

**SPRAWOZDANIE
KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU
WE WROCŁAWIU
ZA ROK 2017**

WROCŁAW-KRAKÓW 2017

Publikacja przygotowana przez Polską Akademię Umiejętności
przy finansowym wsparciu
Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda
Polskiej Akademii Nauk/Miasta Wrocław

Część I
STRONA INTERNETOWA PAU –
INFORMACJA O KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU
WE WROCŁAWIU



Polska Akademia Umiejętności

Start

09.12.2010

- Menu główne
- Start
- Szukaj
- Informacje bieżące
- Posiedzenia
- Planowane wydarzenia
- PAUza – tygodnik
- Polskiej Akademii Umiejętności
- Zamówienia publiczne
- Wynajem sali
- pomieszczeń
- Z przeszłości Akademii dzisiaj
- Galeria zdjęć
- Stypendia PAU
- Nagrody PAU
- Współpraca zagraniczna
- Głos PAU
- Uchwały PAU
- II Kongres Polskich Towarzystw Naukowych na Obczyźnie
- Badania podstawowe
- PAU o sobie
- Struktura Akademii

Nowości

Wyszukiwarka

- [ZP 310-3/10](#)
- [Folia Quaternaria](#)
- [Planowane wydarzenia](#)
- [Posiedzenia w PAU](#)
- [PAUza – tygodnik internetowy PAU](#)

KOMISJE MIĘDZYWYDZIAŁOWE PAU O CHARAKTERZE INTERDYSCYPLINARNYM

- [Komisja Zagrożeń Cywilizacyjnych PAU](#)
- [Komisja Historii Nauki PAU](#)
- [Komisja PAU do Oceny Podręczników Szkolnych](#)
- [Komisja Spraw Europejskich PAU](#)
- [Komisja Nauk Technicznych PAU](#)
- [Komisja Rozwoju Miasta Krakowa PAU i PAN](#)
- [Komisja Filozofii Nauk Przyrodniczych PAU](#)
- [Komisja PAU Fides et Ratio](#)
- [Komisja PAU do Badań Diaspory Polskiej](#)
- [Komisja PAU Etyki w Nauce](#)
- [Komisja Przyrodniczo-Medyczna z Siedzibą we Wrocławiu](#)**

Komisja Przyrodniczo-Medyczna z siedzibą we Wrocławiu powołana została przez Profesora dr. hab. Andrzeja Białasa, Prezesa PAU, pismem z dnia 28 maja 2009 roku.

Inicjatorem powstania oddziału PAU we Wrocławiu był Rafał Dutkiewicz, Prezydent Wrocławia, który w liście skierowanym do PAU wyraził pogląd, że utworzenie we Wrocławiu jednostki PAU byłoby dla miasta zaszczytem – tym bardziej że, jak pisze, „PAU ma wśród swych członków jednego z najznamienitszych wrocławian – Tadeusza Różewicza”.

Organizację międzywydziałowej komisji powierzono Profesorowi Czesławowi Radzikowskiemu, który po konsultacjach z zaproponowanymi członkami komisji w osobach profesorów: Stanisława Przeszalskiego, Ireny Frydeckiej, Marii Witkowskiej, Małgorzaty Sasiadek,

[→Władze PAU](#)
[→Kolejne kadencje PAU](#)
[→Członkowie PAU](#)
[→Odeszli od nas...](#)
[→Wydziały i Komisje PAU](#)
[Wydawnictwa](#)
[Archiwum Nauki PAN i PAU w Krakowie](#)
[Biblioteka Naukowa PAU i PAN w Krakowie](#)
[Kontakt](#)
[Linki](#)

przedstawił projekt spotkań naukowo-dydaktycznych których głównym celem byłoby zbliżenie wyników fascynującego postępu w badaniach przyrodniczych, głównie w biologii molekularnej, a zwłaszcza w genetyce, środowisku medycznym, a także nauczycielom przedmiotów przyrodniczych, studentom oraz uczniom regionu dolnośląskiego. Ponadto uświadomienie uczynom prowadzącym wielodyscyplinarne badania podstawowe o potencjalnym medycznym znaczeniu implikacyjnym (w precyzyjnej diagnostyce, w nowych możliwościach prognostycznych i terapeutycznych) złożoności regulacji na poziomie komórkowym, tkankowym czy całego organizmu.

Do udziału w spotkaniach jako wykładowcy zapraszani będą uczeni z regionu dolnośląskiego, reprezentujący wielodyscyplinarne badania zorientowane medycznie lub współpracujący z nimi uczeni krajowi i zagraniczni, z preferencją uczonych zagranicznych, którzy swe wykształcenie i/lub swoją działalność naukową zawdzięczają uczelniom, instytucjom naukowym regionu dolnośląskiego, a których wyniki badań zdobyły międzynarodowe uznanie.

Celem projektowanych spotkań naukowych będzie wymiana poglądów, także wyszukiwanie i budowanie „pomostów” między laboratoriami badawczymi, których wyniki badań mogłyby znaleźć implikacje praktyczne. Ponadto udział nauczycieli przedmiotów przyrodniczych, zainteresowanych studentów i uczniów przyczyniać się powinien do pogłębiania wiedzy, pobudzania i rozwoju zainteresowań uczestników spotkań, przyszłych pracowników, których pomysłowość i zaangażowanie winny przyczynić się do dynamicznego rozwoju badań biotechnologicznych i biomedycznych oraz rekomendowania ich wyników do wykorzystania praktycznego.

Powstanie Komisji jest jednocześnie nową szansą nawiązania długofalowej współpracy samorządu wrocławskiego z wybitnymi uczonymi w zakresie tworzenia polityki publicznej, odpowiadającej na wyzwania współczesnego świata.

**SKŁAD KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU
WE WROCŁAWIU**

prof. dr hab. Janusz Boratyński
prof. dr hab. Irena Frydecka
dr hab. Egbert Piasecki, prof. PAN
prof. dr hab. Stanisław Przystalski
prof. dr hab. Czesław Radzikowski (organizator Komisji)
prof. dr hab. Małgorzata Sąsiadek
prof. dr hab. Maria Witkowska

prof. dr hab. Adam Jezierski
prof. dr hab. Paweł Kafarski
prof. dr hab. Marek Langner
prof. dr hab. Jerzy Mozrzyński
prof. dr hab. Bożena Obmińska-Mrukowicz
prof. dr hab. Jacek Otlewski
prof. dr hab. Aleksander Sikorski
prof. dr hab. Wacław Sokalski

Nowi członkowie powołani przez Radę PAU w dniu 24 marca 2015 r.:

prof. dr hab. Paweł Kisielow
prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta
prof. dr hab. Andrzej Gamian
dr hab. Aleksandra Klimczak, prof. PAN
prof. dr hab. Jolanta Zakrzewska-Czerwińska
Katarzyna Prosek (sekretarz Komisji)

PROGRAM SPOTKAŃ W ROKU 2017

SPOTKANIE XXXII 8 marca 2017

Dr Jacek TOPORSKI, MD, PhD

Section of Pediatric oncology, hematology and nephrology, Department of Pediatrics, Skane University Hospital, Lund, Sweden

„Przeszczepianie haploidentycznych komórek krwiotwórczych u dzieci – czyli każdy pacjent ma dawcę”

SPOTKANIE XXXIII 12 kwietnia 2017

Dr Roman KRZYSIEK, MD., PhD.

Laboratory of Immunology, CHU de Bicetre, Le Kremlin-Bicetre, France

„Kontrola funkcji regulatorowych Tregs FOX3+ jako cel terapii przeciwnowotworowej”

SPOTKANIE XXXIV 27 września 2017

Dr Malgorzata BIEŃKOWSKA-HABA, Ph.D.

LSU Health Shreveport, Dept. of Microbiology & Immunology, Shreveport, LA, USA

„Autostopem do jądra komórki - czyli mechanizm zakażeń wirusem HPV16”.

SPOTKANIE XXXV 18 października 2017

Prof. dr Grzegorz BUŁAJ

College of Pharmacy, Department of Medicinal Chemistry, University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA

„Leczenie chorób neurologicznych w oparciu o neuropeptydy oraz terapie łączone z oprogramowaniem komputerowym”.

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXII otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu
8 marca 2017 roku

z udziałem Dr. Jacka Toporskiego, MD, PhD

Section of pediatric oncology, hematology, immunology and nephrology,
Department of Pediatrics, Skane University Hospital, Lund (Szwecja)

Tytuł wykładu:

**„PRZESZCZEPIANIE HAPLOIDENTYCZNYCH KOMÓREK
KRWIOTWÓRCZYCH U DZIECI – CZYLI KAŻDY PACJENT MA DAWCĘ”**

Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Ślopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Dr Jacek Toporski, MD, PhD

Dr Jacek Toporski ukończył studia medyczne na Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich w roku 1986. W tym samym roku rozpoczął pracę na Oddziale Immunoterapii Szpitala im. K. Dłuskiego we Wrocławiu pod kierownictwem prof. A. Lange. Od roku 1987 brał aktywny udział w organizacji Oddziału Transplantacji Szpiku, a w roku 1989 uzyskał specjalizację z zakresu chorób wewnętrznych. W okresie 1987–1991 był również asystentem Laboratorium Immunologii Klinicznej IITD we Wrocławiu pod kierownictwem prof. A. Lange. W roku 1991 rozpoczął studia doktoranckie w Klinice Hematologii i Onkologii Dziecięcej we Wrocławiu pod kierownictwem prof. J. Bogusławskiej-Jaworskiej, a w roku 1995 uzyskał tytuł doktora nauk medycznych. Specjalizację z pediatrii stopnia I i II uzyskał odpowiednio w latach 1995 i 1998. Posiada również specjalizację z onkologii i hematologii dziecięcej oraz transplantologii klinicznej. Jego główne zainteresowanie w działalności klinicznej i naukowej to transplantacja komórek krwiotwórczych, w tym zwłaszcza transplantacje haploidentyczne. Od roku 2004 asystent w Klinice Onkologii Dziecięcej Szpitala Uniwersyteckiego w Lund (Szwecja), a od roku 2008 kierownik programu transplantacji pediatrycznych. Od roku 2009 główny konsultant w zakresie onkologii dziecięcej w programie współpracy Uniwersytetu w Lund z 9 ośrodkami onkologii dziecięcej w Wietnamie.

Od roku 2010 kierownik Oddziału Onkologii, Hematologii, Immunologii i Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Lund. Od roku 2016 kierownik Kliniki Pediatrii w tym szpitalu.

Dr Toporski jest krajowym koordynatorem (w Szwecji) międzynarodowego protokołu transplantacji allogenicznych u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną. Klinika w Lund jest jedynym ośrodkiem skandynawskim biorącym udział w klinicznych badaniach zastosowania inhibitora PD-L1 w leczeniu opornych na konwencjonalną terapię nowotworów narządowych u dzieci. Kierowany przez dr. Toporskiego ośrodek jest członkiem założycielem European Reference Network TRANSPLANTCHILD.

Publications – original papers

1. Pronk CJ, Turkiewicz D, Vult von Steyern K, Ehinger M, Dykes J, **Toporski J**. Transplantation of Haploidentical TcRaβ-Depleted Hematopoietic Cells Allows for Optimal Timing and Sustained Correction of the Metabolic Defect in Children With Infantile Osteopetrosis. *J Bone Miner Res*. 2017 Jan;32(1):82-85
2. Brodzki N, Turkiewicz D, **Toporski J**, Truedsson L, Dykes J. Novel treatment of severe combined immunodeficiency utilizing ex-vivo T-cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation and CD45RA+ depleted donor lymphocyte infusions. *Orphanet journal of rare diseases*. 2016;11(1):5

3. Mellgren K, Arvidson J, **Toporski J**, Winiarski J. Chimerism analysis in clinical practice and its relevance for the detection of graft rejection and malignant relapse in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Pediatr Transplant*. 2015 Nov;19(7):758-66. doi: 10.1111/ptr.12580. Epub 2015 Aug 20. PubMed PMID: 26290161.
4. Brodzki N, Svensson M, van Kuilenburg AB, Meijer J, Zoetekouw L, Truedsson L, **Toporski J**. Novel Genetic Mutations in the First Swedish Patient with Purine Nucleoside Phosphorylase Deficiency and Clinical Outcome After Hematopoietic Stem Cell Transplantation with HLA-Matched Unrelated Donor. *JIMD Rep*. 2015;24:83-9. doi: 10.1007/8904_2015_444. Epub 2015 May 13. PubMed PMID: 25967230; PubMed Central PMCID: PMC4582029
5. Lena Oevermann, Sebastian Michaelis, Markus Mezger, Peter Lang, **Jacek Toporski**, Alice Bertaina, Marco Zecca, Franco Locatelli, Rupert Handgretinger. Relapse rate after HLA-haploidentical stem cell transplantation of T-cell depleted KIR-B-haplotype grafts in childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 2014 Oct 23;124(17):2744-7. doi: 10.1182/blood-2014-03-565069. Epub 2014 Aug 12.
6. Riva R, Forinder U, Arvidson J, Mellgren K, **Toporski J**, Winiarski J, Norberg AL. Patterns of psychological responses in parents of children that underwent stem cell transplantation. *Psychooncology*. 2014 Nov;23(11):1307-13. doi:10.1002/pon.3567. Epub 2014 May 16. PubMed PMID: 24830676.
7. Kamsvåg-Magnusson T, Thorsell-Cederberg J, Svanberg A, von Essen L, Arvidson J, Mellgren K, Toporski J, Ljungman G. Parents and children's perceptions of distress related to oral mucositis during haematopoietic stem cell transplantation. *Acta Paediatr*. 2014 Jun;103(6):630-6. doi: 10.1111/apa.12627. Epub 2014 Apr 3. PubMed PMID: 24612395.
8. Jester S, Larsson J, Eklund EA, Papadopoulou D, Månsson JE, Békássy AN, Turkiewicz D, **Toporski J**, Øra I. Haploidentical stem cell transplantation in two children with mucopolysaccharidosis VI: clinical and biochemical outcome. *Orphanet J Rare Dis*. 2013 Sep 5;8:134. doi: 10.1186/1750-1172-8-134. PubMed PMID:24107440; PubMed Central PMCID: PMC3766644.
9. Corbacioglu S, Cesaro S, Faraci M, Valteau-Couanet D, Gruhn B, Rovelli A, Boelens JJ, Hewitt A, Schrum J, Schulz AS, Müller I, Stein J, Wynn R, Greil J, Sykora KW, Matthes-Martin S, Führer M, O'Meara A, **Toporski J**, Sedlacek P, Schlegel PG, Ehlert K, Fasth A, Winiarski J, Arvidson J, Mauz-Körholz C, Ozsahin H, Schrauder A, Bader P, Massaro J, D'Agostino R, Hoyle M, Iacobelli M, Debatin KM, Peters C, Dini G. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*. 2012 Apr 7;379(9823):1301-9. Epub 2012 Feb 23
10. Cesaro S, Hirsch HH, Faraci M, Owoc-Lempach J, Beltrame A, Tendas A, Baltadakis I, Dalle JH, Koc Y, **Toporski J**, Styczynski J, Yesilipek MA, Heinz W, Caniglia M, Rascon J, Fauser AA, Michallet M, Lopez-Corral L, Neuburger S, Tridello G, Einsele H; European Group for Blood and Marrow Transplantation. Cidofovir for BK virus-associated hemorrhagic cystitis: a retrospective study. *Clin Infect Dis*. 2009 Jul 15;49(2):233-40. PubMed PMID: 19522651
11. **Toporski J**, Garkavij M, Tennvall J, Ora I, Gleisner KS, Dykes JH, Lenhoff S, Juliusson G, Scheduling S, Turkiewicz D, Békássy AN. High-dose iodine-131-metaiodobenzylguanidine with haploidentical stem cell transplantation and posttransplant immunotherapy in children with relapsed/refractory neuroblastoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Sep;15(9):1077-85. Epub 2009 Jul 8. PubMed PMID: 19660720.
12. Hansson F, **Toporski J**, Mansson R, Johansson B, Noren-Nystrom U, Jacobsen SE, Wiebe T, Larsson M, Sigvardsson M, Castor A (2008) Exit of pediatric pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells from the bone marrow to the peripheral blood is not associated with cell maturation or alterations in gene expression. *Mol Cancer* 7:67
13. Styczynski J, **Toporski J**, Wysocki M, Debski R, Chybicka A, Boruczowski D, Wachowiak J, Wojcik B, Kowalczyk J, Gil L, Balwierz W, Matysiak M, Krawczuk-Rybak M, Balcerska A, Sonta-Jakimczyk D (2007) Fludarabine, Treosulfan and Etoposide sensitivity and the outcome of hematopoietic stem cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia. *Anticancer Res* 27:1547
14. Dykes JH, **Toporski J**, Juliusson G, Bekassy AN, Lenhoff S, Lindmark A, Scheduling S (2007) Rapid and effective CD3 T-cell depletion with a magnetic cell sorting program to produce peripheral blood progenitor cell products for haploidentical transplantation in children and adults. *Transfusion* 47:2134
15. Gorczynska E, Turkiewicz D, Rybka K, **Toporski J**, Kalwak K, Dyla A, Szczyra Z, Chybicka A (2005) Incidence, clinical outcome, and management of virus-induced hemorrhagic cystitis in children and adolescents after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 11:797
16. Drabko K, Zawitkowska-Klaczynska J, Wojcik B, Choma M, Zaucha-Prazmo A, Kowalczyk J, Gorczynska E, **Toporski J**, Kalwak K, Turkiewicz D, Chybicka A (2005) Megachemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in children with Ewing's sarcoma. *Pediatr Transplant* 9:618
17. Kalwak K, Wojcik D, Gorczynska E, **Toporski J**, Turkiewicz D, Slociak M, Ussowicz M, Pajdosz K, Socha P, Chybicka A (2004) Allogeneic hematopoietic cell transplantation from alternative donors in children with myelodysplastic syndrome: is that an alternative? *Transplant Proc* 36:1574

