie do THC) indukuje „przeprogramowanie” komórek mikrogleju oraz autoreaktywnych, encefalitogennych limfocytów T. Proces ten zachodzi poprzez precyzyjne hamowanie osi pro-zapalnych (STAT1 w mikrogleju, STAT3/IL-17 w limfocytach T_{MOG}) przy jednoczesnej aktywacji szlaków supresorowych (STAT3 w mikrogleju oraz STAT5/EGR2/LAG3 w limfocytach encefalitogennych), co prowadzi do wyciszenia odpowiedzi zapalnej i indukcji anergii komórkowej.
- **Modulacji interakcji międzykomórkowych i homeostazy:** Wykazałam, że CBD ogranicza zdolność limfocytów B do prezentacji antygenów, co wtórnie hamuje kaskadę aktywacji encefalitogennych limfocytów T. Jednocześnie zaobserwowałam promowanie tolerancji

immunologicznej poprzez stymulację wydzielania cytokiny przeciwzapalnej IL-10 oraz nasilenie ekspresji genów antyoksydacyjnych.

- **Neuroprotekcji i hamowania degeneracji w obrębie OUN:** W badaniach *in vivo* (model EAE) potwierdziłam, że suplementacja CBD prowadzi do systemowego ograniczenia aktywacji mikrogleju oraz redukcji nacieków limfocytarnych w OUN, co w konsekwencji hamuje proces degeneracji aksonalnej.
- **Wykazanie pozaklasycznych mechanizmów działania fitokannabinoidów:** Wykazałam, że terapeutyczny potencjał CBD w modelu neurozapalnym *in vitro* i modelu stwardnienia rozsianego (EAE) jest *realizowany* niezależnie od receptorów CB1 i CB2 i kilku innych znanych receptorów dla kannabinoidów. Wyniki te wskazują na zaangażowanie alternatywnych punktów uchwytu, co pozycjonuje CBD jako potencjalny lek typu *multi-target drug*.
- **Wskazanie na nowy kierunek w kannabinoidowej terapii zaburzeń kognitywnych w schizofrenii:** W modelu deficytów kognitywnych wykazałam, że CBD pełni rolę **modulatora neuroimmunologicznego**, który przywraca homeostazę transkrypcyjną tkanki mózgowej. Moje wyniki redefiniują dotychczasowe kanony postrzegania mechanizmów działania CBD, przesuwając uwagę z efektów *stricte* neuronalnych w stronę kaskad immunologicznych neurogleju, które stabilizują strukturę synaps. Dowiodłam, że CBD nie tylko łagodzi objawy behawioralne, ale rekonfiguruje profil transkrypcyjny OUN do stanu zbliżonego do fizjologicznego.

Wyniki moich badań stanowią silną przesłankę za uznaniem CBD za obiecującą alternatywę lub uzupełnienie klasycznych terapii w schorzeniach neurologicznych, neurodegeneracyjnych oraz neuropsychiatrycznych. Wykazano, że kluczowe szlaki sygnalizacyjne (NF- κ B, IRF-3 oraz czynniki STAT) są indukowane przez szerokie spektrum sygnałów endogennych (mitogeny, cytokiny, czynniki neurotoksyczne), których aktywność wzrasta w odpowiedzi na procesy cytotoksyczne. Poprzez specyficzne dla typu komórek i tkanek moderowanie tych sieci, CBD oraz jego pochodne wykazują wysoki potencjał jako skuteczne środki przeciwnerozapalne i neuroprotektoryjne. Zdolność do selektywnego celowania w patologiczne komórki pamięci immunologicznej oraz glejowej, przy jednoczesnym braku efektów psychoaktywnych, pozycjonuje te związki jako bezpieczną strategię wspierającą przywracanie prawidłowych funkcji ośrodkowego układu nerwowego.

4.4.6 Bibliografia

1. Touw M. The Religious and Medicinal Uses of *Cannabis* in China, India and Tibet. *J Psychoactive Drugs*. 1981 Jan;13(1):23–34. doi:10.1080/02791072.1981.10471447
2. Russo EB, Russo EB. *Cannabis and Cannabinoids*. Routledge; 2013. doi:10.4324/9780203479506
3. Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci*. 2020 Sep 1;22(3):223–8. doi:10.31887/DCNS.2020.22.3/MCROCQ PubMed PMID: 33162765.
4. Adams R. Marihuana. *Science* (1979). 1940 Aug 9;92(2380):115–9. doi:10.1126/science.92.2380.115
5. Mechoulam R, Shvo Y. Hashish—I. *Tetrahedron*. 1963 Jan;19(12):2073–8. doi:10.1016/0040-4020(63)85022-X
6. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc*. 1964 Apr 1;86(8):1646–7. doi:10.1021/ja01062a046
7. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988 Nov;34(5):605–13. PubMed PMID: 2848184.

8. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993 Sep;365(6441):61–5. doi:10.1038/365061a0
9. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 1992 Dec 18;258(5090):1946–9. doi:10.1126/science.1470919 PubMed PMID: 1470919.
10. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*. 1995 Jun;50(1):83–90. doi:10.1016/0006-2952(95)00109-D
11. Di Marzo V, Deutsch DG. Biochemistry of the Endogenous Ligands of Cannabinoid Receptors. *Neurobiol Dis*. 1998 Dec;5(6):386–404. doi:10.1006/nbdi.1998.0214
12. Di Marzo V, Melck D, Bisogno T, De Petrocellis L. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci*. 1998 Dec;21(12):521–8. doi:10.1016/S0166-2236(98)01283-1
13. Iannotti FA, Di Marzo V. The endocannabinoidomes: Pharmacological redundancy and promiscuity, and multi-kingdom variety of sources and molecular targets. *Pharmacol Rev*. 2025 Jul;77(4):100070. doi:10.1016/j.pharmr.2025.100070
14. Thomas BF, Gilliam AF, Burch DF, Roche MJ, Seltzman HH. Comparative receptor binding analyses of cannabinoid agonists and antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998 Apr;285(1):285–92. PubMed PMID: 9536023.
15. Stella N. THC and CBD: Similarities and differences between siblings. *Neuron*. 2023 Feb;111(3):302–27. doi:10.1016/j.neuron.2022.12.022
16. Di Marzo V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. *Nat Rev Drug Discov*. 2018 Sep 17;17(9):623–39. doi:10.1038/nrd.2018.115
17. Russo EB. Clinical endocannabinoid deficiency (CECD): can this concept explain therapeutic benefits of cannabis in migraine, fibromyalgia, irritable bowel syndrome and other treatment-resistant conditions? *Neuro Endocrinol Lett*. 2004;25(1–2):31–9. PubMed PMID: 15159679.
18. Kipnis J, Filiano AJ. The central nervous system: privileged by immune connections. *Nat Rev Immunol*. 2018 Feb 27;18(2):83–4. doi:10.1038/nri.2017.152
19. Schwartz M, Kipnis J, Rivest S, Prat A. How Do Immune Cells Support and Shape the Brain in Health, Disease, and Aging? *The Journal of Neuroscience*. 2013 Nov 6;33(45):17587–96. doi:10.1523/JNEUROSCI.3241-13.2013
20. Lyman WD, Sonett JR, Brosnan CF, Elkin R, Bornstein MB. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol: a novel treatment for experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*. 1989 Jun;23(1):73–81. doi:10.1016/0165-5728(89)90075-1
21. Klein TW. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat Rev Immunol*. 2005 May;5(5):400–11. doi:10.1038/nri1602
22. Cabral GA, Jamerson M. Marijuana Use and Brain Immune Mechanisms. In. 2014. p. 199–230. doi:10.1016/B978-0-12-801284-0.00008-7
23. Cabral GA. Neuroimmune Pharmacology as a Sub-discipline of Immunology in the Medical School Curriculum. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2011 Mar 7;6(1):57–62. doi:10.1007/s11481-010-9230-y
24. Cabral G, Griffin-Thomas L. Cannabinoids as Therapeutic Agents for Ablating Neuroinflammatory Disease. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*. 2008 Sep 1;8(3):159–72. doi:10.2174/187153008785700118
25. Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R. Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends Pharmacol Sci*. 2009 Oct;30(10):515–27. doi:10.1016/j.tips.2009.07.006
26. Carlini EA, Leite JR, Tannhauser M, Berardi AC. Cannabidiol and *Cannabis sativa* extract protect mice and rats against convulsive agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1973 Aug 1;25(8):664–5. doi:10.1111/j.2042-7158.1973.tb10660.x
27. Karniol IG, Shirakawa I, Kasinski N, Pfeferman A, Carlini EA. Cannabidiol interferes with the effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in man. *Eur J Pharmacol*. 1974 Sep;28(1):172–7. doi:10.1016/0014-2999(74)90129-0