18. Wojcik B, Kowalczyk JR, Chybicka A, Wachowiak J, Drabko K, Zaucha-Prazmo A, Choma M, Gorczynska E, **Toporski J**, Turkiewicz D, Kalwak K, Pieczonka A, Boruckowski D (2004) [Autologous stem-cell transplantations in children with non-Hodgkin lymphomas]. *Przegl Lek* 61 Suppl 2:53
19. Gorczynska E, Turkiewicz D, **Toporski J**, Kalwak K, Rybka B, Ryczan R, Sajewicz L, Chybicka A (2004) Prompt initiation of immunotherapy in children with an increasing number of autologous cells after allogeneic HCT can induce complete donor-type chimerism: a report of 14 children. *Bone Marrow Transplant* 33:211
20. Kalwak K, Turkiewicz D, Ussowicz M, Gorczynska E, **Toporski J**, Ryczan R, Rybka B, Noworolska-Sauren D, Chybicka A (2003) Clinical value of the flow cytometric method for measuring lymphocyte subset activation: spontaneous activation of T-cell subpopulations is associated with acute GvHD. *Transplant Proc* 35:1559
21. Kalwak K, Ussowicz M, Gorczynska E, Turkiewicz D, **Toporski J**, Dobaczewski G, Latos-Grazynska E, Ryczan R, Noworolska-Sauren D, Chybicka A (2003) Immunologic effects of intermediate-dose IL-2 i.v. after autologous hematopoietic cell transplantation in pediatric solid tumors. *J Interferon Cytokine Res* 23:173
22. Turkiewicz D, Gorczynska E, **Toporski J**, Kalwak K, Rybka B, Noworolska D, Boguslawska-Jaworska J, Chybicka A (2003) Monitoring of hematopoietic chimerism after sex-mismatched allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) by dual-color FISH analysis of X and Y chromosomes. *Leuk Res* 27:993
23. Kalwak K, Moson I, Cwian J, Gorczynska E, **Toporski J**, Turkiewicz D, Latos-Grazynska E, Chybicka A (2003) A prospective analysis of immune recovery in children following allogeneic transplantation of t-cell-depleted or non-T-cell-depleted hematopoietic cells from HLA-disparate family donors. *Transplant Proc* 35:1551
24. Kalwak K, Gorczynska E, **Toporski J**, Turkiewicz D, Slociak M, Ussowicz M, Latos-Grazynska E, Krol M, Boguslawska-Jaworska J, Chybicka A (2002) Immune reconstitution after haematopoietic cell transplantation in children: immunophenotype analysis with regard to factors affecting the speed of recovery. *Br J Haematol* 118:74
25. Kalwak K, Gorczynska E, Wojcik D, **Toporski J**, Turkiewicz D, Slociak M, Latos-Grazynska E, Boguslawska-Jaworska J, Chybicka A (2002) Late-onset idiopathic thrombocytopenic purpura correlates with rapid B-cell recovery after allogeneic T-cell-depleted peripheral blood progenitor cell transplantation in children. *Transplant Proc* 34:3374
26. Kalwak K, Ussowicz M, Gorczynska E, **Toporski J**, Turkiewicz D, Boguslawska-Jaworska J, Chybicka A (2002) Posttransplant adoptive immunotherapy with interleukin-2 in children suffering from neuroectodermal tumors with poor prognosis. *Transplant Proc* 34:665
27. Kalwak K, Gorczynska E, **Toporski J**, Turkiewicz D, Rybka B, Boguslawska-Jaworska J (2000) Early peripheral T-cell expansion after haploidentical CD34(+) peripheral blood progenitor cell transplantation (PBPC) with T-cell depletion in a patient with X-linked SCID: case report. *Transplant Proc* 32:1409
28. **Toporski J**, Turkiewicz D, Kalwak K, Rybka B, Ryczan R, Boguslawska-Jaworska J (2000) Immunomagnetic selection of CD34(+) cells for transplantation from partially matched family donors in children. *Transplant Proc* 32:1419
29. **Toporski J**, Gorczynska E, Kalwak K, Turkiewicz D, Nowakowska B, Ryczan R, Boguslawska-Jaworska J (1999) Double haploidentical transplantation of hematopoietic progenitor cells in a boy with myelodysplastic syndrome. *Pediatr Hematol Oncol* 16:257
30. Gorczynska E, **Toporski J**, Boguslawska-Jaworska J, Slociak M (1998) High-dose chemotherapy with autologous hematopoietic progenitor cell transplantation in children with high-risk NHL and ALL-preliminary results. *Bone Marrow Transplant* 22 Suppl 4:S107
31. Kazanowska B, Jaworski W, Godzinski J, Jelen M, Turkiewicz D, **Toporski J**, Armata J, Balcerska A, Drozynska E, Kolecki P, Liebhart M, Melanowska J, Nowak T, Rokicka-Milewska R, Skotnicka G, Sopylo B, Wysocki M (1998) [The role of local surgical and radiological control in the treatment of soft tissue sarcoma sensitive to chemotherapy in children. Report of Polish Pediatric Solid Tumors Treatment Group]. *Wiad Lek* 51 Suppl 4:79
32. Lange A, Kolodziej J, Tomeczko J, **Toporski J**, Sedzimirska M, Jazwiec B, Bochenska J, Mroz E, Bielecka E, Was A, et al. (1991) Aggressive chemotherapy with autologous bone marrow transplantation in small cell lung carcinoma. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 39:431
33. Lange A, Jazwiec B, Tomaszewska-Toporska B, **Toporski J** (1991) Recovery of natural cytotoxicity after bone marrow transplantation. *Immunol Invest* 20:207

Dr Jacek Toporski, MD, PhD

Streszczenie wykładu:

PRZESZCZEPIANIE HAPLOIDENTYCZNYCH KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH U DZIECI, CZYLI KAŻDY PACJENT MA DAWCĘ

Rok 1938, Lwów, Uniwersytet im. Jana Kazimierza. Profesor Jan Raszek-Rosenbusch i dr. Franciszek Groer przeprowadzili pierwszą w Polsce, a prawdopodobnie również pierwszą na świecie transplantację szpiku. Kilka mililitrów szpiku pobranego od zdrowego dawcy (rodzeństwa lub jednego z rodziców) podano doszpikowo (domostkowo). Zabieg ten powtarzano kilkakrotnie u tego samego pacjenta, a transplantacji poddano kilku pacjentów. Oczywiście, z braku wiedzy o antygenach zgodności tkankowej i ich znaczeniu w transplantologii zabiegi te skazane były na niepowodzenie. Wojna przerwała pracę lekarzy ze Lwowa, a wyniki przedwojennych eksperymentów opublikowali oni dopiero w 1949 roku w *Annals of Paediatrics* („Technique and indications of the therapeutic intramedullar transfusion of the bone marrow in children”).

Użycie bomby atomowej pod koniec II Wojny Światowej, a później wypadki w amerykańskich elektrowniach atomowych skłoniły do podjęcia na nowo koncepcji zastąpienia uszkodzonego szpiku kostnego przez zdrowy szpik od dawcy. Próby podejmowane w latach 50-tych dwudziestego wieku były jednak nieudane. Tym niemniej już wtedy sformułowano hipotezę, że przeszczepienie szpiku kostnego może być także skuteczną metodą leczenia białaczki, a hipotezę tę potwierdzono na modelach zwierzęcych. Dynamiczny rozwój transplantacji szpiku kostnego w dzisiejszym rozumieniu zapoczątkowało odkrycie i poznanie znaczenia antygenów zgodności tkankowej zwanych antygenami transplantacyjnymi. Pozwoliło to na dobór zgodnych dawców oraz zmniejszenie zarówno ryzyka odrzucenia przeszczepu jak i ryzyka wystąpienia choroby „przeszczep przeciwko gospodarzowi” (*graft versus host disease* – GvHD).

Jednak o powodzeniu transplantacji szpiku, który to zabieg z formalnego punktu widzenia powinien się nazywać transplantacją komórek krwiotwórczych, decyduje szereg innych czynników. Niezwykle istotnie jest leczenie cytostatykami przed transplantacją. Ta chemioterapia lub czasami chemioradioterapia niszczy układ odpornościowy biorcy oraz przygotowuje miejsce dla przeszczepianych komórek krwiotwórczych. U pacjentów z chorobą nowotworową (na przykład białaczką) to tak zwane cytostatyczne uwarunkowanie przeszczepu (*conditioning* - kondycjonowanie) ma również działanie przeciwbiałaczkowe – eliminuje resztkowe, często odporne na inne leczenie, komórki białaczkowe.

Oczywiście transplantacja komórek krwiotwórczych, tak jak transplantacja każdego innego narządu prowadzi do interakcji komórek biorcy z komórkami dawcy w mechanizmie odrzucenia przeszczepu. Natomiast, jeżeli przeszczepione komórki rozpoznają komórki biorcy jako obce = non-self, to taka interakcja może prowadzić do sytuacji odwrotnej, czyli do odrzucenia przeszczepu, sytuacji, która nosi nazwę GvHD. Ryzyko tych powikłań jest tym mniejsze, im większa jest zgodność tkankowa między dawcą i biorcą. Niestety nawet 100% zgodność nie daje 100 % gwarancji, że wymienione wyżej powikłania nie wystąpią. Dlatego niezbędna jest przedprzeszczepowa chemio- lub chemioradioterapia, czasem z użyciem swoistych przeciwciał antylimfocytarnych, w celu eliminacji limfocytów pacjenta zdolnych do odrzucenia. Ta tak zwana immunoablacja stosowana jest często jako dodatek do chemioradioterapii w przypadku: transplantacji komórek krwiotwórczych od dawcy niespokrewnionego, krwi pępowinowej lub transplantacji od dawców częściowo zgodnych w układzie zgodności tkankowej. Ryzyko wystąpienia GvHD można zmniejszyć przez

stosowanie profilaktyki tego powikłania. Złoty standard stanowi nadal, po ponad 40 latach stosowania, profilaktyka farmakologiczna przy użyciu Cyklosporyny A (od dnia poprzedzającego transplantację) i małych dawek Metotreksatu (zwykle w dniu +1, +3, +6, +11) po przeszczepieniu. Czasami stosuje się niewielkie dawki hormonów nadnerczy lub „mechanicznie” usuwa się z przeszczepu komórki, które mogą rozpoznać tkanki gospodarza jako obce (non-self) i spowodować ich uszkodzenie w procesie GvHD.

W dalszych rozważaniach pominiemy transplantacje autologicznych (własnych) komórek krwiotwórczych, który to zabieg pozwala jedynie na przeprowadzenie wysokodawkowej, niszczącej szpik kostny chemioterapii poprzez odtworzenie funkcji krwiotwórczej. Czasem ten zabieg wykonywany jest w celu wykonania „resetu” układu immunologicznego w leczeniu chorób z autoagresji (np. w stwardnieniu rozsianym).

Przeszczepienie obcych - allogenicznych komórek krwiotwórczych oznacza przeszczepienie komórek pobranych od dawcy. Początkowo przeszczepiano szpik kostny i stąd w potocznym obiegu funkcjonuje zwyczajowa nazwa „przeszczepienie szpiku”. Jednak z czasem stwierdzono, że komórki krwiotwórcze zdolne do rekonstrukcji krwiotworzenia znajdują się również we krwi obwodowej, krwi pępowinowej a także w śledzionie. Obecnie w zależności od wskazań, wieku dawcy, a także czasem od preferencji ośrodka przeszczepiającego wykonywane są transplantacje komórek pobranych ze szpiku, krwi obwodowej, lub krwi pępowinowej - dlatego nazwa przeszczepianie szpiku została zastąpiona przez określenie **transplantacja komórek krwiotwórczych**. Ciągłe obowiązuje zasada, że dawca komórek krwiotwórczych powinien być jak najbardziej zgodny z pacjentem. Najlepszym dawcą, przynajmniej w klasycznych wskazaniach do transplantacji, jest zgodny dawca rodzinny (brat lub siostra). Liczba pacjentów, którzy mają zgodnego dawcę rodzinnego jest ograniczona i waha się w granicach 20 - 25 % a obecny model rodziny posiadającej 1 lub 2 dzieci powoduje zmniejszenie liczby zabiegów przeszczepienia od zgodnego dawcy rodzinnego. W przypadku braku zgodnego dawcy rodzinnego transplantacja jest w dalszym ciągu możliwa, ale w takiej sytuacji trzeba rozpocząć poszukiwanie dawcy alternatywnego. Takim dawcą alternatywnym może być zgodny dawca niespokrewniony (MUD) lub częściowo zgodny dawca rodzinny (dawca haploidentyczny). Przeszczepienie krwi pępowinowej to w praktyce przeszczepienie komórek od dawcy niespokrewnionego zwykle częściowo zgodnego z pacjentem, przy czym kryterium zgodności jest mniej restrykcyjne niż w przypadku od dorosłego dawcy niespokrewnionego, kiedy w zasadzie bez problemów akceptuje się zgodność 9/10 (zgodność antygenowa lub alleliczna). Zgodność między dawcą i biorcą w 8 na 10 antygenów lub alleli budzi już większe kontrowersje i często nie akceptuje się takiego dawcy (z wyłączeniem niezgodności przy przeszczepianiu krwi pępowinowej).

Szczególnym rodzajem transplantacji jest przeszczepianie komórek krwiotwórczych od dawcy rodzinnego częściowo zgodnego w układzie HLA. Ten rodzaj transplantacji wymaga specjalnego przygotowania pacjenta w celu zminimalizowania ryzyka odrzucenia przeszczepu oraz specjalnej obróbki przeszczepianych komórek w celu zminimalizowania ryzyka wystąpienia choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Transplantacja od dawcy rodzinnego częściowo zgodnego nazywana jest **transplantacją haploidentyczną**.

Haplo jest tak zwanym tematem słowotwórczym wywodzącym się ze starogreckiego ἅπλοϋς. Jest to pierwszy człon wyrazów złożonych i oznacza pojedynczy, prosty. Genotyp człowieka składa się z dwóch haplotypów odziedziczonych od rodziców - określenie haploidentyczny oznacza zgodność w jednym haplocie = zgodność w połowie antygenów transplantacyjnych. W praktyce rodzice są:

- w połowie zgodni = haploidentyczni ze swoimi dziećmi,
- dzieci są w połowie zgodni z rodzicami,
- rodzeństwo między sobą może być całkowicie zgodne, haploidentyczne lub całkowicie niezgodne.

Wynika z tego, że w praktyce każde dziecko, a właściwie każdy pacjent ma dawcę haploidentycznego, oczywiście poza wyjątkowymi przypadkami, na przykład dzieci adoptowanych bez możliwości dotarcia do biologicznych członków rodziny.

W 1996 roku, na kursie Bone Marrow Transplantation in Children w Erice na Sycylii, Franco Aversa z Uniwersytetu w Peruggi zaprezentował wyniki przeszczepiania komórek krwiotwórczych od dawców haploidentycznych (haploSCT). Prezentacja ta była inspiracją dla programu transplantacji haploidentycznych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu. Fundacja „Na Ratunek Dzieciom z Chorobą Nowotworową” zakupiła urządzenie do immunomagnetycznej selekcji komórek krwiotwórczych, a odczynniki sfinansowano z grantu KBN. Pierwszą haplo SCT wykonano jesienią 1998 u niemowlęcia z ciężkim wrodzonym niedoborem odporności (SCID).

Początkowo przeszczepiano wyselekcjonowane komórki krwiotwórcze (pozytywna selekcja tak zwanych komórek CD34+). Z czasem udoskonalono metodę usuwania limfocytów T (CD3+) którą ostatnio zastąpiono jeszcze bardziej precyzyjną deplecją subpopulacji limfocytów T wykazujących obecność TCR (T Cell Receptor), w skład którego wchodzi łańcuchy α oraz β . Te właśnie komórki są w pierwszej kolejności odpowiedzialne za reakcję przeszczep przeciwko gospodarzowi i ich selektywne usunięcie zmniejsza ryzyko wystąpienia tego powikłania. Generowanie limfocytów mogących rozpoznać i reagować na różne patogeny - wirusy, bakterie lub grzyby stwarza możliwości zmniejszenia ryzyka po przeszczepowych powikłaniach infekcyjnych, które to powikłania są poza wznową choroby podstawowej najczęstszą przyczyną niepowodzenia w transplantacjach haploidentycznych.

To deplete or not to deplete that is the question. Przez lata głównym sposobem na pokonanie biologicznej bariery, pokonanie niezgodności między pacjentem i dawcą było mechaniczne (immunomagnetyczne) usuwanie z przeszczepu komórek zdolnych odpowiedzieć na stymulację antygenami dawcy. Ta metoda jest niezwykle skuteczna ale jej wadą jest konieczność przygotowania komórek ex vivo, wymaga specjalistycznego sprzętu, jest w końcu droga i wyjątkowo czasochłonna. Alternatywą haploidentycznych transplantacji z deplecją limfocytów jest przeszczepienie nieprzetworzonych komórek i podanie po transplantacji cyklofosfamidu, cytostatyku który skutecznie niszczy komórki dawcy, które stały się aktywne w odpowiedzi na stymulację antygenami biorcy - tak zwane **komórki alloreaktywne** – i w ten sposób przełamanie biologicznej bariery niezgodności. Wadą tej metody jest konieczność długotrwałej i wielolekowej immunosupresji, która w ogóle nie jest wymagana w transplantacji z wyłączeniem - T-deplecją.

Na Oddziale Onkologii, Hematologii, Immunologii Dziecięcej Szpitala Uniwersyteckiego w Lund (Skåne University Hospital) transplantacje haploidentyczne wykonywane są od roku 2005. W tym czasie wykonano 59 zabiegów u 51 dzieci. Charakterystyka pacjentów znajduje się w tabeli poniżej. Należy przy tym podkreślić, że wszyscy pacjenci ze wskazaniami nowotworowymi mieli chorobę wysokiego ryzyka, zwykle oporną na konwencjonalne leczenie.

We wszystkich przypadkach dawcą było jedno z rodziców. Komórki krwiotwórcze pobierano w procesie aferezy z krwi obwodowej po 3-5 dniowej mobilizacji przy pomocy czynnika wzrostowego (GCSF). Do roku 2011 połowa aferezatu podlegała immunomagnetycznej deplecji CD3 dodatnich limfocytów, a z drugiej połowy selekcjonowano komórki CD34 pozytywne. Od roku 2012 jedyną metodą opracowania komórek do transplantacji jest immunomagnetyczne usuwanie limfocytów TCR $\alpha\beta$ pozytywnych. Ponieważ takie przetwarzanie ex vivo komórek przed transplantacją nie zmienia liczby limfocytów B, zastosowano deplecję limfocytów B in vivo przy pomocy przeciwciał monoklonalnych (preparat zwany rituximab) podawanych dzień po transplantacji. W przeciwnym razie przeszczepienie dużej liczby limfocytów B jest znanym czynnikiem ryzyka rozwoju chłoniaka stymulowanego proliferacją wirusa Epstein-Barr. Do roku 2013

były dostępne przeciwciała monoklonalne anti-CD3 (OKT3) i tych przeciwciał używano w okresie około przeszczepowym (od dnia -8 do dnia +21) w celu dodatkowej immunosupresji mającej głównie na celu zmniejszenie ryzyka odrzucenia przeszczepu. Po roku 2013 zastąpiono OKT3 surowicą antylimfocytarną (ATG) podawaną od -11 do -8 dnia przed przeszczepem.

Tab. 1. Charakterystyka pacjentów

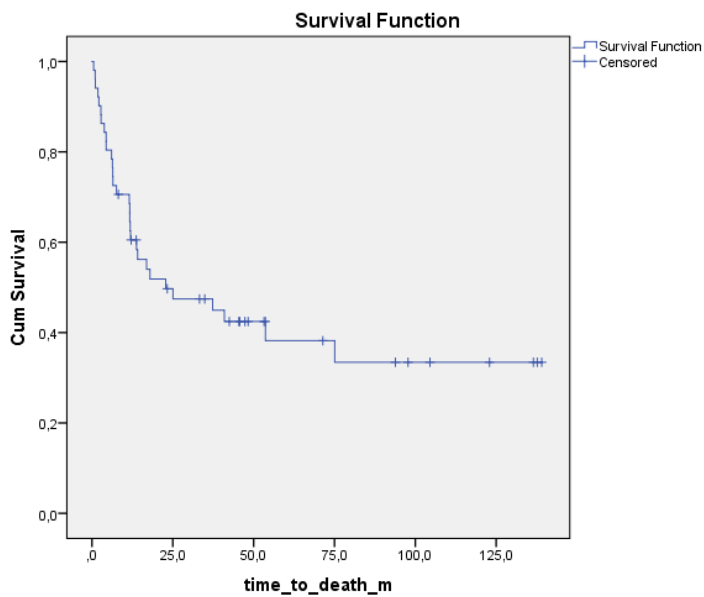
	N	Płeć (M/K)	Wiek (lata, mediana, zakres)
Cała grupa	51	32/19	5,5 (0,1 – 17,8)
Białaczka	21	12/9	8,2 (0,7 – 17,4)
<i>ALL</i>	13		
<i>AML</i>	5		
<i>MDS/JMML</i>	2/1		
Guz lity	18	12/6	6,5 (3,0 – 17,8)
<i>Neuroblastoma</i>	15	10/5	
<i>RMS</i>	1		
<i>Guz Wilmsa</i>	1		
<i>Mięsak Ewinga</i>	1		
Ch. nienowotworowa	12	8/4	1,2 (0,1 – 8,1)
<i>SCID</i>	6	4/2	
<i>Osteopetroza</i>	2		
<i>Mukopolisacharydoza VI</i>	2		
<i>Anemia Fanconiego</i>	1		
<i>SAA (anemia aplastyczna)</i>	1		

Prawie wszyscy pacjenci otrzymali chemioterapię przedprzeszczepową złożoną z Fludarabiny, Tiotepy i Melfalanu. Pacjenci ze wskazaniami nienowotworowymi otrzymali chemioterapię mieloablacyjną z Busulfanem dożylnie (dawkowanie indywidualne w zależności od wyniku badań farmakodynamicznych). Pacjenci z klasycznym złożonym niedoborem odporności (SCID) nie otrzymali żadnej chemioterapii. Wszyscy pacjenci z NBL otrzymali wysoką dawkę MIGB (terapeutyczny izotop jodu I¹³¹) około 3 tygodnie przed rozpoczęciem kondycjonowania. W przypadku gdy liczba resztkowych, kontaminujących przeszczep limfocytów T przekraczała 25x10³/kg biorcy dodatkowo stosowano 4 tygodniową profilaktykę GvHD podając mykofenolat mofetilu.

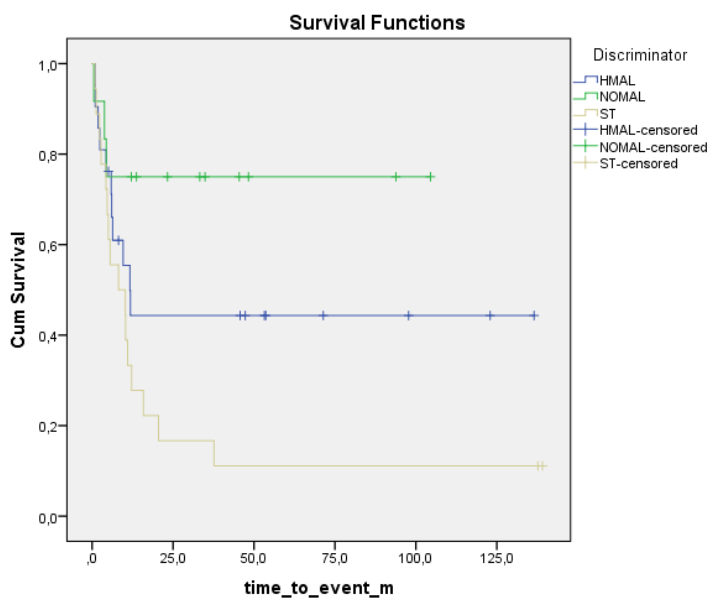
Trwałą allogeniczną odnowę hematologiczną obserwowano u 49 z 51 pacjentów (jeden pacjent zmarł w dniu +16, przed odnową). Jeden pacjent odnowił się autologicznie. U pięciu pacjentów stwierdzono odrzucenie przeszczepu, wykonano retransplantację, po której uzyskano trwałą hematopoezę. Czterech innych pacjentów przeszczepiono po raz drugi, ale w tym wypadku wskazaniem do powtórzenia zabiegu była wznowa choroby podstawowej. Na dzień 7 marca 2017 roku żyje 21/51 pacjentów (mediana 4 lata, 0,7 – 11,5). Biorąc pod uwagę, że większość dzieci należała do grupy wysokiego ryzyka (transplantacja po wznowie lub w przypadku choroby odpornej na konwencjonalne leczenie) przeżycie 10/21 pacjentów z białaczką może być całkiem satysfakcjonujące. 30 pacjentów zmarło (mediana 9,6 miesięcy, 0,5-75). W przypadku transplantacji w grupie pacjentów ze wskazaniami onkologicznymi główną przyczyną zgonu była wznowa choroby (23/27). Czworo dzieci (4/27) z tej grupy zmarło w remisji choroby - dwóch pacjentów z ALL w przebiegu ostrego zapalenia wątroby wywołanego przez adenowirusa i dwóch z przebiegu powikłań ostrej sterydoopornej choroby GvHD, w obu przypadkach po profilaktycznym podaniu limfocytów

dawcy (DLI). Warto podkreślić, że poza tymi dwoma pacjentami ostra choroba GvHD nie stanowiła istotnego problemu klinicznego. Żaden z pacjentów nie rozwinął przewlekłej formy choroby GvHD. Łącznie 7/51 pacjentów zmarło w powodu komplikacji związanych z transplantacją.

W grupie przeszczepianych ze wskazań nie onkologicznych żyje 9/12 pacjentów - mediana 35 miesięcy, (12 – 105). Troje dzieci zmarło 16, 114 i 132 dni po transplantacji: jedno w przebiegu posocznicy wywołanej *Klebsiella pneumoniae*, a dwoje z powodu nieokreślonej, prawdopodobnie wirusowej infekcji układu oddechowego i gwałtownie postępującej niewydolności oddechowej. Poniższe diagramy przedstawiają prawdopodobieństwo przeżycia po przeszczepieniu szpiku, łącznie dla całej grupy pacjentów (Rys. 1) i z podziałem na 3 kategorie (Rys. 2).



Rys.1.
Prawdopodobieństwo przeżycia dla całej grupy pacjentów poddanych haploidentycznej transplantacji szpiku (41,2%).



Rys. 2.
Prawdopodobieństwo przeżycia po haploidentycznej transplantacji szpiku w zależności od rodzaju rozpoznania (białaczki – 47,6%, guzy lite – 11,1%, choroby nienowotworowe – 75%).

Obecnie nie podważa się znaczenia transplantacji haploidentycznych komórek krwiotwórczych. Co więcej wydaje się, że w niedługim czasie ten rodzaj transplantacji stanie się istotną platformą terapii komórkowej i pozwoli na zrozumienie i wykorzystanie mechanizmów odpowiedzi immunologicznej w kontroli procesu nowotworzenia. Jak na razie potencjalne korzyści są w części niwelowane przez długotrwałe upośledzenie układu odpornościowego. Śmiertelność przeszczepowa jest w dalszym ciągu wysoka i konieczne jest opracowanie metod pozwalających na szybsze odzyskanie sprawności immunologicznej przez przeszczepione komórki immunokompetentne. Jednakże samo tylko ograniczenie śmiertelności spowodowanej przez infekcje, zwłaszcza wirusowe, będzie dużym krokiem naprzód.

Generacja komórek antygenowo-specyficznych to następne wyzwanie. Próby wykorzystywania niemodyfikowanych limfocytów dawcy (*donor lymphocyte infusion*) mają co prawda swoje przesłanki teoretyczne, ale z drugiej strony wiadomo, że ryzyko trudnej do kontroli/leczenia GvHD jest wysokie, widać to także w naszej grupie pacjentów. Z tego punktu widzenia atrakcyjna wydaje się być hipoteza, że alloreaktywne (mogące zainicjować GvHD) limfocyty znajdują się we frakcji tak zwanych naiwnych, CD45RA dodatnich limfocytów. Obecna technologia pozwala na wykrycie i skuteczne usunięcie tych limfocytów z próbki krwi pobranej od dawcy i z pozostawieniem limfocytów pamięci, które odpowiedzialne są za szybką odpowiedź i skuteczną obronę przed patogenami (wirusy, bakterie). W ten sposób można korygować upośledzoną przeszczepieniem odporność poprawiając funkcje obronne bez zwiększonego ryzyka GvHD. Pamiętając dwóch pacjentów z ALL, którzy zmarli w remisji białaczki z powodu gwałtownej niewydolności wątroby w przebiegu zakażenia adenowirusem zaplanowano wstępne badanie kliniczne. Celem było sprawdzenie bezpieczeństwa podawania limfocytów T po deplecji komórek CD45RA pozytywnych u pacjentów z reaktywacją infekcji wirusowej. Próbę tą wykonano u 6 pacjentów. Podano od 25000 lub 50000 komórek/kg cc bez żadnych objawów GvHD. Uzyskano skuteczną redukcję liczby kopii wirusów lub całkowitą eliminację wirusa bez zaostrzenia objawów klinicznych infekcji.

Początkowo haploprzeszczep był alternatywą w przypadku braku zgodnego dawcy lub braku czasu na poszukiwanie optymalnego dawcy. Obecnie wskazania do haploSCT wykraczają poza wskazania związane z wymianą chorej hematopoezy. To wskazanie pozostaje oczywiście aktualne w chorobach nienowotworowych. HaploSCT oraz przeszczepowa infuzja limfocytów (DLI), generowanie cytotoksycznych limfocytów rozpoznających antygeny nowotworowe, jest atrakcyjną i dynamicznie eksplorowaną koncepcją leczenia chorób nowotworowych układu krwiotwórczego, jak i również niektórych nowotworów narządowych. Postuluje się możliwość indukcji efektu przeszczep przeciwko nowotworowi (*graft versus neoplasia/tumor/leukemia*). Efekt ten jest mediowany przez immunokompetentne komórki dawcy (limfocyty T, komórki NK) i daje szansę skutecznego leczenia nawet w przypadkach oporności na leczenie cytostatyczne.

Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

Sprawozdanie z XXXII Spotkania dydaktyczno-naukowego

W dniu 8 marca 2017 r. odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXVII Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem członkowie Komisji spotkali się w Sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą, dr. n. med. Jackiem Toporskim, który studia medyczne na Akademii Medycznej we Wrocławiu ukończył w roku 1986. W tym samym roku rozpoczął pracę na Oddziale Immunoterapii Szpitala im. K. Dłuskiego we Wrocławiu, kierowanym przez prof. A. Langego. W latach 1987–1991 pracował pod tym samym kierownictwem w naszym Instytucie, w Laboratorium Immunologii Klinicznej. Studia doktoranckie odbył w Klinice Hematologii i Onkologii Dziecięcej we Wrocławiu w latach 1991–1995, pracę doktorską obronił w 1995 roku. Promotorem rozprawy była prof. J. Bogusławska-Jaworska i pod jej kierownictwem pracował do roku 2004. Od roku 2004 pracuje w Klinice Onkologii Dziecięcej Szpitala Uniwersyteckiego w Lund (Szwecja), w którym od roku 2016 jest kierownikiem Kliniki Pediatrii.

Przed wykładem, o godz. 12.30 w Sali 137 odbyło się spotkanie wykładowcy z Dyrektorem Instytutu, z przybyłymi Członkami Komisji, natomiast o godzinie 13.00 rozpoczął się wykład poprzedzony przedstawieniem wykładowcy przez przewodniczącego Komisji KPM PAU prof. Czesława Radzikowskiego. Na wstępie Wykładowca podał mało znany fakt, że już w roku 1938 we Lwowie dokonano pierwszego w świecie kilkukrotnego przeszczepu szpiku od zdrowego dawcy rodzinnego do szpiku kostnego chorego pacjenta. Jednakże powodzenie przeszczepiania szpiku, które prawidłowo winno być nazywane transplantacją komórek krwiotwórczych, poprzedzone było wieloletnimi badaniami doświadczalnymi nad poznaniem antygenów zgodności tkankowej, tzw. układem H-2 u myszy, co poprzedziło i umożliwiło poznanie układu HLA u ludzi. Poznanie antygenów transplantacyjnych umożliwiło właściwy dobór zgodnych dla biorców dawców szpiku oraz zminimalizowanie zarówno ryzyka odrzucenia przeszczepu, jak i wystąpienia choroby GvHD „przeszczep przeciwko gospodarzowi”. Dla uniknięcia powikłań związanych z przeszczepieniem komórek krwiotwórczych, występujących nawet w wysokiej zgodności tkankowej między dawcą i biorcą przeszczepu, stosuje się tzw. immunoablację, czyli przedprzeszczepową chemioterapię, a także swoistą surowicę, eliminując limfocyty odpowiedzialne za odrzucenie przeszczepu.

Komórki krwiotwórcze stosowane w przeszczepach pochodzą nie tylko ze szpiku kostnego dawcy, mogą być izolowane z krwi obwodowej, pochodzić mogą także z krwi pępowinowej. W doborze dawców komórek krwiotwórczych (CD34+) obowiązuje zasada doboru zgodności tkankowej między dawcą i biorcą przeszczepianego materiału. Wykładowca przedstawił warunki, które winny być spełnione przez dawcę rodzinnego „idealnego” – brat lub siostra, lub „dawcę alternatywnego”, częściowo zgodnego w badanym zbiorze antygenów, czy alleli. Szczególnym rodzajem transplantacji, jak podkreślił Wykładowca, jest transplantacja haploidentyczna – czyli przeszczepianie komórek krwiotwórczych od dawcy rodzinnego, częściowo zgodnego w układzie HLA.

Takie haploidentyczne transplantacje komórek krwiotwórczych wykonywane są od roku 2005 w Szpitalu w Lund, na Oddziale Onkologii, Hematologii i Immunologii. Wykładowca podał szczegółowe informacje o pochodzeniu materiału do przeszczepu, warunkach przygotowania materiału, a także pacjentów do przeszczepu, czyli rodzaju stosowanej chemioterapii przedprzeszczepowej. Szczegółowo podał charakterystykę pacjentów, przedstawioną tabelarycznie, jak również omówił uzyskane wyniki, w tym także liczbę trwałej allogenicznej odnowy hematologicznej. Przedstawił także na kolejnych rycinach prawdopodobieństwo przeżycia dla całej grupy leczonych pacjentów oraz dane o ich przeżyciu w zależności od typu choroby nowotworowej.

Dostępność odpowiednich odczynników i metod pozwalających otrzymywać wybrane populacje komórek w przeszczepianym materiale pozwala na izolowanie alloreaktywnych limfocytów, odpowiedzialnych za niekorzystny odczyn przeciw gospodarzowi (GvH), czyli biorcy przeszczepu. Pozostają w przeszczepialnym materiale tzw. „limfocyty pamięci” skuteczne w odpowiedzi immunologicznej biorcy przeszczepu na patogeny, czyli czynniki chorobotwórcze, jak bakterie czy wirusy.

Wykład był ilustrowany także fotografiami z Wietnamu, gdzie Wykładowca od 2009 roku pracował jako główny konsultant w zakresie onkologii dziecięcej w ramach współpracy Uniwersytetu w Lund z 9 ośrodkami onkologii dziecięcej w tym kraju. Również zainteresowanie słuchaczy wykładu wzbudziła prezentacja fotograficzna Szpitala Uniwersyteckiego w Lund i informacje o składzie osobowym jego zespołu. Wykładowca nawiązał swym stylem wykładu dobry kontakt ze słuchaczami klas licealnych, którzy w liczbie 64 z Liceów Ogólnokształcących X i XV uczestniczyli w wykładzie. Sześciu licealistów zgłosiło się po wykładzie z pytaniami nie tylko na temat wykładu, ale także bardziej osobistymi dot. motywacji wyboru zawodu lekarza i problemów związanych z kontaktem z chorymi dziećmi.

W XXXII Spotkaniu uczestniczyło około 100 słuchaczy, poza uczniami klas licealnych byli to członkowie Komisji, pracownicy Instytutu oraz doktoranci i studenci. Niemożność uczestniczenia zgłosili członkowie KPM: profesorowie Jerzy Mozrzyk, Jacek Otlewski i Waław Sokalski. „Spotkanie po spotkaniu” w miłej atmosferze trwało do godziny 16.00. Uczestniczyli w nim, poza członkami Komisji: profesorami Januszem Boratyńskim, Anną Chełmońską-Soyta, Ireną Frydecką, Pawłem Kafarskim, Aleksandrą Klimczak, także profesorowie: Jacek Rybka, Jolanta Łukaszewicz, Katarzyna Bogunia-Kubik, Marcin Czerwiński i dr Marek Drab.

Katarzyna Prosek

Sekretarz KPM PAU we Wrocławiu

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU we Wrocławiu

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXIII otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu
12 kwietnia 2017 roku

z udziałem Dr Romana Krzyśka MD, PhD

Service d'Immunologie biologique CHU Kremlin-Bicetre, AP-HPINSERM U996,
Universite Paris-Saclay, France

Tytuł wykładu:

**„KONTROLA FUNKCJI REGULATORYWYCH KOMÓREK Tregs Foxp3+
JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ”**

Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Śłopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Dr Roman KRZYSIEK – informacja biograficzna

Langues:

Français, Polonais, Anglais, Russe, Portugais

Sociétés Savantes:

- Membre de la Société Française d'Immunologie
- Membre du Club Francophone des Cellules Dendritiques

Titres Universitaires et Diplômes

Formation théorique et pratique mixte, de médecin clinicien et de biologiste

- X.1989: Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine, Université de Wrocław, Pologne
- 1993: Diplôme de Spécialisation en Médecine Interne, Université de Wrocław, Pologne (sous la direction du Pr A. Lange)
- X.1995: DEA: "Structures et Fonctionnement des Systèmes Biologiques Intégrés" (Université Paris XI, Orsay)
- 22.II.2000: Thèse de Sciences, Université Paris XI, Discipline : Immunologie « Rôle des interactions cellulaires et des chimiokines dans la réponse lymphocytaire B » - Mention : Très honorable avec les félicitations du jury.

Fonctions hospitalo-universitaires et de recherché

Depuis 1990, Assistant dans le Service de Médecine, Hôpital K. Dluski, Wrocław, Pologne (en disponibilité d'octobre 1994 à septembre 1995 et depuis septembre 1996).

- 1990 – IX.1994: Assistant, Service de Médecine, Hôpital K. Dluski, Wrocław, Pologne, avec des fonctions de médecin clinicien et d'enseignant
- X.1994 – IX.1995: boursier du Ministère des Affaires Etrangères; stage de DEA dans l'Unité INSERM 131
- X.1995 – VIII.1996 : Assistant à l'Hôpital K. Dluski, avec stages cliniques dans le Service de Médecine Interne-Immunologie Clinique et dans le Service de Pneumologie, Hôpital Antoine Béchère, Clamart
- Années universitaires 1996-1997 et 1997-1998: Assistant-Chef de Clinique Associé, sur un poste du contingent national, Faculté de Médecine Paris-Sud
- IX.1998 – IX.1999: bourse de thèse de l'ARC
- X.1999 – X.2002: Moniteur d'Etudes Biologiques (MEB) de l'Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRS)
- X.2002 – IV.2003: chercheur post-doctorant (rémunéré sur vacations à l'Unité INSERM 131)
- V.2003 – IX.2004: Visiting scientist, Laboratoire du Pr. T.S. Kupper, Harvard Skin Disease Research Center, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA
- od 1.IX.2004, Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier (Associate Professor) dans le Service d'Immunologie Biologique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart et chercheur à l'U996 de l'INSERM à Clamart.
- od 1.X.2012: Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier (Associate Professor) dans le Service d'Hématologie et Immunologie Biologique, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre et chercheur à l'U996 LabEx Lermite de l'INSERM à Clamart.

• od 1.X.2013: Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier (Associate Professor) dans le Service d’Immunologie Biologique, CHU Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre et chercheur à l’U996 LabEx Lermite de l’INSERM à Clamart.

Recherche :

https://www.researchgate.net/profile/Roman_Krzysiek

Participation aux projets de recherche européens :

1) BMBS COST Action BM1406

Ion Channels and Immune Response toward a global understanding of immune cell physiology and for new therapeutic approaches (IONCHAN-IMMUNRESPON)

http://www.cost.eu/COST_Actions/bmbs/Actions/BM1406

Co-investigator

2) Consortium ABIRISK

Anti-Biopharmaceutical Immunization: prediction and analysis of clinical relevance to minimize the RISK

<http://www.abirisk.eu/>

Co-investigator (WP1)

LISTE DES PUBLICATIONS AUTRES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Articles Originaux

(revues à comité de lecture)

1. Legendre C., Gras G., Krzysiek R., Galanaud P., Richard Y., Dormont D. Mechanisms of opsonized-HIV entry in normal B lymphocytes. 1996, **FEBS letters** 321:227-232.
2. Gras G., Legendre C., Krzysiek R., Dormont D., Galanaud P., Richard Y. CD40/CD40L interactions and cytokines regulate HIV replication in B cells. 1996, **Virology** 220:309-319.
3. Krzysiek R., Lefevre E., Legendre C., Treton D., Dormont D., Galanaud P., Gras G., Richard Y. B cell-driven HIV type 1 expression in T cells : an essential role of CD86 costimulatory molecule. 1998, **AIDS Res Hum Retroviruses** 14 (11): 989-997.
4. Krzysiek R., Lefevre E., Zou W., Foussat A, Bernard J, Portier A., Galanaud P., Richard Y. Antigen receptor engagement selectively induces macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α and MIP-1 α chemokine production in human B cells. 1999, **J Immunol** 162:4455-4463.
5. Lefevre E., Krzysiek R., Portier A., Galanaud P., Richard Y. HIV-1 Protein Tat differentially regulates proliferation of naive, memory and germinal center B cells. 1999, **J Immunol** 163(3): 1119-22.
6. Foussat A, Coulomb-L'Hermine A, Gosling J, Krzysiek R, Durand-Gasselien I, Schall T, Balian A, Richard Y, Galanaud P, Emilie D. Fractalkine receptor expression by T lymphocyte subpopulations and *in vivo* production of fractalkine in human. 2000 **Eur J Immunol** 30(1):87-97
7. Krzysiek R, Lefevre EA, Bernard J, Foussat A, Galanaud P, Louache F, Richard Y. Regulation of CCR6 chemokine receptor expression and responsiveness to macrophage inflammatory protein-3 α /CCL20 in human B cells. 2000 **Blood** 96(7): 2338-2345.
8. Foussat A, Berrebi D, Bouchet-Delbos L, Durand-Gasselien I, Krzysiek R, Galanaud P, D. Emilie. Deregulation of the expression of the fractalkine/fractalkine receptor complex in HIV-1-infected patients. 2001 **Blood** 98(6):1678-1686.