28. Malfait AM, Gallily R, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreaskos E, Mechoulam R, et al. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis [Internet]. Report. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.160105897
29. Zuardi AW. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2008 Sep;30(3):271–80. doi:10.1590/S1516-44462008000300015
30. McPartland JM, Duncan M, Di Marzo V, Pertwee RG. Are cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *British Journal of Pharmacology*. John Wiley and Sons Inc.; 2015. p. 737–53. doi:10.1111/bph.12944 PubMed PMID: 25257544.
31. De Petrocellis L, Di Marzo V. Non-CB1, Non-CB2 Receptors for Endocannabinoids, Plant Cannabinoids, and Synthetic Cannabinimimetics: Focus on G-protein-coupled Receptors and Transient Receptor Potential Channels. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2010 Mar 22;5(1):103–21. doi:10.1007/s11481-009-9177-z
32. Klein TW, Cabral GA. Cannabinoid-Induced Immune Suppression and Modulation of Antigen-Presenting Cells. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2006 Mar 22;1(1):50. doi:10.1007/s11481-005-9007-x
33. Baker D, Jackson SJ, Pryce G. Cannabinoid control of neuroinflammation related to multiple sclerosis. *Br J Pharmacol*. 2007 Nov 29;152(5):649–54. doi:10.1038/sj.bjp.0707458
34. Nagarkatti P, Pandey R, Rieder SA, Hegde VL, Nagarkatti M. Cannabinoids as Novel Anti-Inflammatory Drugs. *Future Med Chem*. 2009 Oct 21;1(7):1333–49. doi:10.4155/fmc.09.93
35. Blasi E, Barluzzi R, Bocchini V, Mazzolla R, Bistoni F. Immortalization of murine microglial cells by a v-raf / v-myc carrying retrovirus. *J Neuroimmunol*. 1990 May;27(2–3):229–37. doi:10.1016/0165-5728(90)90073-V
36. Yan Z, Gibson SA, Buckley JA, Qin H, Benveniste EN. Role of the JAK/STAT signaling pathway in regulation of innate immunity in neuroinflammatory diseases. *Clinical Immunology*. 2018 Apr;189:4–13. doi:10.1016/j.clim.2016.09.014
37. Butcher BA, Kim L, Panopoulos AD, Watowich SS, Murray PJ, Denkers EY. Cutting Edge: IL-10-Independent STAT3 Activation by *Toxoplasma gondii* Mediates Suppression of IL-12 and TNF- α in Host Macrophages. *The Journal of Immunology*. 2005 Mar 15;174(6):3148–52. doi:10.4049/jimmunol.174.6.3148
38. Woo MS, Engler JB, Friese MA. The neuropathobiology of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci*. 2024 Jul 24;25(7):493–513. doi:10.1038/s41583-024-00823-z
39. Ben-Nun A, Kaushansky N, Kawakami N, Krishnamoorthy G, Berer K, Liblau R, et al. From classic to spontaneous and humanized models of multiple sclerosis: Impact on understanding pathogenesis and drug development. *J Autoimmun*. 2014 Nov;54:33–50. doi:10.1016/j.jaut.2014.06.004
40. Ben-Nun A, Cohen IR. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mediated by T cell lines: process of selection of lines and characterization of the cells. *J Immunol*. 1982 Jul;129(1):303–8. PubMed PMID: 6177753.
41. Tuzlak S, Dejean AS, Iannaccone M, Quintana FJ, Waisman A, Ginhoux F, et al. Repositioning TH cell polarization from single cytokines to complex help. *Nat Immunol*. 2021 Oct 20;22(10):1210–7. doi:10.1038/s41590-021-01009-w
42. Okamura T, Yamamoto K, Fujio K. Early Growth Response Gene 2-Expressing CD4+LAG3+ Regulatory T Cells: The Therapeutic Potential for Treating Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2018 Feb 26;9. doi:10.3389/fimmu.2018.00340
43. Martín P, Gómez M, Lamana A, Cruz-Adalia A, Ramírez-Huesca M, Ursa MÁ, et al. CD69 Association with Jak3/Stat5 Proteins Regulates Th17 Cell Differentiation. *Mol Cell Biol*. 2010 Oct 1;30(20):4877–89. doi:10.1128/MCB.00456-10
44. Patani R, Hardingham GE, Liddelow SA. Functional roles of reactive astrocytes in neuroinflammation and neurodegeneration. *Nat Rev Neurol*. 2023 Jul 12;19(7):395–409. doi:10.1038/s41582-023-00822-1
45. Pape K, Tamouza R, Leboyer M, Zipp F. Immunoneuropsychiatry — novel perspectives on brain disorders. *Nat Rev Neurol*. 2019 Jun 15;15(6):317–28. doi:10.1038/s41582-019-0174-4

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

5.1 Aktywność naukowa przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Moja wczesna ścieżka naukowa to połączenie neurobiologii z farmakologią behawioralną i molekularną. Jeszcze jako studentka Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego (początkowo w Zakładzie Antropologii), w 1997 roku podjęłam **wolontariat** w Zakładzie Biochemii Instytutu Farmakologii PAN (IF PAN), w nowo powstającym zespole prof. dr hab. Piotra Popika. Moje zaciekawienie i intensywny udział w trwających wtedy badaniach nad rolą neuropeptydów w procesach pamięci i uczenia się (temat mojej tzw. pracy przejściowej) skłonił mnie do zmiany profilu kształcenia i związania mojej drogi naukowej z Zakładem Neurobiologii UJ (opiekun profesor Marian Lewandowski), i ostatecznie z Instytutem Farmakologii PAN. W Instytucie kontynuowałam badania na temat sposobów zapobiegania rozwojowi tolerancji na działanie przeciwbólne opioidów, kluczowego problemu klinicznego towarzyszącemu leczeniu bólu. W oparciu o uzyskane wyniki, w czerwcu 1999 roku obroniłam **pracę magisterską** pt. *„Hamowanie tolerancji morfinowej przez memantynę, niekompetytywnego antagonistę glutaminergicznego receptora NMDA”*. Badania wykonałam pod opieką profesora Piotra Popika a promotorem pracy był profesor Jerzy Vetulani, kierownik Zakładu Biochemii IF PAN.

Po uzyskaniu tytułu magistra kontynuowałam pracę w zespole profesora Piotra Popika, skupiając się na wpływie różnorodnych ligandów receptorów układu glutaminianergicznego na mechanizmy uzależnienia i tolerancji opioidowej, oraz innych zaburzeń neuropsychiatrycznych. Rezultatem tych badań była moja **rozprawa doktorska** pt. *„Rola układu glutaminianergicznego w tolerancji opioidowej/The role of glutamate system on opioid tolerance”* (rozprawa w języku polskim i angielskim) obroniona 24 listopada 2005 roku, której promotorem był profesor Piotr Popik. Jednocześnie, uczestniczyłam w innych projektach naukowych zespołu, samodzielnie lub we współpracy z innymi członkami laboratorium, ucząc i wspierając nowych studentów laboratorium, metodycznie i merytorycznie. Rezultatem moich badań przed-doktorskich było 11 publikacji naukowych (jedna opublikowana już po otrzymaniu doktoratu), z czego w 5 pełniłam rolę pierwszego autora. Wyniki zaprezentowałam na 5 międzynarodowych konferencjach, uzyskując też m.in. nagrodę FENS Travel Award w roku 2000.

W 2002 roku, na zaproszenie profesora Lei Yu (poznane na konferencji *Society for Neuroscience*, 2001 w San Diego, CA, USA) odbyłam półroczny **staż naukowy w University of Cincinnati, OH, USA**. Profesor Yu jest naukowcem (obecnie w Rutgers University, NY, USA), który znacząco przyczynił się do badań nad receptorami opioidowymi, w tym do sklonowania ludzkiego homologu receptora opioidowego μ (MOR). W czasie pobytu w jego laboratorium byłam odpowiedzialna za wdrożenie modelu badawczego tolerancji opioidowej oraz opanowanie nowoczesnych technik molekularnych i biochemicznych. Ten pobyt i inspirująca współpraca z profesorem Yu oraz dr Hanneke Meij (*senior scientist* w laboratorium) ukształtowała moje podejście do nauki, definiując ją jako proces multidyscyplinarny i oparty na współpracy międzypespółowej. Wymiernym rezultatem stażu w USA, było wprowadzenie przeze mnie do naszego laboratorium behawioralnego w Krakowie technik biochemicznych i pozyskanie samodzielnego **grantu promotorskiego KBN 2 P05A 021 27**: *„Badanie zmian w gęstości receptorów NMDA u myszy z tolerancją na przeciwbólne efekty morfiny”*.

W uznaniu mojego dorobku przed-doktorskiego zostałam nagrodzona **(1) Nagrodą Wydziału Nauk Medycznych Polskiej Akademii Nauk** za cykl publikacji dotyczących roli układu glutaminianergicznego w rozwoju i odwracaniu tolerancji na działanie przeciwbólowe morfiny (2003, wraz z profesorem Piotrem Popikiem), **(2) stypendium Fundacji Nauki Polskiej** dla młodych naukowców (2005) oraz **(3) stypendium Fundacji im. J.J. Supniewskich** Polskiej Akademii Nauk (2006).