9. Emilie D, Burgard M, Lascoux-Combe C, Laughlin M, Krzysiek R, Pignon C, Rudent A, Molina J-M, Livrozet J-M, Chene G, Grangeot-Keros L, Galanaud P, Sereni D, Rouzioux C and the PRIMOFERON Study Group. Early control of HIV replication in primary HIV-1 infection treated with antiretroviral drugs and pegylated interferon alpha. 2001 **AIDS** 15(11):1435-7.
10. Krzysiek R, Rudent A, Bouchet-Delbos L, Foussat A, Portier A, Ingrand D, Sereni D, Galanaud P, Grangeot-Keros L, Emilie D. Preferential and persistent depletion of CCR5+ T helper lymphocytes with non-lymphoid homing potential despite early treatment of primary HIV infection. 2001 **Blood** 98(10):3169-3171
11. Balabanian K, Foussat A, Bouchet-Delbos L, Couderc J, Krzysiek R, Baleux F, Galanaud P, Emilie D. Interleukin-10 modulates the sensitivity of peritoneal B lymphocytes to chemokines with opposite effects on SDF-1 and BLC. 2002 **Blood** 99(2):427-436.
12. Zou W, Machelon V, Coulomb-L'Herminé A, Borvak J, Nome F, Isaeva T, Wei S, Krzysiek R, Durand-Gasselín I, Gordon A, Pustilnik T, Curiel D, Galanaud P, Capron F, Emilie D, Curiel TJ. Stromal derived factor-1 in human tumors recruits and alters the function of preDC2 cells. 2001 **Nat Med** 7(12):1339-1346.
13. Balabanian K, Foussat A, Dorfmueller P, Durand-Gasselín I, Bouchet-Delbos L, Portier A, Marfaing-Koka A, Krzysiek R, Rimaniol AC, Simonneau G, Emilie D, Humbert M. Fractalkine and its receptor (CX3CR1) in primary pulmonary hypertension. 2002 **Am J Respir Crit Care Med** 165(10):1419-1425.
14. Levy Y, Durier C, Krzysiek R, Rabian C, Capitant C, Lascaux AS, Michon C, Oksenhendler E, Weiss L, Gastaut J-A, Goujard C, Rouzioux C, Maral J, Delfraissy J-F, Emilie D, Aboulker J-P and the ANRS 079 study group. Effects of intermittent subcutaneous interleukin-2 therapy combined with highly active antiretroviral treatment on immune restoration in asymptomatic HIV-1 infection: a randomised controlled trial. 2003 **AIDS** 17(3):343-351.
15. Curiel TL, Wei S, Dong H, Alvarez X, Cheng P, Moltram P, Krzysiek R, Knuston K, Daniel B, Zimmermann MC, David O, Burow M, Gordon A, Dhurandar N, Myers L, Berggren R, Hemminki A, Alvarez RD, Emilie D, Curiel DT, Chen L, Zou W. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell mediated anti-tumor immunity. 2003 **Nat Med** 9(5) 562-567.
16. Halary F, Pitard V, Dlubek D, Krzysiek R, de la Salle H, Merville P, Dromer C, Emilie D, Moreau JF, Déchanet-Merville J. Shared reactivity of Va2neg gd T cells against CMV-infected cells and tumor intestinal epithelial cells. 2005 **J Exp Med** 201 (10) 1567-1578.
17. Kryczek I, Frydman N, Gaudin F, Krzysiek R, Fanchin R, Emilie D, Chouaib S, Zou W, Machelon V. The chemokine SDF-1/CXCL12 contributes to T lymphocyte recruitment in human pre-ovulatory follicles and coordinates with lymphocytes to increase granulosa cell survival and embryo quality. 2005 **Am J Reprod Immunol** 54 (5) 270-283.
18. Adalid Peralta L, Grangeot-Keros L, Rudent A, Ngo-Giang-Huong N, Krzysiek R, Goujard C, Devaux C, Le Gall M, Meyer L, Emile D, Rouzioux C. Impact of highly active anti-retroviral therapy (HAART) on subclasses and avidity maturation of HIV-1-specific IgG in primary HIV-1 infection. 2006 **HIV Med** 7 (8) 514-519.
19. Vauloup C, Krzysiek R, Grangeot-Keros L, Wendling D, Goupille P, Brault R, Brousse C, Mariette X, Emilie D. Effects of tumor necrosis factor antagonist treatment on hepatitis C-related immunological abnormalities. 2006 **Eur Cytokine Netw.** 17(4):290-293.
20. Hamdi H, Godot V, Maillot MC, Prejean MV, Cohen N, Krzysiek R, Lemoine FM, Zou W, Emilie D. Induction of antigen-specific regulatory T lymphocytes by human dendritic cells expressing the glucocorticoid-induced leucine zipper. 2007 **Blood** 110(1):211-219.

21. Adalid-Peralta L, Godot V, Colin C, Krzysiek R, Tran T, Poignard P, Venet A, Hosmalin A, Lebon P, Rouzioux C, Chene G, Emilie D, The Interprim Anrs 112 Study Group. Stimulation of the primary anti-HIV antibody response by IFN α in patients with acute HIV-1 infection. 2008 **J Leukoc Biol** 83(4):1060-1067.
22. Krzysiek R, Breban M, Ravaud P, Roy C, Wijdenes J, Prejean M-V Maria, Henry Y-D, Barbey C, Trappe G, Dougados M, Emilie D for the French Ankylosing Spondylitis Infliximab Network. Circulating concentration of infliximab and response to treatment in ankylosing spondylitis: results from a randomized control study. 2009 **Arthritis Rheum** 61(5): 569-576.
23. Maarof G, Delbos-Fichet L, Gary-Gouy H, Durand-Gasselien I, Krzysiek R, Dalloul A. Interleukin 24 inhibits plasma cell differentiation program in human germinal center B cells. 2010 **Blood** 115: 1718-26.
24. Krzysiek R. Role of GILZ (Glucocorticoid leucine zipper) in dendritic cells in tolerance induction. **Transpl Proc** 2010;42(8):3331-2.
25. Desroches M, Louis G, Gleizes A, Krzysiek R, Emilie D. Treatment failures with antagonists of TNF α : mechanisms and implications for the care of patients. **Eur Cyt Netw** 2010;21(4):226-31.
26. Maarof G, Krzysiek R, Décline JL, Cohen J, Habes D, Jacquemin E. Management of post-liver transplant-associated IgE-mediated food allergy in children. **JACI** 2011; 127(5):1296-8.
27. Pariente B, Pineton de Chambrun G, Krzysiek R, Desroches M, Louis G, De Cassan C, Baudry C, Gornet JM, Pierre Desreumaux P, Emilie D, Colombel JF, Allez M. Trough levels and antibodies to infliximab may not predict response to intensification of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis** 2012 18(7):1199-206.
28. Pariente B, Pineton de Chambrun G, Desroches M, De Cassan C, Gornet JM, Desreumaux P, Krzysiek R, Emilie D, Colombel JF, Allez M. Clinical value of measuring trough levels and human antichimeric antibodies in patients with inflammatory bowel disease who lost response to infliximab therapy. **Gastroenterology** 2011; 140(5), Supplement 1, Page S-277.
29. Ma Y, Adjemian S, Mattarollo SR, Yamazaki T, Aymeric L, Yang H, Portela Catani JP, Hannani D, Duret H, Steegh K, Martins I, Schlemmer F, Michaud M, Kepp O, Sukkurwala AQ, Menger L, Vacchelli E, Droin N, Galluzzi L, Krzysiek R, Gordon S, Taylor PR, Van Endert P, Solary E, Smyth MJ, Zitvogel L, Kroemer G. Anticancer chemotherapy-induced intratumoral recruitment and differentiation of antigen-presenting cells. **Immunity** 2013;38(4):729-41.
30. Krzysiek R, de Goër de Herve MG, Yang H, Taoufik Y. Tissue competence imprinting and tissue residency of CD8 $^{+}$ T cells. **Front Immunol**. 2013 7;4:283.
31. Yang H, Ma Y, Attout T, Misra N, Hemon P, Dahdah A, Tran T, Bouchet-Delbos L, Berrebi D, Zou W, Fuhlbrigge RC, Taoufik Y, Pallardy M, Bachelerie F, Kroemer G, Emilie D, Launay P, Krzysiek R. Targeting TRPM4 ion channel function in Foxp3 Tregs cell unleashes antitumoral immune response in vivo. **eLife**. 2014 (submitted)
32. Hamdi L, Creidy R, Raphael M, Khelifa R, Krzysiek R, Besson C. Lymphopénie et lymphome de Hodgkin: impact pronostique et physiopathologique. **Hématologie** 2013, 19 (5), 334-39.
33. Jaafoura S, de Goër de Herve MG, Hernandez-Vargas EA, Hendel-Chavez H, Abdoh M, Mateo MC, Krzysiek R, Merad M, Seng R, Tardieu M, Delfraissy JF, Goujard C, Taoufik Y. Progressive Contraction of the Latent HIV Reservoir around a Core of Less-Differentiated CD4 $^{+}$ Memory T-Cells . **Nat Commun**. 2014, 10;5:5407

34. Calmette J, Ellouze M, Tran T, Karaki S, Ronin E, Capel F, Pallardy M, Bachelerie F, Krzysiek R, Emilie D, Schlecht-Louf G, Godot V. Glucocorticoid-induced leucine zipper enhanced expression in dendritic cells is sufficient to drive regulatory T cells expansion in vivo. **J Immunol.** 2014, 193(12):5863-72
35. Sigaux J, Hamze M, Daien C, Morel J, Krzysiek R, Pallardy M, Maillere B, Mariette X, Miceli-Richard C AB0462 The Lack of Antidrug Antibodies Among Patients Treated with Tocilizumab: A Clue to Good Efficacy Profiles When Used as Monotherapy? **Annals of the Rheumatic Diseases** 74(Suppl 2), 2015,1050.2-1050
36. Vincent FB, Pavy S, Krzysiek R, Lequerré T, Sellam J, Taoufik Y, Mariette X, Miceli-Richard C. Effect of serum anti-tumour necrosis factor (TNF) drug trough concentrations and antidrug antibodies (ADAb) to further anti-TNF short-term effectiveness after switching in rheumatoid arthritis and axial spondyloarthritis. **Joint Bone Spine.** 2016 S1297-319X(16)00028-2.nt 1, Page S-277.

Dr Roman Krzysiek, MD, PhD.

Streszczenie wykładu: KONTROLA FUNKCJI REGULATORYWYCH KOMÓREK TREGS FOXP3+ JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Immunoterapia to strategia leczenia przeciwnowotworowego polegająca na aktywacji układu immunologicznego, który posiada wysoko skuteczne mechanizmy obronności przeciwnowotworowej. Rozwój chorób nowotworowych uwarunkowany jest tym, że niektóre komórki nowotworowe wymykają się spod kontroli układu immunologicznego rozrastając się w sposób niekontrolowany. Skutecznie oszukując różne mechanizmy niszczące komórki nowotworowe lub hamujące ich wzrost, guz nowotworowy staje się nierozpoznawalny dla układu odpornościowego uniemożliwiając tym samym jego eliminację.

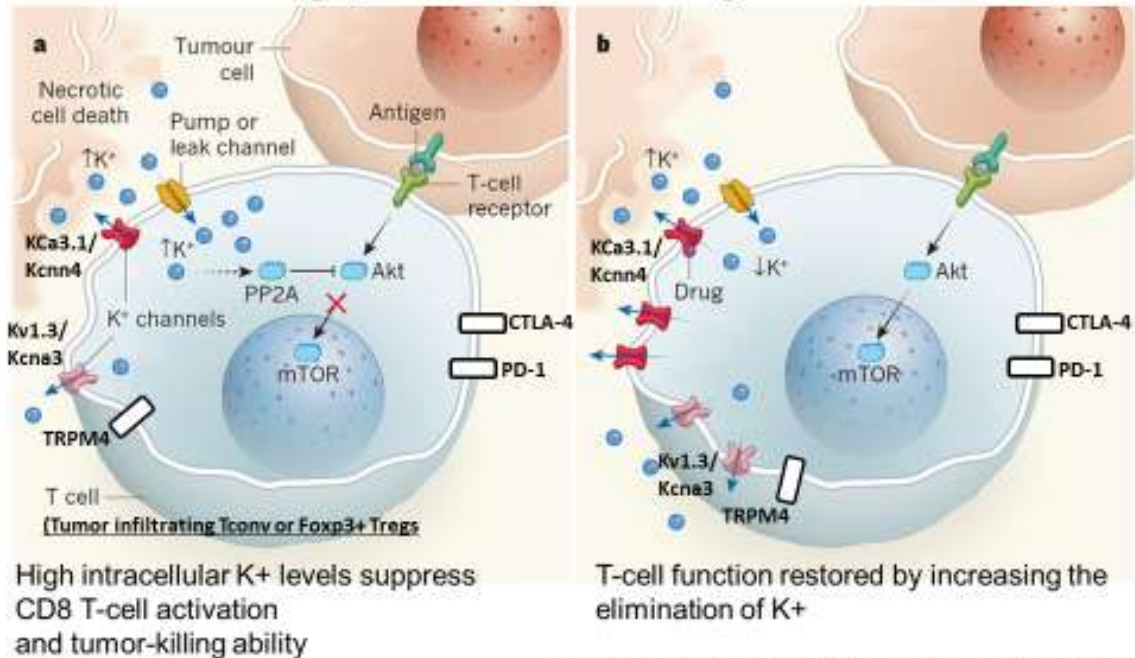
W ciągu ostatnich kilku lat, immunoterapia oraz tzw. terapie celowane zdominowały współczesne trendy leczenia przeciwnowotworowego. Ocenia się, że w najbliższych latach immunoterapia będzie jedną z najszybciej rozwijających się strategii leczenia w dziedzinie onkologii ze względu na zapowiadane szybkie wprowadzanie do zastosowania w klinice coraz to nowych leków z tej grupy. Podczas corocznej konferencji Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (ASCO) w 2013 roku przedstawiono prognozy, według których immunoterapia zdominuje leczenie chorób nowotworowych w nadchodzących latach, a po 2020 roku może być ona zaproponowana w leczeniu nawet co drugiego nowotworu. Immunoterapia opiera się na całkowitej zmianie obowiązującego w ostatnich kilkudziesięciu latach w onkologii paradygmatu opierającego się na stosowaniu leków lub form leczenia wykazujących udowodnione bezpośrednie działanie toksyczne wobec komórek nowotworowych (leczenie cytostatyczne - chemioterapia oraz radioterapia). Immunoterapia ma zupełnie inny mechanizm działania - leki z tej grupy nie mają udowodnionego bezpośredniego efektu cytotoksycznego na komórki nowotworowe, a działają jedynie pośrednio stymulując naturalne mechanizmy istniejące w układzie odpornościowym, odpowiedzialne za wykrywanie i eliminację komórek nowotworowych. Immunoterapia jest obecnie jedną z nielicznych strategii terapeutycznych w onkologii, która nawet na etapie zaawansowanego lub uogólnionego procesu nowotworowego może doprowadzić do długotrwałych (wieloletnich) przeżyć pacjentów. Czy immunoterapia może potencjalnie doprowadzić do całkowitego wyleczenia chorego z choroby nowotworowej pozostaje jeszcze sprawą otwartą i wymagać będzie oceny w szeroko zakrojonych kontrolowanych badaniach klinicznych.

Prawdziwy przełom w onkologii dotyczący immunoterapii nastąpił kilka lat temu, kiedy wykorzystano w praktyce klinicznej istniejącą wiedzę pochodzącą z wcześniejszych badań doświadczalnych *in vitro*, jak i z badań na mysich modelach nowotworowych. Badania te dotyczyły receptorów błonowych na limfocytach T określanymi obecnie jako **punkty kontroli układu immunologicznego („immune checkpoints”)**, tzn. receptorów, które w sposób istotny kontrolują odpowiedź immunologiczną. Receptory te dzieli się na receptory hamujące i stymulujące odpowiedź immunologiczną. Do receptorów hamujących tego typu należą receptory: CTLA-4, PD-1, TIM-3, VISTA, BTLA czy LAG-3. Do receptorów stymulujących zalicza się receptory: GITR, CD27, CD28, CD137, OX40 czy HVEM. Wszystkie te receptory, zarówno o działaniu hamującym jak i stymulującym, są aktywne na różnych etapach odpowiedzi przeciwnowotworowej i kontrolują zarówno czas trwania, jak i nasilenie tej odpowiedzi ze strony limfocytów T CD4+ i T CD8+ oraz innych komórek bardzo istotnych dla odpowiedzi przeciwnowotworowej, jak komórki NK (Natural Killers). Stymulacja receptorów typu *checkpoint* na limfocytach następuje poprzez ich interakcję z naturalnymi ligandami tych receptorów, których ekspresja występuje zarówno na samych

komórkach nowotworowych jak i na innych komórkach naciekających guz. Zaangażowanie receptorów hamujących typu *checkpoint* przez ich ligandy powoduje skuteczne wyłączenie aktywności układu immunologicznego, mechanizmów odpowiedzi przeciwnowotworowej. Istotnym udokumentowanym faktem jest także proces, w którym nowotwory silnie zwiększają ekspresję błonową niektórych receptorów typu *checkpoint*, hamując tym samym odpowiedź przeciwnowotworową. Ze względu na ich rolę w kontroli odpowiedzi immunologicznej, wszystkie wyżej wymienione receptory stanowią aktualnie przedmiot intensywnych badań przedklinicznych oraz klinicznych w wielu jednostkach chorobowych, w tym także w nowotworach złośliwych. Wyżej wymienione grupy receptorów występują na aktywowanych limfocytach T CD4+ oraz limfocytach cytotoksycznych T CD8+, tzw. konwencjonalnych (limfocyty Tconv), które aktywnie uczestniczą w wykrywaniu i niszczeniu komórek nowotworowych *in vivo*. Te same receptory występują jednocześnie na limfocytach zupełnie innego typu i o diametralnie innej funkcji, zwanych komórkami regulatorowymi (**limfocyty Tregs Foxp3+**). Główną rolą fizjologiczną komórek Tregs Foxp3+ jest regulowanie a zwłaszcza hamowanie różnych typów odpowiedzi układu immunologicznego, w tym odpowiedzi przeciwnowotworowej. Uważa się obecnie, że komórki te, występujące tylko w niewielkiej liczbie we krwi obwodowej, pełnią niezwykle ważną rolę w ochronie organizmu przed nadmiernymi reakcjami zapalnymi oraz chorobami z autoagresji. Dowodem na to są ciężkie schorzenia oraz zespoły autoimmunologiczne, jakie obserwuje się w przypadku zmniejszenia liczby czy dysfunkcji tych komórek w organizmie. Z punktu widzenia onkologii, komórki Tregs Foxp3+ naciekające zmianę nowotworową (guz) w sposób skuteczny wyhamowują najważniejsze lokalne i systemowe mechanizmy obrony przeciwnowotworowej, przyczyniając się tym samym do wzrostu i rozsiewu nowotworu.

Najczęściej wykorzystywanym typem immunoterapii przeciwnowotworowej, mającej na celu zablokowanie funkcji receptorów typu *checkpoint* o charakterze hamującym odpowiedź immunologiczną jest stosowanie swoistych przeciwciał monoklonalnych. Pierwszymi receptorami, wobec których otrzymano przeciwciała blokujące były receptory CTLA-4 i PD-1. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych anty-CTLA-4 (Ipilimumab, Yervoy®) i anty-PD-1 (Nivolumab, Opdivo®) stanowiło prawdziwy przełom w leczeniu chorych z takimi nowotworami jak czerniak złośliwy (melanoma malignum), zwłaszcza w stadium zaawansowanym jego rozwoju. Mechanizm działania obu leków nie jest identyczny. Oba receptory występują zarówno na komórkach Tconv, jak i na komórkach Tregs Foxp3+. Stymulacja receptora CTLA-4 przez naturalne ligandy CD80 i CD86 hamuje indukcję i propagację swoistych wobec nowotworu limfocytów T CD4+ i T CD8+ w obrębie węzłów chłonnych. CTLA-4 działa jak „wyłącznik”, zmniejszając aktywność komórek odpowiadających za bezpośrednie niszczenie komórek nowotworowych i lizę guza, takich jak komórek NK czy limfocytów cytotoksycznych T CD8+. Zahamowanie funkcji tego receptora silnie stymuluje swoistą jak i nieswoistą odpowiedź przeciwnowotworową układu immunologicznego. W przypadku receptora PD-1, jego zaangażowanie przez naturalny ligand PD-L1 (lub PD-L2) uniemożliwia efektywną eliminację komórek nowotworowych poprzez hamowanie funkcji antygenowo swoistych limfocytów T CD4+ czy T CD8+ obecnych w mikrośrodowisku guza. Inhibitory PD-1 (jak i PD-L1/2) znoszą negatywne działanie systemu PD-1/PD-L1/2 wobec odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Ionic immune checkpoints concept: channelling potassium to fight cancer



Jednym z udokumentowanych korzystnych działań tych inhibitorów, zwłaszcza przeciwciał monoklonalnych anti-CTLA-4 jest hamowanie funkcji i eliminacja komórek regulatorowych Tregs Foxp3⁺ naciekających guz. Pojawiające się na skutek blokady CTLA-4 i PD-1 swoiste wobec guza aktywowane limfocyty T, jak i eliminacja komórek Tregs Foxp3⁺ powoduje wyjątkowo silne pobudzenie odpowiedzi przeciwnowotworowej doprowadzając w niektórych przypadkach do spektakularnej całkowitej lizy guza. Ceną za tę odpowiedź są objawy o charakterze autoimmunologicznym. Objawy te wynikają z silnego pobudzenia odpowiedzi immunologicznej z jednoczesnym globalnym obniżeniem funkcji komórek Tregs Foxp3⁺. W niektórych przypadkach, objawy te wymagają dodatkowej hospitalizacji pacjenta i stanowią najważniejsze działanie niepożądane, związane z leczeniem inhibitorami typu checkpoint. Toksyczność przeciwciał anti-CTLA-4 jest przy tym dużo większa niż przeciwciał anti-PD-1 czy anti-PD-L1. Dotychczas opublikowane wyniki badań z wykorzystaniem przeciwciał anti-CTLA-4, anti-PD-1, anti-PD-L1, czy ich kombinacji u chorych na nowotwory w stadium zaawansowanym są bardzo obiecujące i wskazują, że strategia ta może okazać się skuteczna nie tylko w przypadku nowotworów o znanej immunogenności, jak czerniak, rak nerki, niektóre raki płuc, ale również w przypadku nowotworów o niskiej immunogenności (np. część raków płuc). Bardzo istotnym z punktu widzenia klinicznego faktem jest działanie synergiczne ze znaczącym wydłużeniem całkowitego czasu przeżycia pacjentów, obserwowanym po jednoczesnym zastosowaniu dwóch inhibitorów typu checkpoint (anti-CTLA-4 + anti-PD-1). Powyższe strategie odblokowywania hamulców układu odpornościowego okazały się skuteczne w leczeniu chorób nowotworowych, poza czerniakiem złośliwym, takich jak rak płuca, nerki, pęcherza moczowego, jelita grubego, gruczołu krokowego, piersi oraz nowotwory układu krwiotwórczego. Obserwacja ta, pokazująca, że znacząco lepszy wynik terapeutyczny można

uzyskać stosując połączenie różnych form immunoterapii jest bardzo obiecująca i otwiera drogę do testowania coraz to nowych kombinacji już dostępnych leków z nowymi lekami, które pojawią się w przyszłości. Obserwacja ta stanowi także silny impuls do badań podstawowych mających na celu identyfikację nowych celów terapeutycznych, zdolnych do kontrolowania odpowiedzi przeciwnowotworowej. Wg opinii ekspertów, postęp w leczeniu przeciwnowotworowym zależeć będzie od poznania nowych celów dla immunoterapii (immunointerwencji) oraz leczenia kojarzonego z już stosowanymi lekami i strategiami terapeutycznymi.

Wprowadzenie immunoterapii z wykorzystywaniem inhibitorów checkpoint doprowadziło do znaczącej poprawy przeżycia u pacjentów z wieloma typami nowotworów, jednak kilka istotnych problemów związanych z tą formą leczenia pozostaje do rozwiązania: (i) istnieją typy nowotworów, które nie odpowiadają w ogóle lub bardzo słabo na dostępne aktualnie formy immunoterapii, (ii) wciąż niski procent pacjentów uzyskujących długoletnie przeżycia, nawet w przypadku nowotworów odpowiadających na leczenie i przy skojarzonym leczeniu dwoma lekami z tej grupy (np anty CTLA-4 + anty-PD-1), (iii) wysoka toksyczność leczenia (zwłaszcza inhibitorów CTLA-4 i leczenia skojarzonego). Odrębną, ale także ważną kwestią pozostaje wciąż ograniczona liczba nowotworów kwalifikowanych do tego typu leczenia oraz bardzo wysoki jego koszt, a więc ograniczona dostępność dla większej liczby pacjentów. Wszystkie te argumenty mocno przemawiają za celowością dalszych poszukiwań nowych celów terapeutycznych do wykorzystania w immunoterapii nowotworów.

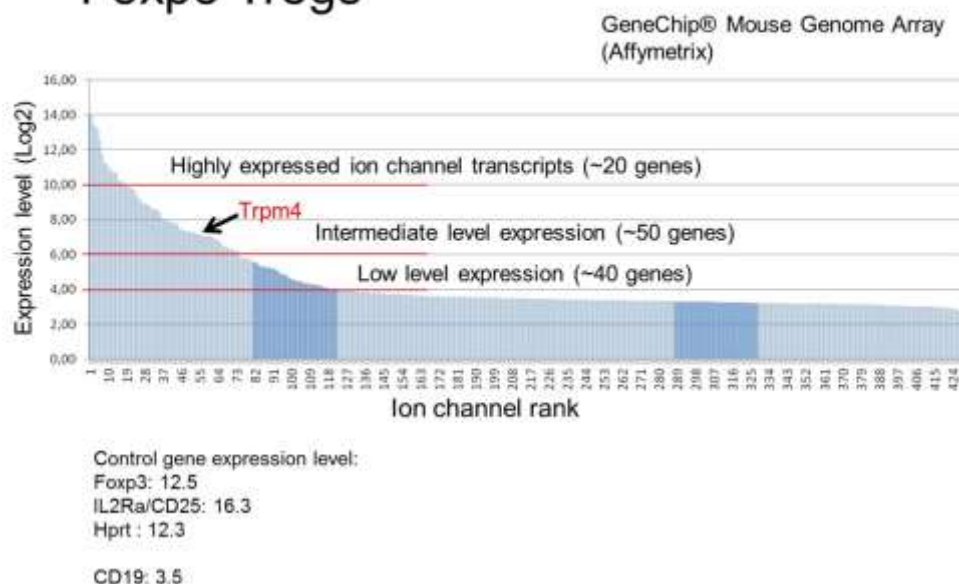
Praca naszej grupy badawczej w laboratorium INSERM U996 w Clamart pod Paryżem ze współpracą z Suzhou Institute of System Medicine w Chinach koncentruje się na identyfikacji nowych celów terapeutycznych specyficznych wobec komórek regulatorowych (Tregs Foxp3+) naciekających guzy nowotworowe.

Celem tego projektu jest znalezienie nowych istotnych funkcjonalnie receptorów błonowych lub białek wewnątrzkomórkowych, które w sposób skuteczny eliminowałyby wyjątkowo niekorzystne dla odpowiedzi przeciwnowotworowej komórki Tregs Foxp3+ w obrębie guza. W idealnym scenariuszu, zahamowanie funkcji takich receptorów błonowych lub białek wewnątrzkomórkowych nie powinno mieć większego niekorzystnego efektu na inne populacje komórek Tregs Foxp3+ w organizmie (warunek niezbędny do wyeliminowania lub przynajmniej znacznego ograniczenia komplikacji typu autoimmunologicznego), jak i na różne populacje komórek efektorowych naciekających guz (komórki nie-Tregs Foxp3+, limfocyty Tconv, komórki NK), absolutnie niezbędnych do uzyskania skutecznej odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Wykorzystując szeroko obecnie stosowaną technologię mikromacierzy DNA (gene Chip/DNA Microarray), która pozwala na jednoczesne analizowanie ekspresji wszystkich genów komórki (>72 000 transkryptów obejmujących mRNA ale także różne grupy małych regulatorowych RNA) nasz zespół zanalizował ekspresję wszystkich genów komórek Tregs Foxp3+ infiltrujących guzy w mysim modelu włókniakomięsaka (fibrosarcoma), złośliwego nowotworu wywodzącego się z fibroblastów, który charakteryzuje się obfitymi naciekami komórek układu odpornościowego, w tym komórek Tregs Foxp3+. Zestaw genów, których ekspresja charakteryzuje komórki Tregs Foxp3+ naciekające te guzy nowotworowe (transcriptional signature) porównano z ekspresją genów charakteryzującą inne populacje komórek Tregs Foxp3+ (Tregs Foxp3+ wyizolowane z węzłów chłonnych) oraz komórki T CD4+ konwencjonalne (komórki nie-Tregs Foxp3+, limfocyty Tconv CD4+ i CD8+). Głównym celem naszego projektu była identyfikacja genów których ekspresja różni się najbardziej między analizowanymi populacjami komórek, a więc genów kodujących białka mogące reprezentować potencjalne cele terapeutyczne, skierowane w sposób selektywny wobec komórek Tregs Foxp3+, infiltrujących zmiany nowotworowe.

Stosując w/w strategię zidentyfikowany został jeden gen, którego silna ekspresja charakteryzowała komórki Tregs Foxp3+ infiltrujące guz nowotworowy. Gen ten koduje nieselektywny kanał kationowy TRPM4 (Transient receptor potential cation channel subfamily M member 4), znany już, między innymi z kontroli aktywacji limfocytów T. Główną udokumentowaną rolą tego kanału jest negatywna regulacja aktywacji komórek T. W celu analizy roli tego kanału w funkcji komórek T regs Foxp3+ w trakcie odpowiedzi przeciwnowotworowej, stworzyliśmy myszy model, w którym występuje selektywna delecja genu TRPM4 tylko w komórkach Tregs Foxp3+ (model *Trpm4^{fl/fl}Foxp3^{Cre+}*, *Trpm4* cKO). Wykorzystując w/w model, potwierdziliśmy, że selektywna delecja genu TRPM4 w komórkach Tregs Foxp3+ wiąże się ze znacznie zwiększoną kontrolą odpowiedzi przeciwnowotworowej, wynikającą, wg naszej interpretacji, głównie z nasilonej śmierci komórek Tregs Foxp3+ w obrębie guza. Zniszczenie komórek o silnym charakterze immunosupresyjnym, jakim są komórki Tregs Foxp3+, znacznie nasila odpowiedź przeciwnowotworową ze strony swoistych komórek konwencjonalnych (Tconv, CD4+ i T CD8+) i powoduje prawie całkowite zahamowanie jego wzrostu.

Channelome of tumor infiltrating Foxp3 Tregs



W celu określenia roli także innych kanałów jonowych w funkcji komórek Tregs Foxp3+ scharakteryzowaliśmy ekspresję pełnego zestawu wszystkich znanych kanałów jonowych (>450 zidentyfikowanych genów), tzw. specyficznego „channelome” tych komórek. Następnym krokiem będzie analiza efektów terapeutycznych in vivo selektywnych blokerów zidentyfikowanych kanałów jonowych, w tym TRPM4, w mysich modelach nowotworowych. Jeśli skuteczność tych blokerów zostanie potwierdzona w modelach mysich, dalszym krokiem będzie zaproponowanie ich zastosowania w ludzkich modelach nowotworów złośliwych, a ostatecznie u pacjentów.

Publikacje:

Yang H, Ma Y, Attout T, Misra N, Hemon P, Dahdah A, Tran T, Bouchet-Delbos L, Berrebi D, Zou W, Fuhlbrigge RC, Taoufik Y, Pallardy M, Bachelier F, Kroemer G, Emilie D, Launay P, Krzysiek R. Targeting TRPM4 ion channel function in Foxp3 Tregs cell unleashes antitumoral immune response in vivo. eLife. (Submitted)



Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

Sprawozdanie z XXXIII Spotkania dydaktyczno-naukowego

W dniu 12 kwietnia 2017 r. odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirsztfelda XXXIII Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu, współfinansowane ze środków Gminy Wrocław.

Przed wykładem Dyrekcja Instytutu i członkowie Komisji spotkali się w Sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą. Dr Roman Krzysiek po studiach na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (1989) pracował w Szpitalu im. K. Dłuskiego pod kierownictwem prof. dr hab. med. Andrzeja Lange, związanego również z naszym Instytutem. Zdobywanie doświadczenia za granicą rozpoczął we Francji, gdzie odbył studia doktoranckie (1996-2000) w dziedzinie Innowacyjnej Terapii na Uniwersytecie Paris Sud XI (PhD, 2000) a następnie staż podoktorski (2000-2003) w INSERM U996 w Clamart. Jako wizytujący naukowiec pracował przez 1,5 roku w Harvard Skin Disease Research Center & Women's Hospital, Harvard Medical School w Bostonie. Po powrocie do Francji, pracował na stanowisku Associate Professor w Szpitalu Hôpital Antoine Beclere w Clamart w INSERM U966. Obecnie, od 2012 pracuje w Szpitalu Hôpital Bicetre, Le Kremlin Bicetre w jednostce U996 LabEx Lermite de l'INSERM w Clamart.

O godzinie 13:00 w Auli im. Stefana Ślopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe. Przewodniczący Komisji, prof. Czesław Radzikowski, uroczystie powitał słuchaczy (ok. 80 osób), wśród których większość stanowili uczniowie i nauczyciele z liceów nr X i XV, ponadto byli obecni studenci, doktoranci oraz pracownicy naukowcy Instytutu. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę naukową i dorobek wykładowcy.

O godzinie 13:10 rozpoczął się wykład pt. „**Kontrola funkcji regulatorowych komórek Tregs Foxp3+ jako cel terapii przeciwnowotworowej**”. Dr Krzysiek rozpoczął swoje wystąpienie podziękowaniami za możliwość zrewanżowania się po latach przekazaniem swojej wiedzy młodym osobom, które są być może dopiero na początku swojej drogi do Nobla. Immunoterapia to strategia leczenia przeciwnowotworowego polegająca na aktywacji układu immunologicznego, który posiada wysoko skuteczne mechanizmy obronności przeciwnowotworowej. Najczęściej wykorzystywanym typem immunoterapii przeciwnowotworowej, mającej na celu zablokowanie funkcji receptorów typu *checkpoint* o charakterze hamującym odpowiedź immunologiczną jest stosowanie swoistych przeciwciał monoklonalnych. Dotychczas opublikowane wyniki badań z wykorzystaniem przeciwciał anty-CTLA-4, anty-PD-1, anty-PD-L1, czy ich kombinacji u chorych na nowotwory w stadium zaawansowanym są bardzo obiecujące i wskazują, że strategia ta może okazać się skuteczna nie tylko w przypadku nowotworów o znanej immunogenności, jak czerniak, rak nerki, niektóre raki płuc, ale również w przypadku nowotworów o niskiej immunogenności (np. część raków płuc). Wg opinii ekspertów, postęp w leczeniu przeciwnowotworowym



Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

zależać będzie od poznania nowych celów dla immunoterapii (immunointerwencji) oraz leczenia kojarzonego z już stosowanymi lekami i strategiami terapeutycznymi. Odrębną, ale także ważną kwestią pozostaje wciąż ograniczona liczba nowotworów kwalifikowanych do tego typu leczenia oraz bardzo wysoki jego koszt, a więc ograniczona dostępność dla większej liczby pacjentów. Wszystkie te argumenty mocno przemawiają za celowością dalszych poszukiwań nowych celów terapeutycznych do wykorzystania w immunoterapii nowotworów.

Wykład był bardzo interesujący, ale ze względu na dość trudny temat młodzież obecna na Sali nie zadawała pytań. Natomiast dyskusję podjęli pracownicy naukowcy Instytutu, kontynuując ją na spotkaniu przy kawie w Sali Konferencyjnej, które trwało do godzin popołudniowych.

W XXXIII spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. prof. J. Boratyński, I. Frydecka, A. Klimczak, K. Prosek, Cz. Radzikowski. Profesorowie: Paweł Kisielow, Jerzy Mozrzyk, Bożena Obmińska-Mrukowicz i Małgorzata Sasiadek usprawiedliwili swoją nieobecność.

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

C. Radzikowski
Przewodniczący KPM PAU

K. Prosek
Sprawozdanie przygotowała:
Katarzyna Prosek

DYREKTORA
ds. Administracyjnych
Dariusz Wójcik

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXIV otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu
27 września 2017 roku

z udziałem Dr Małgorzaty BIEŃKOWSKIEJ - HABA MD, PhD

Department of Microbiology and Immunology Louisiana State University Health Science Center,
Shreveport, USA

Tytuł wykładu:

**„AUTOSTOPEM DO JĄDRA KOMÓRKI – CZYLI MECHANIZM
ZAKAŻENIA WIRUSEM HPV16”**

Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Ślopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



Małgorzata B. Bieńkowska-Haba, PhD – informacja biograficzna

Address: Department of Microbiology and Immunology, Louisiana State University
Health Science Center, 1501 Kings Hwy, Shreveport, Louisiana 71130, USA
email: mbienk@lsuhsc.edu

EDUCATION

- 2004 Ph.D. Biological Sciences,
Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy
of Sciences, Wrocław, Poland
Dissertation: “Nitric Oxide Produced By Pulmonary Leukocytes In Bronchial
Asthma”
Supervisor: Prof. Jerzy Liebhart MD, PhD
- 1997 M.S. Eng. Biotechnology,
Wrocław University of Technology, Faculty of Fundamental Problems
of Technology, Specialty of Biotechnology, Poland
Thesis: “Production of interleukin 6 and nitric oxide in bronchoalveolar
leukocytes from patients with lung diseases”
Supervisor: Monika Cembrzyńska-Nowak, PhD

RESEARCH EXPERIENCE

- 2005 -present Postdoctoral Fellow, Department of Microbiology and Immunology,
Louisiana State University Health Sciences Center, Shreveport, LA,
USA
- 07-11/2005 Research Scientist (Adiunkt), Laboratory of Virology, Dept. of Medical
Immunology, Institute of Immunology and Experimental Therapy,
Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland
- 09/1997 – 06/2005 Research Assistant (Asystent), Laboratory of Virology, Dept.
of Medical Immunology, Institute of Immunology and Experimental
Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

LICENSURE AND CERTIFICATION

- 2003-present member - Laboratory diagnostician at the National Chamber
of Laboratory Diagnosticians (NCLD) no 7994-1564,
<http://www.kidl.org.pl>

PUBLICATIONS

Original Investigations:

1. DiGiuseppe S., Bieńkowska-Haba M., Guion L.G., Keiffer T.R., Sapp M.J. Human papillomavirus major capsid protein L1 remains associated with the incoming viral genome throughout the entry process *J. Virol.* Accepted manuscript posted online 31 May 2017, doi:10.1128/JVI.00537-17
2. Bieńkowska-Haba M., Luszczek W., Keiffer T.R., Guion L.G., DiGiuseppe S., Scott R.S., Sapp M. Incoming human papillomavirus 16 genome is lost in PML protein-deficient HaCaT keratinocytes. *Cell Microbiol.* 2017 May;19(5).