Podsumowując, doświadczenia zdobyte w okresie przed doktoratem, od metodologii farmakologii klasycznej i behavioralnej po zaawansowane techniki biochemiczne i molekularne, stworzyły solidny fundament dla mojej późniejszej, samodzielnej pracy badawczej i stały się punktem wyjścia do realizacji osiągnięcia habilitacyjnego.

5.1.1 Spis publikacji przed doktoratem:

1. **Kozela E.**, Popik P. *A complete analysis of NMDA receptor subunits in periaqueductal grey and ventromedial medulla of morphine tolerant mice*. Drug Alcohol Depend. 2007; 86(2-3):290-3. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2006.06.018.
2. **Kozela E.**, Wrobel M., Kos T., Wojcikowski J., Daniel W. A., Wozniak K., Slusher B. S., Popik P. *2-MPPA, a selective glutamate synthesis inhibitor, inhibits morphine tolerance but not dependence in C57/Bl mice*. Psychopharmacology. 2005; 183(3):275-84.
3. Danysz W., **Kozela E.**, Parsons C. G., Sladek M., Bauer T., Popik P. *Peripherally acting NMDA receptor/glycineB site receptor antagonists inhibit morphine tolerance*. Neuropharmacology. 2005; 48:360-371.
4. **Kozela E.**, Pilc A., Popik P. *Inhibitory effects of MPEP, an mGluR5 antagonist, and memantine, an N-methyl- D-aspartate receptor antagonist, on morphine antinociceptive tolerance in mice*. Psychopharmacology. 2003; 165 (3):245-251.
5. Popik P., **Kozela E.**, M. Krawczyk M. *Nicotine and nicotinic receptor antagonists potentiate the antidepressant-like effects of imipramine and citalopram*. Brit. J. Pharmacol. 2003, 139:1196-1202.
6. Popik P., **Kozela E.**, Wrobel M., Wozniak K. M., Slusher B. S. *Morphine tolerance and reward but not expression of morphine dependence are inhibited by the selective glutamate carboxypeptidase II (GCP II, NAALADase) inhibitor, 2-PMPA*. Neuropsychopharmacology. 2003; 28 (3):457-467.
7. **Kozela E.**, Popik P. *The effects of NMDA receptor antagonists on acute morphine-antinociception in mice*. Amino Acids. 2002; 23 (1-3):163-168.
8. **Kozela E.**, Danysz W., Popik P. *Uncompetitive NMDA receptor antagonists potentiate morphine antinociception recorded from the tail but not from the hind paw in rats*. Eur.J.Pharmacol. 2001; 423:17-26.
9. Popik P., **Kozela E.**, Pilc A. *Selective agonist of group II glutamate metabotropic receptors, LY354740, inhibits tolerance to analgesic effects of morphine in mice*. Brit. J. Pharmacol. 2000; 130:1425-1431.
10. Popik P., **Kozela E.**, Danysz W. *Clinically available NMDA receptor antagonists memantine and dextromethorphan reverse existing tolerance to the antinociceptive effects of morphine in mice*. Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol. 2000; 361 (4):425-432.
11. Popik P., **Kozela E.** *Clinically available NMDA antagonist, memantine attenuates tolerance to analgesic effects of morphine in a mouse tail flick test*. Pol. J. Pharmacol. 1999; 51:223-231, 1999.

Doniesienie konferencyjne z pobytu na *University of Cincinnati*, OH, USA:

J.T.A. Meij, N Guo, **E. Kozela**, M. Behbehani, W.W.Y. Kao, L. Yu. *GABAA receptor alpha6 subunit deficiency prevents development of morphine tolerance* The FASEB Journal 2008. 22, 712.13-712.13

5.1.2 Najważniejsze osiągnięcia przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

1. Wykazanie kluczowej roli układu glutaminianergicznego w mechanizmach tolerancji opioidowej: Udowodniłam, że ligandy receptorów NMDA oraz metabotropowych receptorów glutaminianergicznym (mGluR) skutecznie hamują rozwój oraz odwracają istniejącą tolerancję na przeciwbólowe działanie morfiny. Wyniki te znacząco poszerzyły wiedzę o molekularnych podstawach oporności i zależności w terapii opioidami.

2. Implementacja multidyscyplinarnego podejścia badawczego: od behawioru do biologii molekularnej: Połączyłam farmakologię behawioralną z technikami biochemicznymi. Dzięki stażowi w University of Cincinnati (USA), wdrożyłam w macierzystej jednostce metodykę badania gęstości receptorów w strukturach mózgu kluczowych dla procesów nocycepcji.

3. Udział w badaniach nad nowymi strategiami terapeutycznymi w zaburzeniach neuropsychiatrycznych: Współtworzyłam projekty dotyczące modulacji układu nikotynowego w kontekście depresji, wykazując potencjał wzmacniania efektów leków przeciwdepresyjnych. Rozszerzenie spektrum zainteresowań o mechanizmy zaburzeń pamięci, depresji i nagrody pozwoliło mi na zbudowanie szerokiego warsztatu badawczego.

3. Pozyskanie i samodzielna realizacja grantu badawczego: Wykazałam się samodzielnością badawczą, uzyskując i realizując własny grant promotorski KBN.

5.1.3 Podsumowanie dorobku naukowego przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Liczba publikacji w bazie JCR: **10**

Liczba publikacji w bazie JCR jako pierwszy autor: 4

Sumaryczny IF: **30,457**

Łączna liczba punktów MNiSW: 191

5.2 Aktywność naukowa po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

5.2.1 Aktywność naukowo-badawcza po doktoracie

Po obronie rozprawy doktorskiej w listopadzie 2005 roku kontynuowałam pracę badawczą na stanowisku asystenta w Zakładzie Biochemii Instytutu Farmakologii PAN do sierpnia 2006 roku. W lutym 2007 roku rozpoczęłam **staż podoktorski** w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Weizmanna w Izraelu w zespole profesora Zvi Vogla. Przesunięcie terminu rozpoczęcia stażu wynikało z urlopu naukowego (*sabbatical*) profesora Vogla. Moje badania podoktorskie skupiły się na wyjaśnieniu roli oraz mechanizmów działania głównych fitokannabinoidów w modelach procesów neurozapalnych. Badania te stanowią integralny komponent prezentowanego osiągnięcia habilitacyjnego.

Od grudnia 2009 roku kontynuowałam staż podoktorski pod kierownictwem profesora Zvi Vogla na Uniwersytecie w Tel Awiwie, gdzie pełnił on rolę dyrektora The Dr. Miriam and Sheldon G. Adelson Center for the Biology of Addictive Diseases. W lipcu 2012 roku awansowałam na stanowisko **Research Associate**. Efektem mojej ówczesnej działalności badawczej jest (i) 16 publikacji pełnotekstowych, w tym 8 jako pierwszy autor (z czego w 6 pełniłam rolę autora korespondencyjnego), (ii) współautorstwo rozdziału w monografii naukowej, oraz (iii) 17 doniesień zjazdowych, w tym seminariów lub wykładów na zaproszenie (szczegółowy wykaz w punkcie 7.3).

Wyrazem uznania mojego doświadczenia i wiedzy w obszarze farmakologii kannabinoidów było zaproszenie mnie w 2018 roku przez Ministerstwo Zdrowia Izraela do panelu wykładowców szkolących personel medyczny w zakresie terapeutycznego zastosowania produktów opartych na *Cannabis* (szerzej opisanego w punkcie 6.1). W 2019 roku objęłam stanowisko wykładowcy na Wydziale Farmacji Uniwersytetu Hebrajskiego (Faculty of Pharmacy, The Hebrew University of Jerusalem), gdzie do 2023 roku prowadziłam działalność dydaktyczną dla studentów farmacji oraz personelu medycznego.

Moje osiągnięcia zostały również docenione przez międzynarodowe środowisko naukowe, czego dowodem są prestiżowe nagrody, m.in.: *Young Investigator Award* (Jerusalem, Israel) oraz wyróżnienia typu *Travel Award* przyznane przez *International Cannabinoid Research Society* (Szkocja, 2008) oraz *Gordon Research Conferences* (USA, 2009). W tym okresie aktywnie uczestniczyłam w życiu naukowym jako recenzent w licznych czasopismach o zasięgu globalnym oraz jako ekspert merytoryczny oceniający projekty badawcze dla Israel Science Foundation (ISF; punkt 7.2 autoreferatu). Angażowałam się też aktywnie we wspieranie współpracy między nauką a przemysłem czego wynikiem było zorganizowanie przez ze mnie autorskiej sesji naukowej podczas międzynarodowej konferencji *CannaTech* w Tel Awiwie w 2017 roku (punkt 6.3) oraz wykład na zaproszenie organizatorów *Isranalytica, the Israel Analytical Chemistry Society Meeting* (2019) w czasie pełnienia funkcji głównego naukowca w sektorze R&D.