3. DiGiuseppe S., Luszczek W., Keiffer T.R., Bienkowska-Haba M., Guion L.G., Sapp M.J. Incoming human papillomavirus type 16 genome resides in a vesicular compartment throughout mitosis. *PNAS USA* 2016 May 31; 113(22): 6289-6294.
4. DiGiuseppe S., Keiffer T.R., Bienkowska-Haba M., Luszczek W., Guion L.G., Muller M., Sapp M. Topography of the Human Papillomavirus Minor Capsid Protein L2 During Vesicular Trafficking of Infectious Entry. *J Virol.* 2015;89(20):10442-10452.
5. Richards K.F., Mukherjee S., Bienkowska-Haba M., Pang J., Sapp M. Human papillomavirus species-specific interaction with the basement membrane-resident non-heparan sulfate receptor. *Viruses.* 2014 Dec 5; 6(12): 4856-4879.
6. DiGiuseppe S., Bienkowska-Haba M., Hilbig L., Sapp M. The nuclear retention signal of HPV16 L2 protein is essential for incoming viral genome to transverse the trans-Golgi network. *Virology.* 2014 Jun; 458-459: 93-105.
7. Richards K.F., Bienkowska-Haba M., Dasgupta J., Chen X.S., Sapp M. Multiple heparan sulfate binding site engagements are required for the infectious entry of human papillomavirus type 16. *J Virol.* 2013 Nov;87(21):11426-11437.
8. Bienkowska-Haba M., Williams C., Kim S.M., Garcea R.L., Sapp M. Cyclophilins Facilitate Dissociation of the HPV16 Capsid Protein L1 from the L2/DNA Complex Following Virus Entry. *J Virol.* 2012 Sep;86(18):9875-87.
9. Dasgupta J., Bienkowska-Haba M., Ortega M.E., Patel H.D., Bodevin S., Spillmann D., Bishop B., Sapp M., Chen X.S. Structural Basis of Oligosaccharide Receptor Recognition by Human Papillomavirus. *J Biol Chem.* 2011 Jan 28; 286(4): 2617-2624.
10. Chaitanya G.V., Franks S.E., Cromer W., Wells S.R., Bienkowska M., Jennings M.H., Ruddell A., Ando T., Wang Y., Gu Y., Sapp M., Mathis J.M., Jordan P.A., Minagar A., Alexander J.S. Differential cytokine responses in human and mouse lymphatic endothelial cells to cytokines in vitro. *Lymphat Res Biol.* 2010 Sep; 8(3): 155-164.
11. Bienkowska-Haba M., Patel H.D., and Sapp M. Target cell cyclophilins facilitate human papillomavirus type 16 infection. *PLoS Pathog.* 2009 Jul; 5 (7): e1000524.
12. Cembrzyńska-Nowak M., Liebhart J., Bieńkowska-Haba M., Liebhart E., Kulczak A., Siemieniec I., Dobek R., Dor A., Barg W., Panaszek B. The overproduction of nitric oxide associated with neutrophilic predominance is relevant to airway mycotic infections in asthmatics undergoing prolonged glucocorticoid treatment. *Cell Mol Biol Lett.* 2005; 10 (4):677-687.
13. Bieńkowska-Haba M., Liebhart J., Cembrzyńska-Nowak M. Nitric oxide production by pulmonary leukocytes from induced sputum in patients with asthma and its effect on epithelial cell viability. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2006 May-Jun; 54 (3):201-7.
14. Żak-Nejmark T., Kraus-Filarska M., Małolepszy J., Cembrzyńska-Nowak M., Nadobna G., Bieńkowska-Haba M. Rhinoviruses stimulate chemotaxis of peripheral lymphocytes from healthy and asthmatic subjects. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2003; 28, 14-18.
15. Liebhart J., Cembrzyńska-Nowak M., Bieńkowska M., Liebhart E., Dobek R., Zaczyńska E., Panaszek B., Małolepszy J. Relevance of the selected cytokine release (TNF- α , IL-6, IFN- γ and IFN- γ) to the exacerbation of bronchial asthma due to airway mycotic infections. Possible predominant role of IFN- γ ? *J. Invest. Allergology Clin. Immunology,* 2002; 3, 182-191.
16. Bieńkowska-Haba M., Cembrzyńska-Nowak M., Liebhart J., Dobek R., Liebhart E., Siemieniec I., Panaszek B., Obojski A., Małolepszy J. Comparison of leukocyte population from bronchoalveolar lavage and induced sputum in the evaluation of cellular composition and nitric oxide production in patients with bronchial asthma. *Arch. Immunol. Ther. Exp.,* 2002, 50, 75-82.

17. Cembrzyńska-Nowak M., Bieńkowska M., Weryńska B., Dyla T., Jankowska R. Contribution of endotoxins present in respiratory tract to overproduction of nitric oxide associated with impaired interleukin-6 release in bronchoalveolar leukocytes from lung cancer patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2000, 48, 119-125.
18. Lewandowicz-Uszyńska A., Jankowski A., Polańska B., Krukowska K., Cembrzyńska-Nowak M., Bieńkowska M., Inglot A.D. Ocena wybranych parametrów stanu zapalnego u pacjenta chorego na przewlekłą chorobę ziarniniakową. *Pediat. Pol.*, 74, 1-6, 1999 (Polish)
19. Cembrzyńska-Nowak M., Liebhart J., Banaszek B., Dobek R., Bieńkowska M., Szklarz E. TNF- α , IL-6 and IFN- γ secreted by bronchoalveolar leukocytes isolated from patients with bronchial asthma complicated by fungal airways infections. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 1998: 46, 381-386.
20. Cembrzyńska-Nowak M., Bieńkowska M., Szklarz E. Exogenous interleukin-2 regulates interleukin-6 and nitric oxide but not interferon- γ and tumor necrosis factor- α production in bronchoalveolar leukocytes from patients with small cell lung cancer. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 1998: 46, 367-374.

Review Articles:

1. DiGiuseppe S., Bienkowska-Haba M., Guion L.G., Sapp M. Cruising the cellular highways: How human papillomavirus travels from the surface to the nucleus. *Virus Res.* 2017 Mar 2;231: 1-9.
2. DiGiuseppe S., Bienkowska-Haba M., Sapp M. Human Papillomavirus Entry: Hiding in a Bubble. *J Virol.* 2016 Aug 26; 90(18):8032-8035.
3. Bienkowska-Haba M. and Sapp M. The cytoskeleton in papillomavirus infection, *Viruses*, 2011, 3(3):260-271.
4. Sapp M. and Bienkowska-Haba M. Viral entry mechanisms: human papillomavirus and a long journey from extracellular matrix to the nucleus. *FEBS J* 2009 Dec; 276 (24):7206-7216, and *FEBS J*, Virtual Issue: Membrane Trafficking April 2011.
5. Bieńkowska-Haba M. Nitric oxide produced by pulmonary leukocytes in bronchial asthma. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2005; 59: 584-601. (Polish)

SEMINARS

- 10/11/2016 "A New Cell Culture System allows the Analysis of the Complete HPV16 Life Cycle." The 2016 Fall Seminar Series, Feist-Weiller Cancer Center, Shreveport
- 06/01/2011 "Host cell factors in HPV16 entry" 2011 Spring Seminar Series, Department of Microbiology and Immunology, LSU-HSC-S, Shreveport
- 03/27/2003 "Tlenek azotu w lokalnej odpowiedzi zapalnej w astmie oskrzelowej" (Nitric oxide in local immune response during bronchial asthma) 2002/2003 Seminars Series, Institute of Immunology and Experimental Therapy, Wroclaw, Poland
- 12/14/1999 "Tlenek azotu w układzie oddechowym w warunkach fizjologicznych, w zakażeniach i w astmie oskrzelowej." (Nitric oxide in the respiratory track in physiological conditions, during infections, and bronchial asthma) Institute of immunology and Experimental Therapy, 1999/2000 Seminars Series, Poland

Dr n. biol. Małgorzata Bieńkowska-Haba

Streszczenie wykładu

AUTOSTOPEM DO JĄDRA KOMÓRKOWEGO CZYLI MECHANIZMY ZAKAŻENIA WIRUSEM HPV16

Podstawowym celem każdego wirusa jest bezpieczne dostarczenie genomu do miejsca jego replikacji w komórce gospodarza. W przypadku większości wirusów DNA miejscem tym jest jądro komórkowe. Wirusy nie są zdolne poruszać się na własny rachunek i aby to osiągnąć opracowały strategię koni trojańskich. Wykorzystują one liczne komórkowe mechanizmy w celu wniknięcia do komórki, transportu w pęcherzykach, przenikania przez błony, transportu przez cytoplazmę oraz importu do jądra. Około 300-400 białek komórkowych zostaje "oszukanych" aby przeprowadzić wirusa do miejsca, w którym przejmuje on kontrolę nad komórką. Wirusy brodawczaka ewoluowały wraz z gatunkami gospodarza przez miliony lat. Opracowały one odpowiednie strategie, aby nie tylko dostarczyć swój materiał genetyczny do jądra komórkowego, ale również skutecznie uniknąć rozpoznania wirusowego DNA przez system obronny komórki.

Wirusy brodawczaka ludzkiego (ang. Human Papilloma Virus – HPV) należą do rodziny *Papillomaviridae*. Są to małe, bezosłonkowe wirusy z kapsydem o ikozaedralnej symetrii oraz dwuniciowym, kolistym DNA. Wirusy te są gatunkowo specyficzne i wykazują tropizm do komórek nabłonka wielowarstwowego błon śluzowych i skóry gospodarza. Obecnie rodzina *Papillomaviridae* skupia kilkaset gatunków wirusów zakażających ssaki (w tym ponad 200 typów wirusa ludzkiego), ptaki i gady. Zazwyczaj HPV powodują samoograniczające się zmiany i łagodne nowotwory nabłonka płaskiego. Niekiedy jednak, zakażenia mogą wywoływać zmiany prowadzące do rozwoju nowotworów złośliwych, z których najczęstszym jest rak szyjki macicy. W obrębie papillomawirusów istnieją dwie główne grupy o różnym powinowactwie do miejsca zakażenia. Pierwsza, to typy „skórne” czyli wirusy, które mogą powodować różne rodzaje brodawek (kurzajek), takich jak brodawki pospolite, podeszwowe i płaskie, przy czym różne rodzaje brodawek związane są z różnymi szczepami HPV. Druga, to typy wirusów zakażających błony śluzowe okolic narządów płciowych i krtani. Przewlekłe zakażenia niektórymi wirusami z tej właśnie grupy mogą prowadzić do rozwoju nowotworów złośliwych. Obecnie szacuje się, że zakażenia

papillomawirusami odpowiedzialne są za ponad 5% wszystkich nowotworów złośliwych na świecie. Dotychczas zidentyfikowanych zostało kilkanaście typów HPV "wysokiego ryzyka" (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i 68), które mogą powodować tworzenie się zmian złośliwych. Ocenia się, że HPV powoduje 100% przypadków raka szyjki macicy, 90% przypadków raka odbytu i 40% przypadków nowotworów zewnętrznych narządów płciowych (sromu, pochwy i prącia). Typy 16 i 18 uznane są za najbardziej niebezpieczne, gdyż są odpowiedzialne za aż około 70% przypadków raka szyjki macicy. Aktualnie obserwowany jest również wzrost liczby nowotworów jamy ustnej i gardła spowodowanych zakażeniem HPV. Pozostałe typy wirusa atakujące narządy płciowe człowieka określane są jako typy o niskim ryzyku onkogennym (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 72, 73 i 81), bądź o nieznaney wysokości ryzyka. Wirusy te mogą powodować powstawanie brodawek narządów płciowych. Najczęściej występujące typy HPV6 i 11, odpowiedzialne są za około 90 procent brodawek narządów rodnych.

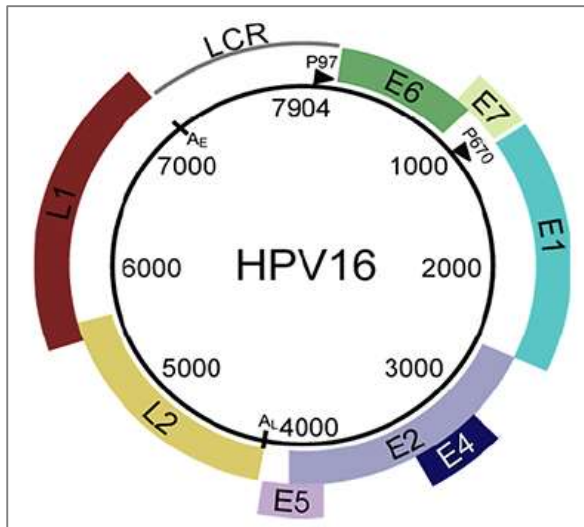
Szczepionki

Szczepionki przeciwko HPV zostały wprowadzone w 2006 roku i są przeznaczone do stosowania zarówno u dziewcząt/młodych kobiet jak również chłopców/młodych mężczyzn. Najnowsza szczepionka (Gardasil 9) skierowana jest przeciwko dziewięciu typom HPV. Może (i powinna) być stosowana jako ochrona przed zmianami przednowotworowymi i nowotworami narządów płciowych i odbytu (HPV16, 18, 31, 33, 45, 52, 58) oraz brodawkami narządów płciowych (HPV 6, 11).

Budowa wirionu i organizacja genomu HPV16

Wirion papillomawirusów ma średnicę około 55 nm. Kapsyd HPV 16 składa się z 360 kopii głównego białka kapsydu L1 i maksymalnie do 72 kopii mniejszego białka kapsydu L2. Białka L1 zorganizowane są w 72 pentamery (tzw. kapsomery) i pośredniczą w początkowym przyłączeniu wirusa do receptorów. Białko L2, które głównie ukryte jest w kapsydie, wymagane jest przede wszystkim do późniejszych etapów infekcji. Kapsyd chroni genom wirusa, którym jest kolistą cząsteczką dwuniciowego DNA (w przybliżeniu 8000 par zasad), zorganizowaną w strukturę podobną do chromatyny. Genom papillomawirusa można ogólnie podzielić na trzy główne regiony. Wczesny region składa się z genów odpowiedzialnych za transkrypcję i replikację wirusa oraz transformację nowotworową komórek gospodarza. Region późny koduje białka kapsydu, a długi region kontrolny zawiera elementy regulujące transkrypcję i replikację (LCR lub region niekodujący [NCR]). Przyjmuje

się, że podczas całego cyklu życiowego papillomawirusa w komórkach gospodarza produkowanych jest co najmniej 8 białek niestrukturalnych i dwa białka kapsydu.



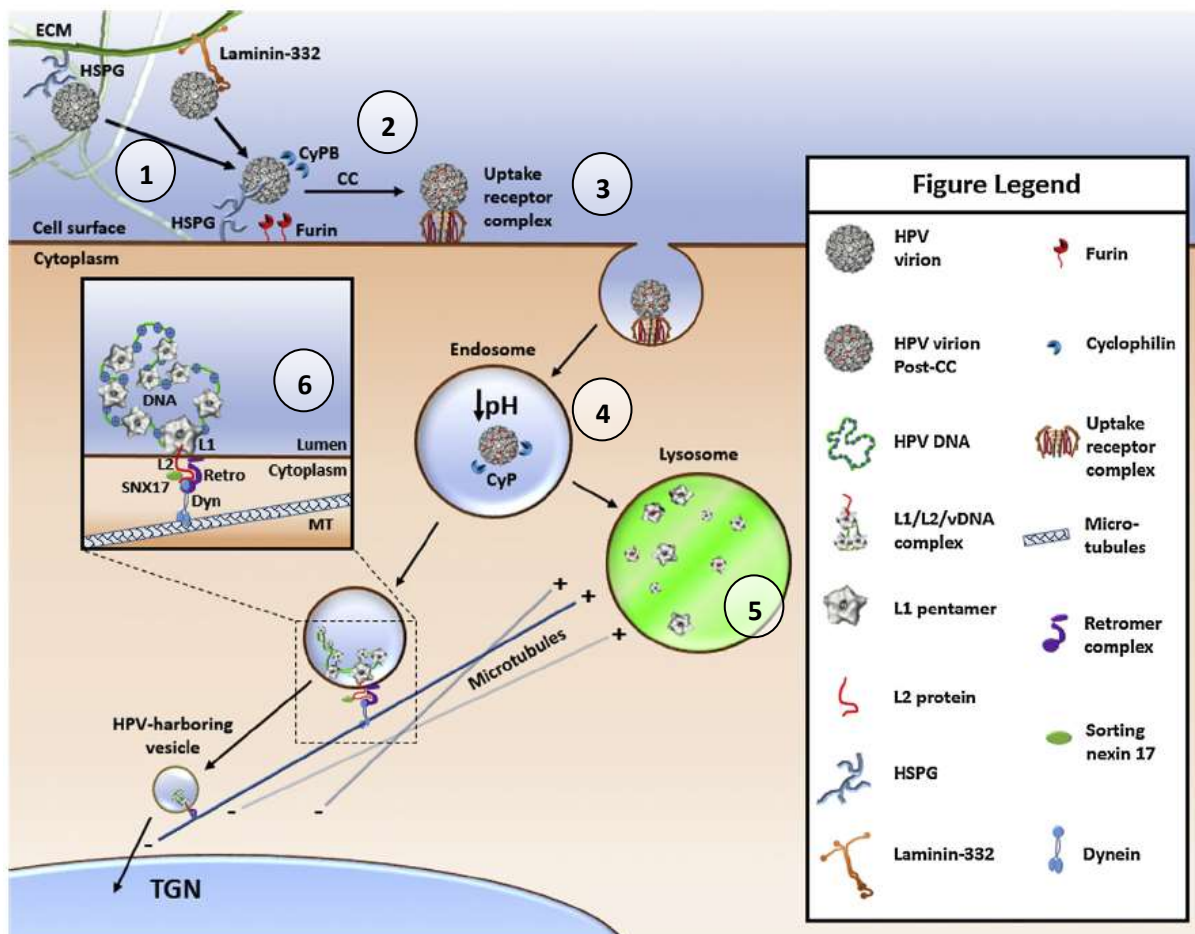
Ryc. 1. Schemat genomu wirusa HPV16.

LCR – długi region regulatorowy, E1-E7 – otwarte ramki odczytu kodujące białka wczesne wirusa, L1-L2 – otwarte ramki odczytu kodujące białka późne wirusa, AL – późne miejsca poliadenylacji, AE – wczesne miejsca poliadenylacji, P97 – wczesny promotor, P670 – późny promotor; numery zawarte w wewnętrznym okręgu wskazują pozycję nukleotydów

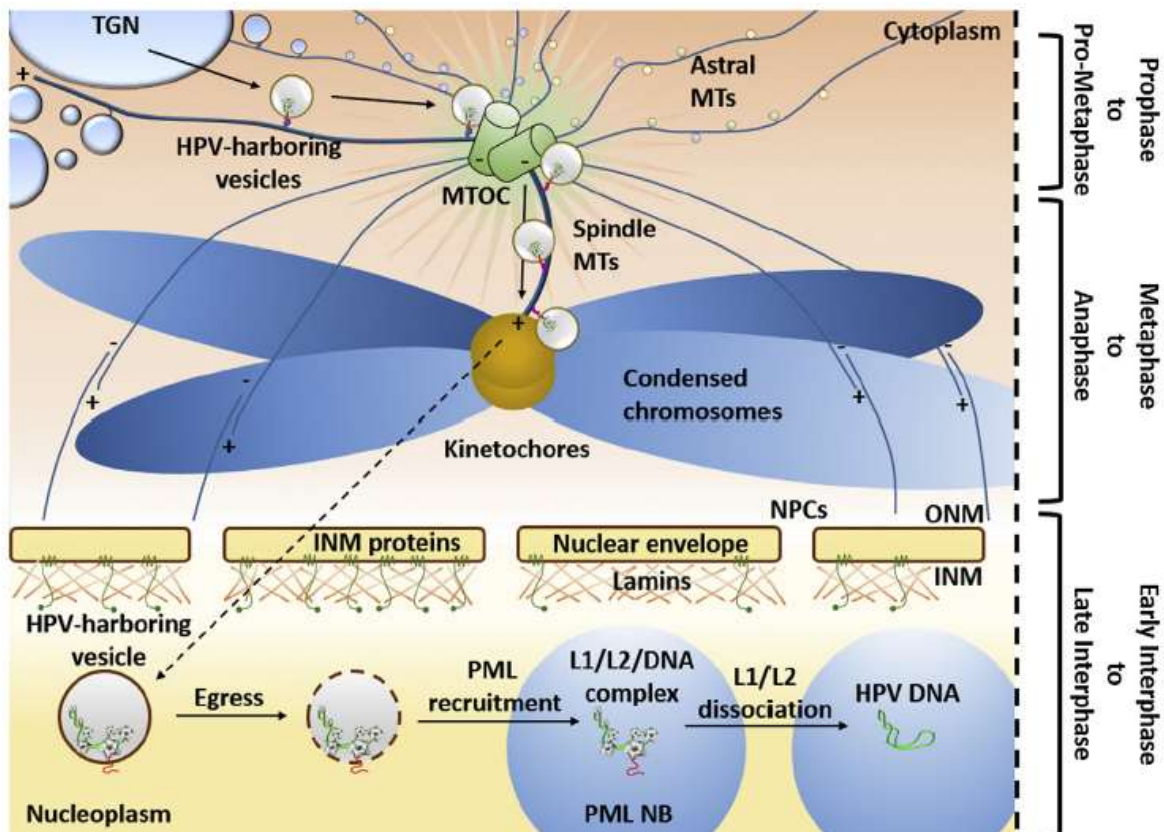
Cykl życiowy HPV

Cykl życiowy HPV jest ściśle związany z różnicowaniem nabłonka. Ludzkie wirusy brodawczaka zakażają keratynocyty w warstwie podstawowej nabłonka, po jej wyeksponowaniu w wyniku mikrourazów. Po dostarczeniu wirusowego DNA do jądra komórkowego, dochodzi do początkowej amplifikacji genomu wirusa. Infekcja rozprzestrzenia się podczas podziałów komórkowych, którym towarzyszy powstawanie niewielkiej liczby kopii genomu wirusowego. W komórkach niezróżnicowanych ekspresja wczesnych białek wirusowych jest bardzo niska. Natomiast proces różnicowania zakażonych keratynocytów uruchamia wzmożoną ekspresję białek wirusa, co prowadzi do intensywnej amplifikacji jego genomu i ekspresji genów strukturalnych. Cykl produktywny wirusa kończy się upakowaniem wirusowego DNA do kapsydów wirionów potomnych w górnych warstwach nabłonka. Nowo powstałe wirusy uwalniane są z końcowo zróżnicowanych keratynocytów warstwy zrogowaciałej.

Przyłączenie wirionów HPV16 do komórki oraz poszczególne etapy transportu wewnątrzkomórkowego podczas zakażenia, które są głównym tematem wykładu, zostały przedstawione poniżej, w formie graficznej.



Ryc. 2. Wczesne etapy zakażenia komórki wirusem HPV16 - od wiązania wirusa do receptorów do transportu do bieguna trans aparatu Golgiego. 1) Wiriony HPV przyłączają się do proteoglikanów siarczanu heparanu (HSPGs) lub lamininy-332 obecnych na pozakomórkowej macierzy (ECM). Na powierzchni komórki wiriony wiążą się bezpośrednio do HSPG. 2) Związanie z receptorami uruchamia zmiany w konformacji (CC) obu białek kapsydu: L1 i L2. Cyklofilina B (CyPB) ułatwia odsłonięcie końca aminowego L2 i konwertaza furynowa odcina 12 aminokwasów od N-końca tego białka. 3) Wiriony HPV przyłączają się do receptora wychytującego i wraz z nim są internalizowane do wnętrza komórki. 4) Proces odpłaszczenia kapsydu wirusa jest zapoczątkowany w endosomie, a obecne w pęcherzykach cyklofiliny ułatwiają odseparowanie od siebie białek L1 i L2. 5) Większość białek L1 jest skierowana do lizosomów, gdzie zostają strawione. 6) Niewielka ilość kopii L1 pozostaje związana w kompleks z L2 i genomem wirusa. Znaczna część białka L2 penetruje wewnątrzkomórkowe błony i wchodzi w interakcje z czynnikami wymaganymi do transportu do bieguna trans aparatu Golgiego (TGN) (na podstawie DiGiuseppe et al, Virus Res. 2017).



Ryc. 3. Transport wewnątrzkomórkowy HPV podczas mitozy. Po rozpoczęciu procesu mitozy (profaza - pro-metafaza) pęcherzyki transportujące zawierające HPV16 odłączają się od bieguna trans aparatu Golgiego (TGN) i przemieszczają się wzdłuż mikrotubul (MTs), a następnie gromadzą się w sąsiedztwie centrosomu (MTOC). W późniejszych etapach mitozy (metafaza – anafaza) pęcherzyki z HPV16 przemieszczają się wzdłuż wrzeciona podziałowego mikrotubuli i pozostają w sąsiedztwie skondensowanych chromosomów komórki do zakończenia podziału. W tym czasie oba białka kapsydu pozostają w kompleksie z wirusowym DNA. Po zakończeniu mitozy, kiedy błona jądrowa zostaje odbudowana (wczesna- późna interfaza), DNA wirusa jest uwalnianie z pęcherzyków. Białka kapsydu odłączają się od siebie i genom wirusa łączy się z ciałkami PML (PML NBs). Przypisy nie opisane w tekście: błona jądrowa zewnętrzna (ONM); błona jądrowa wewnętrzna (INM); pory jądrowe (NPCs); (na podstawie DiGiuseppe et al, Virus Res. 2017)

Dokładne poznanie mechanizmów zakażenia wirusem HPV ma nie tylko istotne znaczenie w rozwoju profilaktyki i terapii chorób wywołanych przez te wirusy, ale może również stanowić cenne źródło wiedzy na temat biologii komórek gospodarza. Badania interakcji wirusa HPV z czynnikami komórkowymi pozwoliły zrozumieć m.in. mechanizmy regulujące cykl komórkowy a także doprowadziły do odkrycia nowego rodzaju endocytozy. Kontynuacja badań wyjaśniających w jaki sposób wirusy brodawczaka manipulują komórkami gospodarza może umożliwić odkrycie nowych, niescharakteryzowanych dotychczas procesów komórkowych.

Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

Sprawozdanie z XXXIV Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 27 września 2017 r. odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXXIV Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu, współfinansowane ze środków Gminy Wrocław.

Przed wykładem Dyrekcja Instytutu i członkowie Komisji spotkali się w Sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą, dr Małgorzatą Bieńkowską-Habą, która jako absolwentka Wydziału Biotechnologii Politechniki Wrocławskiej rozpoczęła pracę w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN i po obronie rozprawy doktorskiej w 2004 roku wyjechała do Louisiana State University Health Sciences Center (Shreveport, LA, USA), gdzie pracuje do chwili obecnej jako Postdoctoral Fellow.

O godzinie 13:00 w Auli im. Stefana Śłopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący Komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczyste powitał słuchaczy (ok. 90 osób), wśród których większość stanowili uczniowie i nauczyciele z liceów nr X i XV. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę naukową i dorobek wykładowcy.

O godzinie 13:10 rozpoczął się wykład pt. „**Autostopem do jądra komórki – czyli mechanizm zakażeń wirusem HPV16**”. Dr Bieńkowska-Haba przedstawiła podział wirusów brodawczaka ludzkiego. Obecnie rodzina *Papillomaviridae* skupia kilkaset gatunków wirusów zakażających ssaki (w tym ponad 200 typów wirusa ludzkiego), ptaki i gady. zakażenia mogą wywoływać zmiany prowadzące do rozwoju nowotworów złośliwych, z których najczęstszym jest rak szyjki macicy. Ocenia się, że HPV powoduje 100% przypadków raka szyjki macicy, 90% przypadków raka odbytu i 40% przypadków nowotworów zewnętrznych narządów płciowych (sromu, pochwy i prącia). Aktualnie obserwowany jest również wzrost liczby nowotworów jamy ustnej i gardła spowodowanych zakażeniem HPV.

Szczepionki przeciwko HPV zostały wprowadzone w 2006 roku i są przeznaczone do stosowania zarówno u dziewcząt/młodych kobiet jak również chłopców/młodych mężczyzn. Najnowsza szczepionka (Gardasil 9) skierowana jest przeciwko dziewięciu typom HPV.

Prof. Czesław Radzikowski podziękował za ciekawy wykład, zapraszając do dyskusji. Tematyka okazała się interesująca, czego dowodem była ożywiona dyskusja i liczne pytania słuchaczy.

Po wykładzie kontynuowano dyskusję na spotkaniu przy kawie w Sali Konferencyjnej.

W XXXIV spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. prof. J. Boratyński, A. Klimczak, E. Piasecki, K. Prosek, Cz. Radzikowski. Profesorowie: Paweł Kisielow i Waław Sokalski, usprawiedliwili swoją nieobecność.

Sprawozdanie przygotowała:

Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Przewodniczący KPM PAU

Sekretarz KPM PAU

z a p r o s z e n i e

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXV otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu
18 października 2017 roku

z udziałem Prof. dr Grzegorza BUŁAJA PhD

Department of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, University of Utah, USA

Tytuł wykładu:

**“LECZENIE CHOROÓB NEUROLOGICZNYCH W OPARCIU
O NEUROPEPTYDY ORAZ TERAPIE ŁĄCZONE
Z OPROGRAMOWANIEM KOMPUTEROWYM”**

Spotkanie odbędzie się
o godz. 13.00, w Sali im. Stefana Ślopka w Instytucie Immunologii
i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu,
ul. Rudolfa Weigla 12.

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski
Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU



BIOGRAPHICAL SKETCH

NAME Grzegorz Bulaj	POSITION TITLE Associate Professor of Medicinal Chemistry		
eRA COMMONS USER NAME GREGBULAJ			
EDUCATION/TRAINING <i>(Begin with baccalaureate or other initial professional education, such as nursing, and include postdoctoral training.)</i>			
INSTITUTION AND LOCATION	DEGREE <i>(if applicable)</i>	YEAR(s)	FIELD OF STUDY
University of Wroclaw, Poland	M.Sc.	1989	Biochemistry
University of Wroclaw, Poland	Ph.D.	1993	Biophysical Chemistry

A. Personal statement

My research is focused on integrating pharmacological and behavioral therapies for chronic diseases by combining pharmaceutical drugs and digital medicine (mobile medical apps and therapeutic video games). Advancing this new paradigm has been enabled by the US Food and Drug Administration (FDA) clearing mobile medical apps and video games via software as medical device (SaMD) mechanism. Digital medicine comprises digital health, mobile health (mHealth), telemedicine, and is a relatively new term describing applications of mobile software, internet and wearables for medical and health purposes. SaMD has opened new opportunities for drug-device combination products consisting of pharmaceutical drugs and matching mobile apps and video games delivering disease-specific self-management and self-care.

One example of my research project is development of the mobile video game therapy for pediatric oncology patients undergoing the chemotherapy (feasibility clinical trial is ongoing). Other two examples are: (1) development of mobile software as adjunct medical treatment for epilepsy patients, and (2) music streaming as adjunct therapy for depression. All these projects are leading toward the FDA regulatory clearance for these technologies, so they may be prescribed by doctors and reimbursed by healthcare insurance companies. My long-term goal is to combine digital medicine, precision medicine and prescription medications, yielding new therapies for epilepsy, pain, depression, cancer and other chronic medical conditions.

With 17 years of experience in preclinical and clinical development of drug-based therapies, entrepreneurship activities, I greatly appreciate an opportunity to advance preclinical studies related to digital medicine using neuroactive enriched environment (described in this grant proposal). My research is cross-disciplinary and highly collaborative, in which medicine, art, software engineering, legal (IP), regulatory, educational, behavioral therapy and all translational components are of equal importance.

My research in digital medicine is coupled with public service via entrepreneurial and educational activities. I co-founded a start-up company Epicadence, Public Benefit Corporation, focused on commercializing mobile software as treatment of seizures in epilepsy patients. Recently, I launched an educational website UpMusic.net to increase public awareness about digital medicine technologies.

B. Positions and Honors

Positions and Employment

1991-1992	Research Associate, Paul-Ehrlich-Institute, Frankfurt/Main, Germany
1993	Short-Term Fellow, Basel Institute for Immunology, Basel, Switzerland
1993-1994	Research and Teaching Asst., Institute of Biochemistry, Univ. of Wroclaw, Poland
1994	Research and Teaching Adjunct, Institute of Biochemistry and Molecular Biology, University of Wroclaw, Poland
1994-1998	Postdoctoral Fellow, Department of Biology, University of Utah

1998 - Present	Research Assistant Professor, Department of Biology, University of Utah
1999 - 2000	Consultant, Cognetix, Inc., Salt Lake City, Utah
2000 - 2002	Senior Research Scientist, Cognetix, Inc., Salt Lake City, Utah
2002 - 2005	Director, Peptide Chemistry, Cognetix, Inc., Salt Lake City, Utah
2006 - 2010	Assistant Professor, Department of Medicinal Chemistry, University of Utah
2010- Present	Associate Professor, Department of Medicinal Chemistry, University of Utah

C. Contribution to Science

1. My earlier research on discovering and engineering marine peptide natural products resulted in two major contributions: new oxidative folding methods and creating a novel group of disulfide-rich and analgesic peptides containing unique backbone modifications. Steiner et al (2012) describes an original idea and successful examples of forming bioactive conformation of disulfide-rich peptides without reagents. Green et al (2007) describes an original idea of engineering backbone prosthesis in bioactive natural products, leading to improved analgesic activities in an animal model of inflammatory pain.

Steiner AM, Woycechowsky KJ, Olivera BM, Bulaj G (2012) Reagentless Oxidative Folding of Disulfide-Rich Peptides Catalyzed by an Intramolecular Diselenide. *Angew Chem Int Ed Engl*, 51, 5580-4.

Green BR, Catlin P, Zhang MM, Fiedler B, Bayudan W, Morrison A, Norton RS, Smith BJ, Yoshikami D, Olivera BM, Bulaj G (2007) Conotoxins containing nonnatural backbone spacers: cladistic-based design, chemical synthesis, and improved analgesic activity. *Chem Biol*. 14: 399-407.

2. I have developed a new research and development (R&D) program on engineering anticonvulsant analogs to cross the blood-brain barrier. This project resulted in several successful funding applications including the NIH R21 and U01 grants for which I served as PI and Co-PI. This research yielded one issued US patent and a first-in-class drug lead for refractory epilepsy, currently in preclinical IND-enabling studies. Bulaj et al (2008) described an original idea of improving bioavailability of neuropeptide analogs to cross the blood-brain barrier (BBB). Zhang et al (2013) describes an original idea of engineering first-in-class analgesic compounds that do not penetrate the CNS and are active in the inflammatory pain models. This research was recently recognize by the Department of Defense by awarding the grant to advance preclinical studies of these new analgesic drug candidates. Green et al (2011) describes an original idea of repurposing neuropeptides to discover new antiepileptic drug candidates.

Bulaj G, Green BR, Lee HK, Robertson CR, White K, Zhang L, Sochanska M, Flynn SP, Adkins Scholl E, Pruess TH, Smith MD, White HS (2008) Design, Synthesis and Characterization of High-Affinity, Systemically-Active Galanin Analogs with Potent Anticonvulsant Activities, *J Med Chem*, 51, 8038-47.

Green BR, Smith M, White K, White HS, Bulaj G (2011) Analgesic Neuropeptide W Suppresses Seizures in the Brain Revealed by Rational Repositioning and Peptide Engineering, *ACS Chem Neurosci*, 2, 51-56.

Zhang L, Klein BD, Metcalf CS, Smith MD, McDougale DR, Lee HK, White HS, Bulaj G (2013) Incorporation of monodisperse oligoethyleneglycol amino acids into anticonvulsant analogues of galanin and neuropeptide y provides peripherally acting analgesics. *Mol Pharm*. 10:574-85.

Metcalf CS, Smith MD, Klein BD, McDougale DR, Zhang L, Bulaj G (2017) Preclinical Analgesic and Safety Evaluation of the GalR2-preferring Analog, NAX 810-2. *Neurochem Res*. 42: 1983-1994

3. My latest contribution to science is creating and advancing a concept of molecular-behavioral combination therapies for chronic diseases delivered via drug-device combination products. This strategy involves design and creation of mobile medical software (apps and games) to be integrated
-

with specific pharmaceutical drugs, described in a reference below Bulaj (2014). The inspiration for this paradigm came as a direct result of the collaborative project with Prof. Bruggers when developing the Patient Empowerment exercise video game for cancer patients. The clinical application of mobile games to empower patients by engaging them with physical exercises received additional support in 2014 when the FDA cleared two video games as medical devices for neurorehabilitation, This breakthrough has opened a possibility that our exercise-empowerment mobile game therapy can also become a medical device in the future, and can serve as add-on treatment with and after the chemotherapy. These opportunities are described in Bruggers et al (2012) and Govender et al (2015). Over the past two years, I have also been developing mobile app based therapy for the treatment of seizures in epilepsy patients: this collaborative project together with Professors Pegah Afra (Department of Neurology), Carol Bruggers (Department of Pediatrics) and Matt Sweney (Department of Pediatrics and Neurology) from the University of Utah. We just finished a survey-based clinical study with epilepsy patients and the manuscript will be submitted soon.

Bruggers CS, Altizer RA, Kessler RR, Caldwell CB, Coppersmith K, Warner L, Davies B, Paterson W, Wilcken J, D'Ambrosio TA, German ML, Hanson GR, Gershan LA, Korenberg JR, Bulaj G (2012) Patient-empowerment interactive technologies. *Sci Transl Med.* 4(152):152ps16.

Govender M, Bowen RC, German ML, Bulaj G, Bruggers CS (2015) Clinical and Neurobiological Perspectives of Empowering Pediatric Cancer Patients Using Videogames. *Games Health J.* 4: 362-374.

Bulaj G (2014) Combining non-pharmacological treatments with pharmacotherapies for neurological disorders: a unique interface of the brain, drug-device, and intellectual property. *Front Neurol.* 5:126.

Schriewer K and Bulaj G (2016) Music Streaming Services as Adjunct Therapies for Depression, Anxiety and Bipolar Symptoms: Convergence of Digital Technologies, Mobile Apps, Emotions, and Global Mental Health. *Front Public Health.* 4: 217.

Bulaj G, Ahern MM, Kuhn A, Judkins ZS, Bowen RC, Chen Y (2016) Incorporating Natural Products, Pharmaceutical Drugs, Self-care and Digital/Mobile Health Technologies into Molecular-Behavioral Combination Therapies for Chronic Diseases. *Current Clinical Pharmacology*, 11:128-45

Complete List of Published Work in MyBibliography:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/myncbi/browse/collection/49350580/?sort=date&direction=descending>

D. Research Support

Ongoing Research Support

W81XWH-15-1-0380 (White, H.S. PI) 09/30/2015 – 08/31/2017
Department of Defense, Novel Systemically-Active Galanin Analogs for the Treatment of Pain
Role: Co-PI

P01 GM48677 (Olivera, B.M., Program Director) 7/1/2014 – 6/30/2019
NIH/NIGMS, in Project III: "Conopeptides that target voltage-gated sodium channels"
Discovery of conopeptides blocking sodium channels.
Role: Co-Investigator

Completed Research Support

U01 NS066991 (White, H.S. Principal Investigator) 9/1/2010-8/31/2015

NIH/NINDS, Development of a galanin-based therapy for the treatment of refractory epilepsy

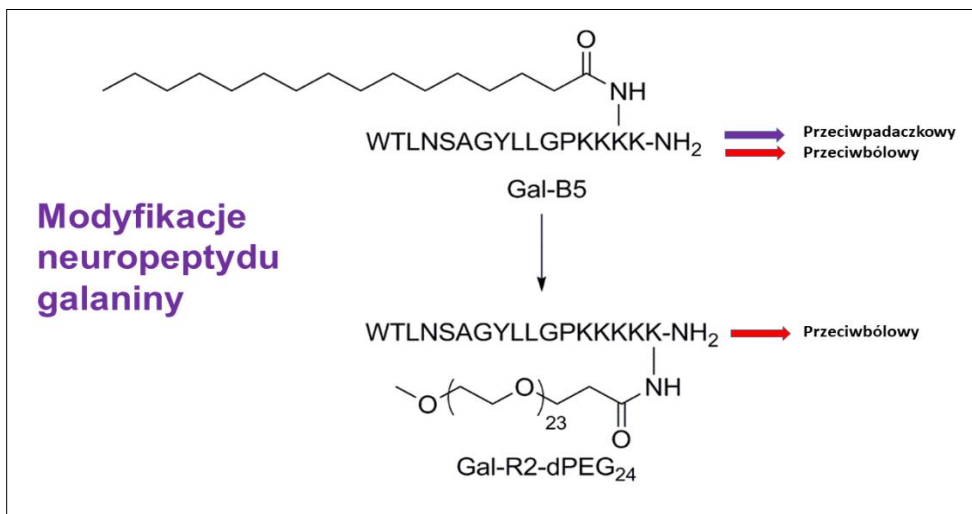
The major goal of this project was a preclinical development of galanin-based analogs as antiepileptic drugs.