W okresie od września 2018 do września 2019 roku realizowałam zadania w sektorze biotechnologicznym, pełniąc funkcję **dyrektora naukowego** (*Chief Scientific Officer*) w organizacji typu CRO (ang. *Contract Research Organization*). Odpowiadałam za strategiczną koordynację projektów rozwoju leków opartych na związkach pochodnych *Cannabis*, od fazy izolowania i oczyszczania związków, przez zaawansowane etapy przedkliniczne (formulacja, toksykologia), aż po przygotowanie dokumentacji dla wczesnych faz badań klinicznych. Doświadczenie to pozwoliło na efektywną aplikację wyników badań podstawowych w obszarze translacyjnym i wdrożeniowym (opisane w punkcie 6.4). Jako reprezentant sektora R&D brałam czynny udział w wydarzeniach naukowych (punkt 7.3) oraz aktywnie pozyskiwałam zewnętrzne finansowanie na innowacyjne

projekty badawcze, co pozwoliło mi na zdobycie unikalnego doświadczenia w zarządzaniu nauką w dynamicznym środowisku przemysłowym.

5.2.2 Inne publikacje w roli współautora z okresu, w którym powstał cykl H1-H8

Niezależnie od głównego nurtu badań przedstawionego w cyklu osiągnięć H1–H8, aktywnie uczestniczyłam w projektach realizowanych przez innych członków zespołu badawczego. Moje wsparcie merytoryczne i metodyczne dotyczyło przede wszystkim analizy wieloaspektowego wpływu fitokannabinoidów na funkcje komórek mikrogleju oraz przebieg procesów neurozapalnych. Efektem tej współpracy jest współautorstwo w następujących publikacjach:

1. Juknat A., **Kozela E.**, Kaushansky N, Mechoulam R., Vogel Z. *Anti-inflammatory effects of the cannabidiol derivative dimethylheptyl-cannabidiol - studies in BV-2 microglia and encephalitogenic T cells.* **J Basic Clin Physiol Pharmacol.** **2016**; 27(3):289-96. doi: 10.1515/jbcpp-2015-0071.
2. Rimmerman N., Ben-Hail D., Porat Z., Juknat A., **Kozela E.**, Daniels M.P., Connelly P.S., Leishman E., Bradshaw H.B., Shoshan-Barmatz V. Vogel Z. *Direct modulation of the outer mitochondrial membrane channel, voltage-dependent anion channel 1 (VDAC1) by cannabidiol: a novel mechanism for cannabinoid-induced cell death.* **Cell Death Dis.** **2013**; 4(12):e949. doi: 10.1038/cddis.2013.471.
3. Juknat A., Pietr M., **Kozela E.**, Rimmerman N, Levy R., Gao F., Coppola G., Geschwind D., Vogel Z. *Microarray and pathway analysis reveal distinct mechanisms underlying cannabinoid-mediated modulation of LPS-induced activation of BV-2 microglial cells.* **PLoS One.** **2013**; 8(4):e61462. doi: 10.1371/journal.pone.0061462.
4. Juknat A., Pietr M., **Kozela E.**, Rimmerman N., Levy R., Coppola G., Geschwind D., Vogel Z. *Br J Pharmacol. Differential transcriptional profiles mediated by exposure to the cannabinoids cannabidiol and Δ9-tetrahydrocannabinol in BV-2 microglial cells.* **Br J Pharmacol.** **2012**; 165(8):2512-28. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01461.x.
5. Rimmerman N., Bradshaw H.B., **Kozela E.**, Levy R., Juknat A., Vogel Z. *Compartmentalization of endocannabinoids into lipid rafts in a microglial cell line devoid of caveolin-1.* **Br J Pharmacol.** **2012**; 165(8):2436-49. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01380.x.
6. Juknat A., Rimmerman N., Levy R., Vogel Z., **Kozela E.** *Cannabidiol affects the expression of genes involved in zinc homeostasis in BV-2 microglial cells.* **Neurochem Int.** **2012**; 61(6):923-30. doi: 10.1016/j.neuint.2011.12.002
7. Rimmerman N., Juknat A., **Kozela E.**, Levy R., Bradshaw H.B., Vogel Z. *The non-psychoactive plant cannabinoid, cannabidiol affects cholesterol metabolism-related genes in microglial cells.* **Cell Mol Neurobiol.** **2011.** 31(6):921-30. doi: 10.1007/s10571-011-9692-3.
8. Pietr M., **Kozela E.**, Levy R., Rimmerman N., Lin YH, Stella N., Vogel Z., Juknat A. *Differential changes in GPR55 during microglial cell activation.* **FEBS Lett.** **2009**; 583(12):2071-6. doi: 10.1016/j.febslet.2009.05.028.
9. **Kozela E.** [§], Juknat A., Gao F., Coppola G., Kaushansky N., Vogel Z. *Insights into gene expression of activated pathogenic autoimmune T cells, studies in experimental multiple sclerosis-like model.* **Immunome Res.** **2016**; 12 (108), 2. doi: 10.4172/1745-7580.1000108

Ważna uwaga dotycząca publikacji 9: Praca została opublikowana w okresie przejmowania uznanego międzynarodowo czasopisma Immunome Research przez podmiot komercyjny stosujący nieetyczne praktyki (*journal hijacking*), co skutkowało brakiem indeksacji tej publikacji w bazie PubMed w tamtym czasie. Chce jednak podkreślić, że publikacja prezentuje rzetelne dane wypracowane zgodnie ze standardami badawczymi Tel Aviv University, Weizmann Institute of Science oraz University of California Los Angeles (UCLA, CA, USA), stanowiąc istotne merytoryczne uzupełnienie mojego dorobku. W pracy pełniłam rolę pomysłodawcy, koordynatora projektu oraz autora korespondencyjnego [§].

Rozdział w monografii

Rimmerman N., **Kozela E.**, Levy R., Vogel Z., Juknat A. (2013). *Cannabinoid Signaling Through Non-CB1R/Non-CB2R Targets in Microglia*. In: Abood, M., Sorensen, R., Stella, N. (eds) endoCANNABINOIDS. The Receptors, vol 24. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4669-9_7

5.2.3 Aktywność naukowa i zarządzanie zespołem

Kierowanie laboratorium psychobiologii

W maju 2020 roku objęłam stanowisko **Research Fellow** w Katedrze Psychologii Wydziału Nauk Społecznych Uniwersytetu Hebrajskiego w Jerozolimie, w grupie badawczej profesora Raza Yirmiya (Laboratorium Psychoneuroimmunologii). Dzięki wykazanej inicjatywie oraz skuteczności w zarządzaniu projektami badawczymi, we wrześniu 2020 awansowałam na stanowisko **Senior Research Fellow**. Równolegle powierzono mi funkcję kierownika laboratorium (**Lab Manager**), co wiązało się z pełną odpowiedzialnością operacyjną za multidyscyplinarne laboratorium specjalizujące się w badaniu roli procesów zapalnych i neurozapalnych w patogenezie depresji (Yirmiya, 2024, *Brain Behav Immunity*; Yirmiya *et al.*, 2015, *Trends in Neurosci*). W okresie mojej aktywności w laboratorium zarządzałam projektami o charakterze *in vivo*, *in vitro* oraz klinicznym (realizowanymi we współpracy z Kliniką Psychiatrii Sheba Medical Center w Tel Awiwie i dr Revital Amiaz, dyrektor Oddziału Psychiatrii). Projekty te koncentrowały się **(i)** na roli procesów zapalnych w patogenezie i terapii depresji oraz **(ii)** interakcji farmakologicznej związków pochodzących z *Cannabis* z lekami przeciwpalnymi, jako nowej strategii w terapii depresji lekooopornej.

Pełniąc funkcję *Senior Research Fellow* oraz kierownika laboratorium, wykazałam się samodzielnością badawczą i organizacyjną w następujących obszarach:

- **Zarządzanie infrastrukturą badawczą:** Zaprojektowałam i wdrożyłam od podstaw stanowisko *in vitro* dedykowane badaniom interakcji kannabinoidów oraz innych związków czynnych *Cannabis* w modelach aktywacji mikrogleju i komórkach nabłonkowych OUN (linia *bEnd*). Wyniki tych badań weszły w skład publikacji #1 i #3 (lista poniżej) i są integralną częścią patentu **WO2022013874A1**.
- **Nadzór nad technologiami molekularnymi:** Odpowiadałam za koordynację pracowni molekularnej, w tym za procesy genotypowania oraz zaawansowane analizy transkrypcji (qPCR, RNA-Seq).
- **Koordynacja współpracy międzynarodowej:** Prowadziłam współpracę ze *Stanley Medical Research Institute* (Rockville, MD, USA) badając rolę mikrogleju i immunoregulatorów w zaburzeniach neuropsychiatrycznych. Wyniki części tych badań weszły w skład publikacji #2.
- **Realizacja badań klinicznych:** Przeprowadzałam eksperyment kliniczny we współpracy z Kliniką Psychiatrii, *Sheba Medical Center*, w tym wywiady z pacjentami, kolekcję i integrację danych klinicznych oraz nadzorowałam profilowanie transkrypcyjne frakcji PBMC pacjentów z depresją lekoooporną. Wstępne wyniki tych badań zostały przedstawione jako doniesienie zjazdowe.
- **Kształcenie kadry naukowej:** Pełniłam rolę opiekuna naukowego merytorycznie i metodycznie prowadząc studentów przez proces realizacji ich prac magisterskich i doktorskich (Elad Robinson, Hodaya Verdiger, Eyal Dinur, Lior Nagan). Moje wsparcie obejmowało zarówno projektowanie doświadczeń, jak i nadzór nad ich egzekucją oraz analizą wyników.

Wymiernym efektem mojego kierownictwa i wkładu koncepcyjnego jest **(i)** współautorstwo w trzech publikacjach, **(ii)** doniesienia konferencyjne oraz **(iii)** status **współtwórcy/współwykonawcy**

patentu nr WO2022013874A1 (umowa wewnętrzna z jednostką *Yissum Technology Transfer &IP*, Hebrew University of Jerusalem).

Publikacje:

1. Dinur E., Goldenberg H., Robinson E., Naggan L., **Kozela E.**, Yirmiya R. *A Novel Anti-Inflammatory Formulation Comprising Celecoxib and Cannabidiol Exerts Antidepressant and Anxiolytic Effects.* **Cannabis Cannabinoid Res.** **2024.** 9(2):561-580. doi: 10.1089/can.2022.0225.
2. Naggan L., Robinson E., Dinur E., Goldenberg H., **Kozela E.**, Yirmiya R. *Suicide in bipolar disorder patients is associated with hippocampal microglia activation and reduction of lymphocytes-activation gene 3 (LAG3) microglial checkpoint expression.* **Brain Behav Immun.** **2023.** 110:185-194. doi: 10.1016/j.bbi.2023.02.021.
3. Rimmerman N., Verdiger H., Goldenberg H., Naggan L., Robinson E., **Kozela E.**, Gelb S, Reshef R., Ryan K.M, Ayoun L., Refaeli R., Ashkenazi E., Schottlender N., Ben Hemo-Cohen L., Pienica C., Aharonian M., Dinur E., Lazar K., McLoughlin D.M., Zvi A.B., Yirmiya R. *Microglia and their LAG3 checkpoint underlie the antidepressant and neurogenesis-enhancing effects of electroconvulsive stimulation.* **Mol Psychiatry.** **2022.** 27(2):1120-1135. doi: 10.1038/s41380-021-01338-0.

Doniesienie konferencyjne:

Amiaz R, **Kozela E**, Naggan L, Robinson R, Gale-Treister Z, Berkenstadt H, Ravona-Springer R, Weiser M, Rimmerman N, Yirmiya R. *Inflammatory Markers as Predictors of the efficacy of Electroconvulsive Therapy (ECT) in Major Depression Patients.* Joint project of The Psychiatric Division, Sheba Medical Center, Israel & Department of Psychology, The Hebrew University of Jerusalem, Israel. 27th Meeting of Israeli Society for Biological Psychiatry, **2024**, Ra'anana, Israel.

R Yirmiya, H Goldenberg, E Robinson, E Dinur, L Naggan, H Verdiger, **E Kozela.** (#0018) HARNESSING CANNABIS MOLECULES TO FIGHT INFLAMMATION-ASSOCIATED DEPRESSION. 16th International Medical Cannabis Conference (CannX 2022) Tel Aviv, Israel, March 14-15, 2022. *Med Cannabis Cannabinoids.* **2022** Mar 10;5(1):46.

Dinur, E., Goldenberg, H. Robinson, E., Naggan, L., **Kozela, E.**, Yirmiya, R. A novel microglia-suppressive formulation exerts potent antidepressant and anxiolytic effects. *BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY* 106, pp. 31-31. 28th Annual Meeting of the PsychoNeuroImmunology-Research-Society; June 15-18, **2022**, Zurich, Switzerland.

Naggan, L; Robinson, E; (...); **Kozela E.**, Yirmiya, R. Elevated microglial density and reduced LAG3 checkpoint expression are associated with suicide in bipolar disorder patients. *BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY* 106, pp. 35-36. 28th Annual Meeting of the PsychoNeuroImmunology-Research-Society; June 15-18, **2022**, Zurich, Switzerland.

Robinson, E; Rimmerman, N; (...); **Kozela E.**, Yirmiya, R. Microglial LAG3 checkpoint as a target for antidepressant therapeutics. *BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY* 106, pp. 25-25. 28th Annual Meeting of the PsychoNeuroImmunology-Research-Society; June 15-18, **2022**, Zurich, Switzerland.

Kierowanie laboratorium w obszarze biologii pęcherzyków zewnątrzkomórkowych i malarii

W grudniu 2021 roku objęłam stanowisko kierownika laboratorium oraz *Research Associate* w zespole profesor Nety Regev-Rudzki w Departamencie Nauk Biomolekularnych (Biomolecular Sciences) Instytutu Weizmanna. Moja aktywność w tej prestiżowej jednostce wykroczyła poza standardową pracę badawczą, obejmując kompleksowe zarządzanie interdyscyplinarnymi projektami, złożoną infrastrukturą, dynamicznym i międzynarodowym zespołem, a także koordynację międzynarodowej współpracy naukowej.

- W wymiarze ściśle naukowym **realizowałam samodzielne projekty** dotyczące roli pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (ang. *Extracellular vesicles*, EVs) w komunikacji międzykomórkowej, wykorzystując model *in vitro* ciężkiej postaci ludzkiej malarii. Kluczowym osiągnięciem tego okresu było opracowanie przeze mnie i wdrożenie nowatorskich nanometod detekcji oraz charakteryzacji EVs. We współpracy z jednostkami typu *core facilities* i przynależnymi im zespołami badawczymi rozwinęłam metodę wykrywania kwasów nukleinowych (DNA i RNA) w pęcherzykach z wykorzystaniem wysokorozdzielczej cytometrii przepływowej (publikacja #3, **Kozela et al., 2025**; oraz #1 **Abou Karam et al., 2026**). Ta zaawansowana technika stała się również podstawą stworzonego przeze mnie protokołu badania kinetyki absorpcji EVs przez ludzkie komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC; publikacja #4 **Alfandari et al., 2025**; IF = 16.1). Równolegle prowadziłam zaawansowane prace nad wizualizacją i pomiarem zawartości DNA w pęcherzykach EV z użyciem mikroskopii sił atomowych (AFM, projekt we współpracy z dr Irit Rosenhek-Goldian, Department of Chemical Research Support). Wstępne wyniki tych badań zaprezentowałam już w roku 2025 w formie doniesień zjazdowych (**punkt 7.3** autoreferatu). Projekt jest kontynuowany przez zespół w konsultacji ze mną.
- Istotnym filarem mojej działalności była **opieka mentorska oraz zarządzanie kadrą naukową**. Odpowiadałam za rekrutację, szkolenie oraz merytoryczny nadzór nad pracą asystentów, studentów (Daniel Alfandari, Yuval Berger, Anton Moisieiev, Gal Efrat, Yaara Shoham, Liron Bas) oraz stażystów po doktoracie. Jako współautorka i wykonawczyni grantów (wewnętrznych, krajowych oraz międzynarodowych) koordynowałam współpracę z licznymi ośrodkami zagranicznymi (m.in. z Brazylii, Belgii, Kanady, Francji i Szwecji). Wymiernym wynikiem tej współpracy jest obecnie publikacja #2 oraz rozdział w monografii.
- Moje **kompetencje w zarządzaniu** potwierdza pełna odpowiedzialność za złożoną i zaawansowaną infrastrukturę laboratorium łączącym w swoich projektach techniki komórkowe, biochemiczne, molekularne, bioinformatyczne, biofizyczne, nanotechnologię oraz chemię analityczną i zaawansowane obrazowanie. Nadzorowałam procedury bezpieczeństwa biologicznego (BHP) obowiązujące podczas pracy z materiałem zakaźnym i krwią ludzką, a także w obszarze manipulacji genetycznych (CRISPR/Cas9).
- Byłam również aktywna w **zakresie dydaktyczno-szkoleniowym**. We współpracy z *Protein Analysis Unit* Instytutu Weizmanna oraz firma *Malvern Panalytical* zorganizowałam szkolenie z techniki *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA, **punkt 6.3** autoreferatu) dla pracowników i studentów wszystkich wydziałów Instytutu Weizmanna (listopad 2022).
- Istotnym elementem mojego rozwoju zawodowego w tym okresie było zakwalifikowanie się a następnie uczestnictwo w warsztacie dla wąskiego grona kadry naukowej Instytutu Weizmanna „*Idea to Action 2025*”, zorganizowanym przez jednostkę badań translacyjnych Instytutu (BINA Translational Research Unit; 16-19.02.2025). To niezwykle ciekawe szkolenie pozwoliło mi na pogłębienie kompetencji w zakresie prezentacji projektów o charakterze wdrożeniowym oraz na poznanie i nawiązanie współpracy z innymi naukowcami Instytutu i reprezentantami sektora komercyjnego. Zwieńczeniem warsztatu było przyznanie mi **nagrody „Best Project Pitch”**. To wyróżnienie traktuję nie tylko jako potwierdzenie moich umiejętności w zakresie komunikacji naukowej, ale również jako dowód uznania dla mojego ogromnego entuzjazmu i zaangażowania w rozwój innowacyjnych rozwiązań badawczych. Co więcej, zainicjowałam współpracę naszego laboratorium z BINA Translational Research Unit, co zaowocowało utworzeniem wspólnego projektu wdrożeniowego.