Role: Co-PI

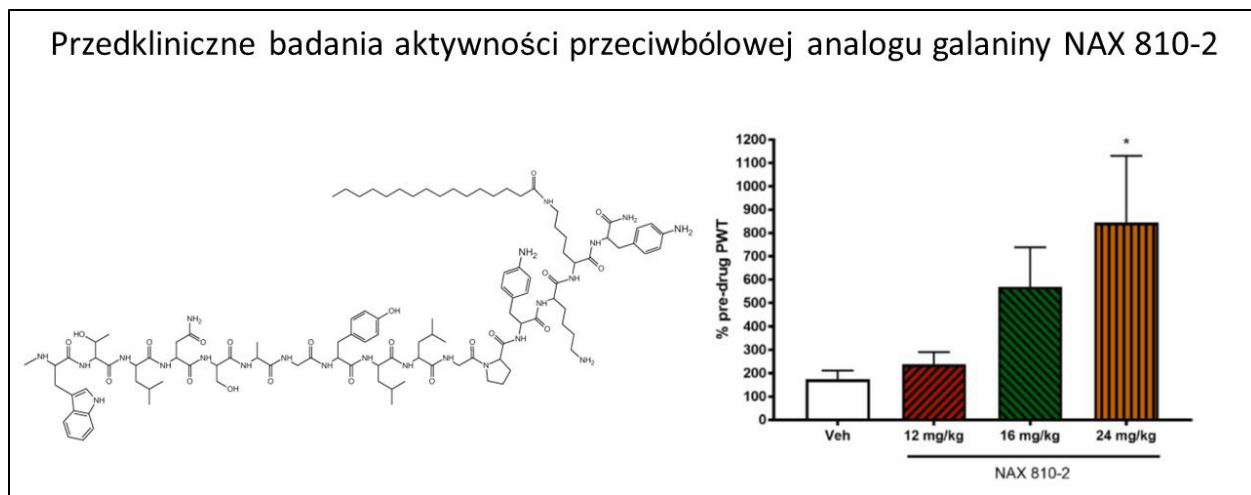
LECZENIE CHOROÓB NEUROLOGICZNYCH W OPARCIU O NEUROPEPTYDY ORAZ TERAPIE ŁĄCZONE Z OPROGRAMOWANIEM KOMPUTEROWYM

Padaczka oraz ból neuropatyczny należą do grupy przewlekłych chorób neurologicznych, których leczenie wymaga zastosowania długotrwałej terapii farmakologicznej. Istnieje ogromna potrzeba poszukiwań nowych oraz ulepszonych leków przeciwpadaczkowych i przeciwbólowych, gdyż te obecnie stosowane powodują różnego rodzaju skutki uboczne i dla wielu pacjentów nie są wystarczająco skuteczne. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), na świecie żyje około 50-60 milionów ludzi chorych na padaczkę. Ponadto statystyki podają, że około 1,5 miliarda ludzi cierpi na bóle chroniczne. Dlatego celem prowadzonych przez nas badań jest rozwój nowych terapii przeciwpadaczkowych i łagodzących ból neuropatyczny, w oparciu o projektowanie, syntezę chemiczną i badania biologiczne analogów różnych neuropeptydów oraz zastosowanie odpowiedniego oprogramowanie komputerowego.

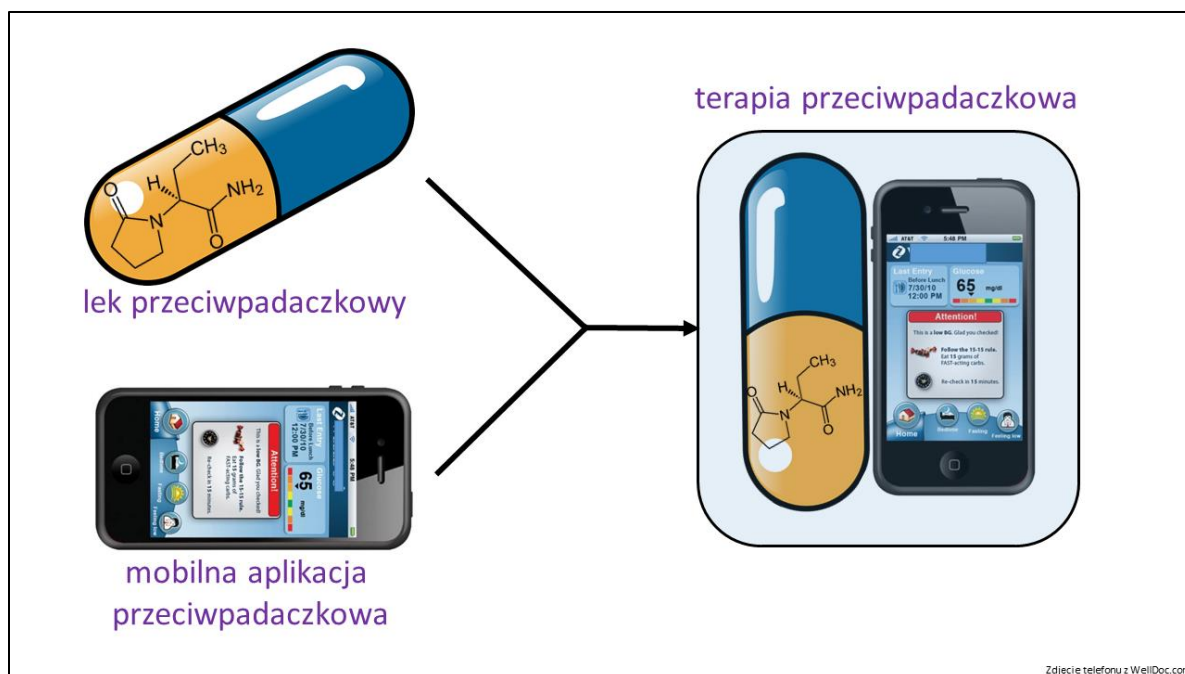
Jedną z wielu poznanych ról neuropeptydów jest ich udział w regulacji (prawidłowym funkcjonowaniu) funkcji komórek centralnego i obwodowego układu nerwowego. Galanina, neuropeptyd Y oraz neurotensyna są przykładami neuropeptydów endogennych, wykazujących aktywność przeciwbólową i przeciwpadaczkową. Poza wymienionymi endogennymi neuropeptydami, niektóre peptydy wyodrębnione z jadu ślimaków morskich, tzw. konotoksyny, również wykazują właściwości przeciwbólowe poprzez wybiórcze oddziaływanie ze specyficznymi kanałami jonowymi i receptorami. Prowadzone przez nas badania skupiają się na inżynierii peptydowej (projektowaniu analogów różnych peptydów) i polegają na przekształceniu neuroaktywnych peptydów w związki o działaniu leczniczym o poprawionej stabilności (wydłużonym okresie półtrwania w surowicy krwi) oraz selektywności w stosunku do odpowiednich receptorów¹.



Przykładami modyfikowanych konotoksyn są: analog konotoksyny SIIIA blokujący kanały sodowe ² i posiadający właściwości przeciwbólowe oraz analog Contulakin-G aktywujący receptory neurotensyny ³. Ponadto wstępne badania modyfikowanego neuropeptydu galaniny wykazały, że przeciwbólowy i przeciwpadaczkowy analog NAX-5055 wykazywał zwiększoną stabilność i przenikalność bariery krew-mózg ⁴⁻⁶. Kolejne badania dotyczące optymalizacji związku NAX-5055 poprawiły wybiórczość działania, właściwości toksyczne oraz stabilność analogów galaniny ^{7,8}. Przedkliniczne badania analogu galaniny, NAX 810-2, wykazują jego aktywność przeciwpadaczkową i przeciwbólową oraz korzystny profil toksyczności ^{9,10}. Aby przekształcić analogi galaniny w związki o działaniu przeciwbólowym, które nie posiadają zdolności przenikania przez barierę krew-mózg (ang. blood-brain barrier), zaprojektowaliśmy pochodne z udziałem monodispersyjnego glikolu polietylenowego (PEG) ^{11,12}. Wykorzystaliśmy również innowacyjne strategie przekształcania neuropeptydów Y i W oraz neurotensyny w związki wykazujące potencjalne zastosowanie jako terapeutyki ¹³⁻¹⁵.



W celu dalszej optymalizacji terapii przeciwpadaczkowej, prowadzimy badania nad kojarzeniem stosowanych leków z oprogramowaniem komputerowym (medycznymi mobilnymi aplikacjami). Prowadzone badania kliniczne oraz specjalne przepisy obowiązujące w Stanach Zjednoczonych dały nam możliwość otrzymania atestu z Agencji Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration, FDA) obejmującego medyczne wykorzystanie aplikacji mobilnych oraz gier komputerowych (ang. software as a medical device). Nasze dwa projekty dotyczące rozwoju nowych terapii z udziałem leków i oprogramowania komputerowego, to połączenie chemioterapii z mobilną grą komputerową, które można wykorzystać u dzieci chorych na białaczkę i nowotwory mózgu ^{16,17}, oraz połączenie leków przeciwpadaczkowych z mobilnymi aplikacjami ^{18,19}.



We współpracy z neurologami i farmakologami z Uniwersytetu w Utah, prowadzimy badania przedkliniczne i kliniczne związane z opracowaniem medycznej mobilnej aplikacji, mającej za zadanie zmniejszenie częstości występowania i zapobieganie atakom padaczki. Prototyp mobilnej aplikacji został odpowiednio przygotowany i zawiera elementy stymulacji dźwiękowej oraz terapii poznawczo-behawioralnej. Naszym celem jest powiązanie leczenia farmakologicznego i oprogramowania komputerowego, w ramach istniejącego mechanizmu ang. „drug-device combination product” „połączenie leku z urządzeniem medycznym”, tak aby był przepisywany na receptę jako „łączona terapia” przeciwpadaczkowa. Pracujemy również nad integracją leków przeciwdepresyjnych i mobilnych aplikacji ²⁰.

Seminarium będzie zawierać opis naszych projektów dotyczących neuropeptydów, które obecnie poddawane są badaniom przedklinicznym jako prototypy leków przeciwbólowych i przeciwpadaczkowych oraz integracji oprogramowania komputerowego z lekami. Mam nadzieję, że wykład zainspiruje do poszukiwań innowacyjnych pomysłów słuchaczy, którzy zajmują się badaniami i rozwojem nowych programów terapii przewlekłych chorób neurologicznych.

Odnosniki literaturowe

1. Robertson C.R., Flynn S.P., White H.S., Bulaj G. Anticonvulsant neuropeptides as drug leads for neurological diseases. *Nat Prod Rep* **2011**, *28*, 741-762.
2. Green B.R.; Catlin P.; Zhang M.M.; Fiedler B.; Bayudan W.; Morrison A.; Norton R.S., Smith B.J., Yoshikami D.; Olivera B.M.; Bulaj G. Conotoxins containing nonnatural backbone spacers: cladistic-based design, chemical synthesis, and improved analgesic activity. *Chem Biol* **2007**, *14*, 399-407.
3. Lee H.K.; Zhang L.; Smith M.D.; Walewska A.; Vellore N.A.; Baron R.; McIntosh JM.; White H.S.; Olivera B.M.; Bulaj G. A marine analgesic peptide, Contulakin-G, and neurotensin are distinct agonists for neurotensin receptors: uncovering structural determinants of desensitization properties. *Front Pharmacol* **2015**, *6*, 11.
4. Bulaj G.; Green, B.R.; Lee H.K.; Robertson C.R.; White K.; Zhang L.; Sochanska M.; Flynn S.P.; Scholl E.A.; Pruess T.H.; Smith M.D.; White H.S. Design, synthesis, and characterization of high-affinity, systemically-active galanin analogues with potent anticonvulsant activities. *J Med Chem* **2008**, *51*, 8038-8047.
5. Zhang L.; Lee H.K.; Pruess T.H.; White H.S.; Bulaj G. Synthesis and applications of polyamine amino acid residues: improving the bioactivity of an analgesic neuropeptide, neurotensin. *J Med Chem* **2009**, *52*, 1514-1517
6. Zhang L.; Robertson C.R.; Green B.R.; Pruess T.H.; White H.S.; Bulaj G. Structural requirements for a lipoamino acid in modulating the anticonvulsant activities of systemically active galanin analogues. *J Med Chem* **2009**, *52*, 1310-1316.
7. Robertson C.R.; Pruess T.H.; Grussendorf E.; White H.S.; Bulaj G. Generating orally active galanin analogues with analgesic activities. *ChemMedChem* **2012**, *7*, 903-909.
8. Robertson C.R.; Scholl E.A.; Pruess T.H.; Green B.R.; White H.S.; Bulaj G. Engineering galanin analogues that discriminate between GalR1 and GalR2 receptor subtypes and exhibit anticonvulsant activity following systemic delivery. *J Med Chem* **2010**, *53*, 1871-1875.
9. Metcalf, C. S.; Klein, B. D.; McDougle, D. R.; Zhang, L.; Kaufmann, D.; Bulaj, G.; White, H. S. Preclinical evaluation of intravenous NAX 810-2, a novel GalR2-preferring analog, for anticonvulsant efficacy and pharmacokinetics. *Epilepsia* **2017**, *58*, 239-246.
10. Metcalf, C. S.; Smith, M. D.; Klein, B. D.; McDougle, D. R.; Zhang, L.; Bulaj, G. Preclinical Analgesic and Safety Evaluation of the GalR2-preferring Analog, NAX 810-2. *Neurochem Res* **2017**, *42*, 1983-1994.
11. Zhang, L.; Klein, B. D.; Metcalf, C. S.; Smith, M. D.; McDougle, D. R.; Lee, H. K.; White, H. S.; Bulaj, G. Incorporation of monodisperse oligoethyleneglycol amino acids into anticonvulsant analogues of galanin and neuropeptide y provides peripherally acting analgesics. *Mol Pharm* **2013**, *10*, 574-585.
12. Metcalf C.S.; Klein B.D.; McDougle D.R.; Zhang L.; Smith M.D.; Bulaj G.; White H.S. Analgesic properties of a peripherally acting and GalR2 receptor-preferring galanin analog in inflammatory, neuropathic, and acute pain models. *J Pharmacol Exp Ther* **2015**, *352*, 185-193.
13. Green B.R.; Klein B.D.; Lee H.K.; Smith M.D.; White H.; Bulaj G. Cyclic analogs of galanin and neuropeptide Y by hydrocarbon stapling. *Bioorg Med Chem* **2013**, *21*, 303-310.
14. Green, B. R.; Smith, M.; White, K. L.; White, H. S.; Bulaj, G. Analgesic neuropeptide W suppresses seizures in the brain revealed by rational repositioning and peptide engineering. *ACS Chem Neurosci* **2011**, *2*, 51-56.

- 15.Green, B. R.; White, K. L.; McDougle, D. R.; Zhang, L.; Klein, B.; Scholl, E. A.; Pruess, T. H.; White, H. S.; Bulaj, G. Introduction of lipidization-cationization motifs affords systemically bioavailable neuropeptide Y and neurotensin analogs with anticonvulsant activities. *J Pept Sci* **2010**, *16*, 486-495.
- 16.Bruggers, C. S.; Altizer, R. A.; Kessler, R. R.; Caldwell, C. B.; Coppersmith, K.; Warner, L.; Davies, B.; Paterson, W.; Wilcken, J.; D'Ambrosio, T. A.; German, M. L.; Hanson, G. R.; Gershan, L. A.; Korenberg, J. R.; Bulaj, G. Patient-empowerment interactive technologies. *Sci Transl Med* **2012**, *4*, 152ps116.
- 17.Govender, M.; Bowen, R. C.; German, M. L.; Bulaj, G.; Bruggers, C. S. Clinical and Neurobiological Perspectives of Empowering Pediatric Cancer Patients Using Videogames. *Games Health J* **2015**, *4*, 362-374.
- 18.Bulaj, G. Combining non-pharmacological treatments with pharmacotherapies for neurological disorders: a unique interface of the brain, drug-device, and intellectual property. *Front Neurol* **2014**, *5*, 126.
- 19.Bulaj, G.; Ahern, M. M.; Kuhn, A.; Judkins, Z. S.; Bowen, R. C.; Chen, Y. Incorporating Natural Products, Pharmaceutical Drugs, Self-care and Digital/Mobile Health Technologies into Molecular-Behavioral Combination Therapies for Chronic Diseases. *Curr Clin Pharmacol* **2016**, *11*.
- 20.Schriewer, K.; Bulaj, G. Music Streaming Services as Adjunct Therapies for Depression, Anxiety, and Bipolar Symptoms: Convergence of Digital Technologies, Mobile Apps, Emotions, and Global Mental Health. *Front Public Health* **2016**, *4*, 217.

Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

Sprawozdanie z XXXV Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 18 października 2017 r. odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXXV Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu. Przed wykładem Dyrekcja Instytutu i członkowie Komisji spotkali się w Sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą. Prof. Grzegorz Bułaj po studiach na Uniwersytecie Wrocławskim i obronie rozprawy doktorskiej w 1989 roku, wyjechał do USA. Swoją karierę naukową związał z University of Utah, gdzie obecnie jest zatrudniony na stanowisku „Associate Professor”.

O godzinie 13:00 w Auli im. Stefana Ślopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący Komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczyście powitał słuchaczy (ok. 90 osób), wśród których większość stanowili uczniowie i nauczyciele z liceów nr X i XV. Reprezentanci tych szkół otrzymali wydawnictwa PAU w nagrodę za aktywny i konsekwentny udział w Spotkaniach Komisji. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę naukową i dorobek wykładowcy (informacja biograficzna w załączeniu).

O godzinie 13:10 rozpoczął się wykład pt. **„Leczenie chorób neurologicznych w oparciu o neuropeptydy oraz terapie łączone z oprogramowaniem komputerowym”**. Na wstępie prof. Bułaj przedstawił plan swojej prezentacji a następnie konsekwentnie omawiał kolejne trzy części: 1) konotoksyny o działaniu przeciwbólowym, 2) analogi galaniny jako prototypy leków, 3) oprogramowanie komputerowe w różnych terapiach przeciwpadaczkowych i przeciwnowotworowych. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), na świecie żyje około 50-60 milionów ludzi chorych na padaczkę. Ponadto statystyki podają, że około 1,5 miliarda ludzi cierpi na bóle chroniczne. Dlatego celem badań prowadzonych przez zespół prof. Bułaja jest rozwój nowych terapii przeciwpadaczkowych i łagodzących ból neuropatyczny, w oparciu o projektowanie, syntezę chemiczną i badania biologiczne analogów różnych neuropeptydów oraz zastosowanie odpowiedniego oprogramowanie komputerowego. Jakie są realia i problemy pacjentów z chorobami przewlekłymi? Wg danych 50% pacjentów w USA bierze leki nieregularnie, powodując koszty w wysokości ponad 100 bilionów USD/rok. Działanie tzw. konotoksyn, wykładowca zilustrował filmem o rybach atakowanych przez drapieżne ślimaki morskie, z których jadu wyodrębnione zostały te peptydy. Niektóre z nich wykazują właściwości przeciwbólowe poprzez wybiórcze oddziaływanie ze specyficznymi kanałami jonowymi i receptorami

Prowadzone badania kliniczne oraz specjalne przepisy obowiązujące w Stanach Zjednoczonych dały możliwość otrzymania atestu z Agencji Żywności i Leków (FDA) obejmującego medyczne wykorzystanie aplikacji mobilnych oraz gier komputerowych (np. Blue Star, www.jintronix.com, www.flintrehabilitation, gra NeuroRacer – wspomaga leczenie otępienia, Akili Interactive Labs – w leczeniu autyzmu i ADHD, SPARX – gra w depresji). Zainteresowanie wzbudziła również informacja o zastosowaniu muzyki Mozarta w leczeniu depresji i padaczki (upmusing.net). We współpracy z neurologami i farmakologami z Uniwersytetu w Utah, prowadzone są badania przedkliniczne i kliniczne związane z opracowaniem medycznej mobilnej aplikacji, mającej za zadanie zmniejszenie częstości występowania i zapobieganie atakom padaczki. Prototyp mobilnej aplikacji został odpowiednio przygotowany i zawiera elementy stymulacji dźwiękowej oraz terapii poznawczo-behawioralnej.

Prof. Czesław Radzikowski podziękował za ciekawy wykład, łączący różne obszary wiedzy. Tematyka okazała się interesująca dla młodzieży, czego dowodem było duże skupienie słuchaczy.

Po wykładzie kontynuowano dyskusję na spotkaniu przy kawie w Sali Konferencyjnej.

W XXXV spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. prof. J. Boratyński, K. Prosek, Cz. Radzikowski, W. Sokalski oraz rodzina prof. Bułaja. Profesorowie: Paweł Kisielow i Jacek Otlewski, usprawiedliwili swoją nieobecność.

Sprawozdanie przygotowała:
Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski

Sekretarz KPM PAU

Przewodniczący KPM PAU

**WYKAZ LICEÓW PRZYRODNICZYCH,
KTÓRYCH UCZNIOWIE UCZESTNICZĄ
W SPOTKANIACH DYDAKTYCZNO-NAUKOWYCH
KPM PAU WE WROCŁAWIU**

Nr	Data	Numery liceów
XXXII	8.03.2017	X, XV
XXXIII	12.04.2017	X, XV
XXXIV	27.09.2017	X, XV
XXXV	18.10.2017	X, XV

Istnieje możliwość uczestniczenia w wykładzie za pomocą streamingu.

Uwaga: Liczba połączeń jest ograniczona. Aby uczestniczyć w wykładzie należy pobrać aplikację VLC ze strony <http://www.videolan.org/vlc/>, zainstalować i uruchomić zgodnie z instrukcją podawaną na stronie Instytutu Immunologii, każdorazowo przed Spotkaniem.

Część szkół korzysta z tej formy przekazu, jednak nie dysponujemy konkretnymi danymi.