Okres ten stanowił ważny etap mojej drogi naukowej, będąc świadomym i inspirującym rozszerzeniem dotychczasowych zainteresowań badawczych o nowe obszary. Praca ta pozwoliła mi na zdobycie unikalnego doświadczenia w zakresie interakcji gospodarz-patogen (*host-pathogen*), biologii pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EVs) oraz nowoczesnych nanotechnologii. Był to również czas intensywnego rozwoju umiejętności kierowniczych związanych z zarządzaniem dynamicznym, interdyscyplinarnym i międzynarodowym zespołem w warunkach wysokiego rygoru bezpieczeństwa biologicznego.

Wymiernym rezultatem tego etapu jest **(i)** publikacja sześciu prac (w tym dwóch jako pierwszy autor, jedna praca przeglądowa), **(ii)** rozdziału w monografii oraz **(iii)** trzech doniesień konferencyjnych. Na zaproszenie organizatorów *The Israeli Society for Parasitology, Protozoology and Tropical Diseases* (ISPPTD) pełniłam również funkcję prowadzącej sesję wykładową na konferencji w 2024 roku (**punkt 7.3**).

Nabyte doświadczenia i specjalistyczną wiedzę chcę zaimplementować w moich planach badawczych w obecnym miejscu zatrudnienia, w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja PAN. Moim celem jest dalsze rozwijanie tematyki EVs jako innowacyjnego kierunku w badaniach nad neurobiologią i neurofarmakologią.

Publikacje:

1. Abou Karam P., Kiper E., Ziv T., Yadid S., **Kozela E.**, Zharoni N., Nevo R., Alfandari D., Otesh H., Cruz Camacho A., Lubelsky Y., Rotkopf R., Weizman E., Cossin M., Rosenhek-Goldian I., Petrovich-Kopitman E., Porat Z., Shoshani O., Ulitsky I., Levy C., Melamed Z., Regev-Rudzki N. *Nuclear import of malaria RNA rewires splicing in host immune cells*. **Cell Rep.** **2026**; 45(2):116953. doi: 10.1016/j.celrep.2026.116953.
2. Meneghetti P., **Kozela E.**, Alfandari D., Karam P.A., Porat Z., Xander P., Regev-Rudzki N., Schenkman S., Torrecilhas A.C. *Trypanosoma Cruzi G and Y Strains' Metacyclic Trypomastigote Sheds Extracellular Vesicles and Trigger Host-Cell Communication*. **Cell Biol Int.** **2025**; 49(9):1141-1162. doi: 10.1002/cbin.70043.
3. **Kozela E.**, Petrovich-Kopitman E., Berger Y., Camacho A.C., Shoham Y., Morandi M.I., Rosenhek-Goldian I., Rotkopf R., Regev-Rudzki N. *Spectral flow cytometry for detecting DNA cargo in malaria parasite-derived extracellular vesicles*. **J Biol Chem.** **2025**; 301(5):108481. doi: 10.1016/j.jbc.2025.108481.
4. Alfandari D., Rosenhek-Goldian I., **Kozela E.**, Nevo R., Senprún M.B., Moisieiev A., Sogauker N., Azuri I., Gelman S., Kiper E., Ben Hur D., Dharan R., Sorkin R., Porat Z., Morandi M.I., Regev-Rudzki N. *Host Immune Cell Membrane Deformability Governs the Uptake Route of Malaria-Derived Extracellular Vesicles*. **ACS Nano.** **2025**; 19(10):9760-9778. doi: 10.1021/acsnano.4c07503.
5. **Kozela E.**, Meneghetti P., Regev-Rudzki N., Torrecilhas A.C., Porat Z. *Subcellular particles for characterization of host-parasite interactions*. **Microbes Infect.** **2024**; 26(7):105314. doi: 10.1016/j.micinf.2024.105314.
6. Cruz Camacho A., Alfandari D., **Kozela E.**, Regev-Rudzki N. *Biogenesis of extracellular vesicles in protozoan parasites: The ESCRT complex in the trafficking fast lane?* **PLoS Pathog.** **2023**; 19(2):e1011140. doi: 10.1371/journal.ppat.1011140.

Rozdział w monografii

Kozela, E., Smagghe, G., Regev-Rudzki, N. (2025). Message in a Vesicle: The Role of Extracellular Vesicle Cargo in Parasite–Host Inter-Kingdom Communication and Spread of Systemic RNAi in

Insects. In: Smagghe, G., Palli, S.R., Swevers, L. (eds) RNA interference in Agriculture: Basic Science to Applications. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-81549-2_7

5.2.4 Najważniejsze osiągnięcia po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

1. **Wyjaśnienie mechanizmów przeciwzapalnego działania fitokannabinoidów w obrębie OUN:** W ramach stażu podoktorskiego w Instytucie Naukowym Weizmanna oraz na Uniwersytecie w Tel Awiwie przeprowadziłam cykl badań nad wpływem CBD i THC na procesy neurozapalne. Efektem tej aktywności jest 16 publikacji pełnotekstowych (w tym 8 jako pierwszy autor, 6 jako korespondencyjny), które stanowią fundament merytoryczny obecnego osiągnięcia habilitacyjnego.
2. **Opracowanie i wdrożenie nowatorskich metod detekcji pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EVs):** Opracowałam innowacyjne protokoły detekcji cargo DNA/RNA w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych z wykorzystaniem wysokorozdzielczej cytometrii przepływowej oraz mikroskopii sił atomowych (AFM). Wyniki te, opublikowane m.in. w ACS Nano (IF=16.1) i w Journal of Biological Chemistry, zdefiniowały nowe standardy w badaniach nad komunikacją międzykomórkową za pośrednictwem EVs.
3. **Rozwój innowacyjnych formułacji farmaceutycznych:** Byłam współwykonawcą patentu dotyczącego nowej formułacji przeciwzapalnej łączącej selektywne inhibitory COX-2 z CBD i innymi związkami pochodzącymi z *Cannabis*. Moje badania *in vitro* nad interakcjami tych związków w modelach aktywacji mikrogleju dały silne podstawy do opracowania nowych strategii wspomagających terapię depresji lekoopornej.
4. **Badanie neuroimmunologicznych mechanizmów terapii elektrowstrząsowej (ECT) w depresji:** Współtworzyłam przełomowe badania, które zidentyfikowały punkt kontrolny mikrogleju LAG3 jako kluczowy mediator przeciwdepresyjnego działania elektrowstrząsów. Realizowałam projekt kliniczny badający markery zapalne jako predykatory skuteczności terapii ECT u pacjentów z depresją lekooporną. Wyniki te otwierają możliwość personalizacji terapii zaburzeń afektywnych w oparciu o profil immunologiczny pacjenta.
5. **Doświadczenie w zarządzaniu projektami naukowymi w przemyśle:** W sektorze biotechnologicznym odpowiadałam za strategiczną koordynację rozwoju leków opartych na produktach i pochodnych *Cannabis*.
6. **Kierowanie multidyscyplinarnymi zespołami badawczymi:** Pełniąc funkcje takie jak Senior Research Fellow oraz Lab Manager na Uniwersytecie Hebrajskim oraz w Instytucie Weizmanna, wspierałam rozwój i zarządzałam kadrą naukową, infrastrukturą badawczą, budżetami grantowymi oraz międzynarodową współpracą naukową.
7. **Działalność ekspercka, edukacyjna i translacyjna:** Na zaproszenie Ministerstwo Zdrowia Izraela należałam do panelu ekspertów szkolących personel medyczny w zakresie terapii kannabinoidowej. Pełniłam również funkcję recenzenta w globalnych czasopismach naukowych oraz eksperta merytorycznego oceniającego projekty dla Israel Science Foundation (ISF).

5.2.4 Podsumowanie dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Liczba publikacji w bazie JCR: **26 + 2** rozdziały w monografii

Liczba publikacji w bazie JCR jako pierwszy autor: **11** jako ostatni, + 1 rozdział w monografii jako pierwszy autor

Sumaryczny IF: **128,027**

Łączna liczba punktów MNiSW: 1907

5.3 Przedstawienie sumarycznego dorobku działalności naukowo-badawczej

(dotyczy wszystkich publikacji)

Liczba publikacji w bazie JCR: **36 + 2** rozdziały w monografii

Liczba publikacji w bazie JCR jako pierwszy autor: **16 + 1** jako ostatni

Sumaryczny IF: **158,484**

Łączna liczba punktów MNiSW: **2098**

Liczba cytowań (Web of Science): **1787** (na dzień 7.04.0264, w tym 1686 bez autocytowań)

Liczba cytowań (Scopus): **2005** (na dzień 7.04.0264, w tym 1884 bez autocytowań)

Indeks Hirsha (Web of Science): **24**

Indeks Hirsha (Scopus): **26/25**

Współautorstwo doniesień zjazdowych: **27** (wyłącznie jako pierwszy autor czyli prezentujący poster lub wykładowca; inne nie wliczone)

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

6.1 Działalność dydaktyczna

Istotnym filarem mojej aktywności pozabadawczej była działalność dydaktyczna ukierunkowana na kształcenie kadr medycznych i farmaceutycznych. W 2018 roku, na zaproszenie **Ministerstwa Zdrowia Izraela** (konkretnie *Israeli Medical Cannabis Unit*), objęłam **funkcję wykładowcy** w ogólnokrajowym programie certyfikacyjnym. Moja rola polegała na przygotowaniu merytorycznym lekarzy, farmaceutów oraz wykwalifikowanego personelu medycznego w zakresie mechanizmów działania układu endokannabinoidowego oraz farmakologii produktów na bazie *Cannabis*. Działalność ta była integralnym elementem systemowej reformy sektora medycznego w Izraelu, mającej na celu standaryzację i włączenie terapii kannabinoidowych do oficjalnych protokołów leczenia. W latach 2018–2023 prowadziłam wykłady i kursy specjalistyczne (w języku hebrajskim i angielskim) w następujących wiodących ośrodkach akademickich i klinicznych:

- ✓ Faculty of Medicine, Tel Aviv University (Tel Awiw)
- ✓ Faculty of Medicine, Technion – Israel Institute of Technology (Haifa)
- ✓ Israel Medical Association (Ramat Gan)
- ✓ Sheba Medical Center (Ramat Gan, największy ośrodek medyczny w regionie).

W latach 2019 - 2023 byłam również **wykładowcą na Faculty of Pharmacy, The Hebrew University of Jerusalem**, gdzie prowadziłam zajęcia dla magistrów farmacji oraz personelu medycznego. Moje zaangażowanie dydaktyczne objęło również ośrodki regionalne, takie jak *Sapir Academic College* w Yeruham, Izrael (2021), gdzie współtworzyłam programy szkoleniowe dla farmaceutów. Łączenie pracy badawczej z aktywnym nauczaniem w tak prestiżowych jednostkach pozwoliło mi na efektywny transfer wyników badań podstawowych do praktyki klinicznej, budując most między nauką a nowoczesną terapią medyczną.

Ponadto, na zaproszenie Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, uczestniczyłam jako **wykładowca w XXXII Zimowej Szkole Farmakologii** (13-16 stycznia 2015). Moje wystąpienie dotyczyło farmakologii kannabinoidów i były skierowane do zaawansowanej grupy badaczy oraz doktorantów.

Od lipca do końca 2023 roku pełniłam rolę **mentora w programie „Diversity – Inclusion Program for Minorities”** realizowanym przez Instytut Nauki Weizmanna. Byłam opiekunem naukowym studentki (*Arab Beduin undergraduate*), wspierając jej licencjacki projekt końcowy wykonany w naszym laboratorium i przedstawiony przez nią w Achva Academic College. W ramach programu wspierałam jej edukację i rozwój naukowy.

W latach 2020–2025 pełniłam funkcję kierownika dwóch laboratoriów, co wiązało się z kompleksowym zarządzaniem zespołami badawczymi oraz **opieką mentorską**. Moje obowiązki obejmowały rekrutację, szkolenia oraz nadzór merytoryczny nad pracą asystentów naukowych, stażystów podoktorskich oraz studentów. Prowadziłam opiekę naukową nad dyplomantami Achva Academic College oraz wspierałam doktorantów i magistrantów Uniwersytetu Hebrajskiego w Jerozolimie oraz Instytutu Nauki Weizmanna.

6.2 Działalność popularyzacyjna

Ważnym elementem mojej postawy zawodowej jest popularyzacja nauki oraz dzielenie się wiedzą ze środowiskami pozanaukowymi. Moja aktywność w tym obszarze koncentruje się na

budowaniu świadomości społecznej w zakresie metodologii naukowej oraz terapii medycznych. Do moich najważniejszych inicjatyw należą:

- **Wsparcie pacjentów psychiatrycznych:** W 2022 roku zgłosiłam się jako wolontariuszka do organizacji **Enosh – The Israeli Mental Health Association**. Przeprowadziłam zajęcia w języku hebrajskim dla pacjentów i podopiecznych organizacji na temat działania *Cannabis* i naukowych podstaw medycznego zastosowania kannabinoidów w psychiatrii i innych dziedzinach medycyny. Celem moich spotkań była edukacja w zakresie bezpiecznego i bardziej świadomego używania *Cannabis* ale też przeciwdziałanie stygmatyzacji.
- **Edukacja wczesnoszkolna:** Propagując zainteresowanie nauką wśród najmłodszych, przeprowadziłam w 2022 roku warsztaty dla najmłodszych uczniów szkoły podstawowej w języku hebrajskim pod tytułem „*Naukowiec – kto to jest i co porabia?*” w *Ilan Ramon Primary School* (Rehovot, Izrael), przybliżając specyfikę pracy badawczej uczniom klas pierwszych.
- **Międzynarodowa edukacja medyczna:** W kwietniu 2025 roku, na zaproszenie **Miva Open University** oraz Medical Students Association w Nigerii, uczestniczyłam jako ekspert w panelu międzynarodowym online poświęconym walce z malarią ("*The Zero Malaria Target – Can Nigeria meet it by 2030?*"). Prezentacja była skierowana do afrykańskiego środowiska medycznego, w tym studentów medycyny, i dotyczyła roli badań naukowych w osiągnięciu celów zdrowia publicznego.
- **Wczesna działalność organizacyjna:** Moje zaangażowanie w promowanie nauki ma charakter wieloletni i systematyczny, co dokumentuje m.in. pełnienie funkcji **przewodniczącej Koła Przyrodników Studentów Uniwersytetu Jagiellońskiego** (1995/1996), gdzie stawiałam pierwsze kroki w organizacji akademickiego życia naukowego.

6.3 Działalność organizacyjna

Moja aktywność zawodowa obejmuje również wymiar organizacyjny, przejawiający się w kreowaniu przestrzeni do wymiany myśli naukowej oraz koordynacji prestiżowych wydarzeń o charakterze międzynarodowym:

- W marcu 2017 roku pełniłam rolę **organizatora i moderatora** sesji naukowej podczas międzynarodowej konferencji *CannaTech: Accelerate Cannabis Innovations* w Tel Awiwie. *CannaTech* to konferencja międzynarodowa i forum wymiany wiedzy o technologiach kannabinoidowych, co wymagało ode mnie selekcji merytorycznej wystąpień oraz integracji środowisk naukowych z sektorem innowacji.
- W listopadzie 2022 **zorganizowałam warsztaty na temat metody *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA)** dla pracowników naukowych i studentów Instytutu Weizmanna we współpracy z Protein Analysis Unit, Weizmann Institute of Science i *Malvern Panalytical*, Germany.

6.4 Działalność w zakresie zarządzanie innowacjami i działalności wdrożeniowej

Istotnym aspektem mojego profilu zawodowego jest **doświadczenie w zarządzaniu zaawansowanymi projektami badawczo-rozwojowymi (R&D)** na stanowisku *Chief Scientist* (CSO) w *Nextage Cannabis Innovation Center* (*Nextar Chempharma Solutions Ltd*, Izrael), będącym tzw. kontraktową jednostką badawczą (ang. *Contract Research Organization* [CRO]). Pełnienie tej funkcji pozwoliło mi na zdobycie wiedzy i kompetencji w zakresie operacyjnego i strategicznego kierowania procesem rozwoju leków opartych na *Cannabis* na wczesnym etapie (*early-stage drug development*). Do moich kluczowych obowiązków i osiągnięć w tym obszarze należało:

- **Kompleksowa koordynacja cyklu rozwoju produktu:** Zarządzałam współpracą pomiędzy sponsorami, dostawcami surowców a wyspecjalizowanymi działami CRO: chemicznym, analitycznym, formulacyjnym oraz produkcyjnym. Nadzorowałam też procesy zapewnienia jakości (QA) oraz zgodności z wymogami regulacyjnymi.
- **Projektowanie badań przedklinicznych i klinicznych:** Odpowiadałam za planowanie badań toksykologicznych oraz testów wczesnej skuteczności (*early efficacy tests*). W obszarze klinicznym koordynowałam współpracę z ośrodkami medycznymi oraz brałam czynny udział w opracowywaniu i recenzowaniu protokołów badawczych.
- **Zarządzanie własnością intelektualną:** Samodzielnie oraz we współpracy z rzecznikami patentowymi prowadziłam analizy czystości patentowej oraz współtworzyłam strategię ochrony innowacyjnych rozwiązań farmaceutycznych.
- **Integracja danych, wsparcie merytoryczne i kształcenie kadry:** Pełniłam rolę głównego eksperta odpowiedzialnego za interpretację danych naukowych, wsparcie publikacyjne oraz reprezentowanie jednostki na konferencjach naukowych. Prowadziłam również specjalistyczne seminaria i wykłady, kształcąc kadrę medyczną oraz partnerów w projektach, w zakresie medycznych aspektów działania produktów na bazie *Cannabis*.
- **Pozyskiwanie finansowania na innowacje:** Aktywnie poszukiwałam możliwości grantowych i inicjowałam partnerstwa naukowo-przemysłowe budując pomost pomiędzy badaniami podstawowymi a rynkowymi potrzebami farmacji i biotechnologii. W 2021 roku zainicjowałam współpracę między Instytutem Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie a izraelską firmą CRO Nextar Chempharma Solutions i wspomagałam tworzenie ich wspólnego projektu naukowego zgłoszonego do konkursu NCBR.

7 Pozostałe informacje

7.1 Udział w projektach badawczych (kierowanie lub uczestnictwo)

Moja aktywność w pozyskiwaniu środków na badania rozpoczęła się jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora, kiedy to pełniłam rolę kierownika projektu finansowanego przez Komitet Badań Naukowych (nr 2 P05A 021 27). Kontynuacja tej ścieżki w roli głównego wnioskodawcy (Principal Investigator) podczas wieloletniego pobytu w ośrodkach zagranicznych (USA, Izrael) była ograniczona przez lokalne regulacje oraz wymogi związane z pobytem w ramach wiz i z zajmowanymi stanowiskami (*research associate, research fellow, lab manager*). Niemniej jednak, przez cały okres pracy poza granicami kraju brałam aktywny i kluczowy udział w procesach grantowych. Jako merytoryczny kierownik laboratoriów współtworzyłam koncepcje badawcze i redagowałam wnioski o dofinansowanie, występując w nich jako kluczowy wykonawca. Moje kompetencje w tym zakresie potwierdza również doświadczenie w koordynowaniu współpracy międzynarodowej (w tym polsko-izraelskiej) oraz zarządzanie projektami realizowanymi na styku nauki i przemysłu w charakterze konsultanta merytorycznego.

7.2 Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych

Pełniłam rolę recenzenta i eksperta dla licznych czasopism *peer-review*, takich jak: *Journal of Neuroinflammation, Molecular Neurobiology, Psychopharmacology, European Journal of Pain, Plos ONE, Psychoneuroendocrinology* i kilku innych.

Ponadto, moje kompetencje merytoryczne zostały wykorzystane w procesach ewaluacji projektów badawczych; występowałam jako recenzent zewnętrzny wniosków o finansowanie grantów dla *Israel Science Foundation* (ISF) oraz Ministerstwa Zdrowia Izraela (*Israel Ministry of Health*).

7.3 Udział w konferencjach naukowych i sympozjach o zasięgu krajowym oraz międzynarodowym

1. Israeli Society for Extracellular Vesicles Research, 5th Meeting, 2025, Felsentein Medical Center, Petah Tikva, Israel (**Wykład**).
2. Israeli Society for Microbiology, Tel Aviv University, 2025, Tel Aviv Israel (**Wykład**).
3. The Israeli Society for Parasitology, Protozoology and Tropical Diseases, 2025, Tel Aviv (**Wykład**).
4. Israeli Society for Microbiology, Bar Ilan University, 2025, Ramat Gan, Israel (**Wykład**).
5. The Israeli Society for Parasitology, Protozoology and Tropical Diseases (ISPPTD) 2024, Molecular Parasitology session; **Prowadząca** (*Chairman*).
6. Isranalytica, the 22nd Annual Meeting of the Israel Analytical Chemistry Society, 2019, Tel Aviv (**Wykład na zaproszenie organizatorów**).
7. Science Day on Medical Cannabis; Volcani Agricultural Institute, 2018, Rishon LeTzion (**Wykład na zaproszenie organizatorów**).
8. Cann10, The 2nd International Medical Cannabis Conference, 2017 (**Wykład na zaproszenie organizatorów**).
9. CannaTech 2017, Accelerate Cannabis Innovations, 2017, Tel Aviv, Israel (**Wykład na zaproszenie organizatorów**).
10. 12th Int Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases, 2015, Nice, France.
11. XXXII Winter School on Pharmacology of Cannabinoids, Institute of Pharmacology PAS, 2015, Krakow, Poland (**Wykład na zaproszenie organizatorów**).
12. 12th International Congress of NeuroImmunology, 2014, Mainz, Germany.

13. 10th International Conference on New Trends in Immunosuppression and Immunotherapy, 2013, Barcelona, Spain (**Prezentacja**).
14. 8th International Congress on Autoimmunity, 2012, Granada, Spain (**Prezentacja**).
15. 2nd French-Israeli Workshop on Regulatory T cells, Tolerance & Immunotherapy, Mishkenot Shaananim, Jerusalem, Israel, 2011 (**Prezentacja**).
16. The International Association for Cannabinoid Medicines 6th Conference on "Cannabinoids in Medicine", 2011, University of Bonn, Bonn, Germany.
17. 10th International Congress of Neuroimmunology, Sitges, 2010, Barcelona, Spain.
18. International Workshop on Cannabinoids in Biology and Medicine, 2010, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Izrael.
19. Israel Annual Meeting of the Israel Society for Physiology and Pharmacology (ISPP), 2009, Ma'ale HaChamisha, Israel.
20. Gordon Research Conferences: Cannabinoid Function in the CNS. 2009. University of New England, Biddeford, ME, USA.
21. 18th Annual International Cannabinoid Research Society Meeting in Aviemore, Scotland, 2008.
22. The 5th Congress of the Federation of the Israel Societies for Experimental Biology. Eilat, Israel, 2008.

Przed doktoratem:

23. **E. Kozela**, M. Wrobel, K. M. Wozniak, B. S. Slusher, P. Popik. Behav.Pharmacol. 14 Suppl 1:S51, 2003. European Behavioural Pharmacology Society, Antwerp, Belgium, 2003.
24. **E. Kozela**, W. Danysz, P. Popik. Soc.Neurosci.Abstr., 2001; San Diego, CA, USA.
25. **E. Kozela**, P. Popik. Behav.Pharmacol. 12 Supl 1:S55, 2001. European Brain and Behaviour Society and the European Behavioural Pharmacology Society, Marseille, France.
26. **E. Kozela**, M. Wrobel, P. Popik. (219.01 p181) 2000. Federation of European Neuroscience Societies, Brighton, England.
27. P. Popik, **E. Kozela**, W. Danysz. Soc.Neurosci.Abstr. 25(1):921, 1999. Miami, FL, USA.

7.4 Nagrody i wyróżnienia

- 2025** "Best project pitch" podczas warsztatu "Idea to Action 2025" organizowany przez BINA, The Translational Science Unit at the Weizmann Institute of Science, Izrael.
- 2010** Young Investigator Award, International Workshop on Cannabinoids in Biology and Medicine, Jerusalem, Israel.
- 2009** Travel award, Gordon Research Conferences (Cannabinoid Function in the CNS). University of New England, Biddeford, ME, USA.
- 2008** Travel award, International Cannabinoid Research Society, Aviemore, Scotland.
- 2007** Postdoctoral Fellowship scholarship awarded by the Feinberg Graduate School, Weizmann Institute of Science.
- 2006** Stypendium Fundacji im. J.J. Supniewskich, Polska Akademia Nauk, Kraków, Polska.
- 2005** Stypendium Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (FNP) dla młodych naukowców, Polska.

2003 Nagroda Wydziału Nauk Medycznych Polskiej Akademii Nauk za cykl publikacji dotyczących roli układu glutaminianergicznego w rozwoju i odwracaniu tolerancji na działanie przeciwbólowe morfiny.

.....
(podpis wnioskodawcy)