

**SPRAWOZDANIE**  
**KOMISJI PRZYRODNICZO-MEDYCZNEJ PAU**  
**WE WROCŁAWIU**  
**ZA ROK 2018**

**WROCŁAW-KRAKÓW 2018**

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

## Strona internetowa PAU

### Informacja o Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU we Wrocławiu

#### Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU z Siedzibą we Wrocławiu

Przewodniczący	Czesław Radzikowski
Zastępca przewodniczącego	Aleksandra Klimczak
Sekretarz	Katarzyna Prosek

Komisja powstała na mocy uchwały Rady PAU z 26 V 2009. Jej inicjatorem był Prezydent Miasta Wrocławia dr Rafał Dutkiewicz, a organizatorem i z kolei przewodniczącym wrocławski członek PAU, prof. dr hab. n. med. Czesław Radzikowski. Komisja ma charakter międzywydziałowy. Lokal, obsługę administracyjną i środki na jej działalność, rozpoczętą w październiku 2009, zapewnia Urząd Miasta Wrocławia. PAU wydaje „Sprawozdania” z działalności Komisji, zawierające streszczenia wygłoszonych wykładów. Komisja cieszy się dużym powodzeniem.

<http://pau.krakow.pl/index.php/pl/struktura/wydzialy-i-komisje/komisje-miedzywydzialowe/komisja-przyrodniczo-medyczna-z-siedziba-we-wroclawiu>

## Strona internetowa PAU

### Informacja o spotkaniach Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU we Wrocławiu

#### Spotkania dydaktyczno-naukowe Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU we Wrocławiu i Miasta Wrocławia

Z inicjatywy Prezydenta Wrocławia, dr. Rafała Dutkiewicza, w porozumieniu z prof. dr. hab. Andrzejem Białasem powołano w maju 2009 roku międzywydziałową Komisję Przyrodniczo-Medyczną (KPM PAU we Wrocławiu), której celem jest zbliżanie wyników fascynującego postępu w badaniach przyrodniczych, głównie w biologii molekularnej i genetyce, środowisku medycznemu, a także studentom, nauczycielom i uczniom klas licealnych kierunków przyrodniczych regionu dolnośląskiego. Do udziału w spotkaniach dydaktyczno-naukowych zapraszani są wykładowcy, głównie uczeni z tego regionu, reprezentujący wielodyscyplinarne badania zorientowane medycznie, którzy swe wykształcenie i/lub swą początkową działalność naukową zawdzięczają uczelniom czy instytutom naukowym regionu dolnośląskiego, a których wyniki badań, prowadzonych także za granicą, uzyskały międzynarodowe uznanie.

Opracowanie programu działania Komisji powierzono prof. dr. hab. n. med. Czesławowi Radzikowskiemu, czł. PAU, który wspólnie z członkami Komisji reprezentującymi uczelnie wyższe Wrocławia, organizuje spotkania, cieszące się dużym zainteresowaniem oraz licznym udziałem doktorantów, studentów i uczniów klas licealnych. Zbiory sprawozdań ze spotkań, których w latach 2009-2016 odbyło się trzydzieści jeden, były wydawane przez Wydawnictwo PAU w Krakowie. Wszystkie sprawozdania są dostępne w formie elektronicznej.

Miejscem działalności Komisji jest Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, w którym odbywają się „Spotkania dydaktyczno-naukowe KPM PAU we Wrocławiu” (dostępne także przez Internet). Koszty związane z zaproszeniem wykładowców i organizacją spotkań pokrywane są przez Urząd Miasta, którego Wydział Edukacji rozpowszechnia informacje o spotkaniach i organizuje udział uczniów klas licealnych.

<http://pau.krakow.pl/index.php/pl/wydarzenia/spotkania-komisji-przyrodniczo-medycznej-we-wroclawiu>

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

### **WYKAZ CZŁONKÓW (2018–2021)**

1. **Janusz BORATYŃSKI** (IITD PAN)
2. **Anna CHEŁMOŃSKA-SOYTA** (IITD PAN, UP)
3. **Tadeusz DOBOSZ** (UM)
4. **Irena FRYDECKA** (IITD PAN)
5. **Andrzej GAMIAN** (IITD PAN, UM)
6. **Paweł KAFARSKI** (PW<sub>r</sub>)
7. **Paweł KISIEŁOW** (IITD PAN; czł. PAU)
8. **Aleksandra KLIMCZAK** (IITD PAN) – z-ca przewodniczącego
9. **Bożena OBMIŃSKA-MRUKOWICZ** (UP)
10. **Egbert PIASECKI** (IITD PAN)
11. **Katarzyna PROSEK** (IITD PAN) – sekretarz
12. **Czesław RADZIKOWSKI** (IITD PAN; czł. PAU) – przewodniczący
13. **Małgorzata SĄSIADK** (UM)
14. **Aleksander SIKORSKI** (UW)
15. **Andrzej SOKALSKI** (PW<sub>r</sub>)
16. **Zbigniew SZEWCZUK** (UW)
17. **Jolanta ZAKRZEWSKA-CZERWIŃSKA** (IITD PAN, UW)

## **PROGRAM SPOTKAŃ W ROKU 2018**

### **SPOTKANIE XXXVI**

**14 marca 2018**

**Prof. dr rer, nat. hab. JACEK R. WIŚNIEWSKI**

Department of Proteomics and Signal Transduction,  
Max-Planck Institute for Biochemistry, Martinsreid, Niemcy

**„PROTEOMIKA WIELKOSKALOWA W BADANIACH PRZEWODU POKARMOWEGO”**

### **SPOTKANIE XXXVII**

**25 kwietnia 2018**

**Prof. dr n. wet. ANDRZEJ MAZUR**

Unite de Nutrition Humaine UMR, 1019 INRA/Universite Clermont Auvergne;  
Centre INRA Clermont-Fd/Theix, Francja

**„NUTRIGENOMICA – DIALOG ŻYWNOŚCI Z GENAMI”**

### **SPOTKANIE XXXVIII**

**19 września 2018**

**Prof. dr hab. med. JANUSZ RAK**

The Research Institute of the McGill University Health Centre Montreal  
Children's Hospital, Montreal, Quebec, Kanada

**„CZĘŚĆ I CAŁOŚĆ W BIOLOGII NOWOTWORÓW”**

### **SPOTKANIE XXXIX**

**28 listopada 2018**

**Dr med. BARTOSZ GRZYWACZ**

Laboratory Medicine&Pathology, University of Minnesota, Minneapolis MN, USA

**„KOMÓRKI NK (NATURAL KILLERS) – STRAŻNICY ORGANIZMU  
PRZECIWKO WIRUSOM I NOWOTWOROM”**

**ARCHIWUM SPOTKAŃ**

**W ROKU 2018**

# z a p r o s z e n i e

---

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU  
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXVI otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu  
**14 marca 2018 roku**

**z udziałem Prof. Dr. Jacka R. Wiśniewskiego**

Department of Proteomics and Signal Transduction, Max-Planck Institute for Biochemistry,  
Martinsried, Niemcy

Tytuł wykładu:

**„PROTEOMIKA WIELKOSKALOWA  
W BADANIACH PRZEWODU POKARMOWEGO”**

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

---





## Biographical information

Jacek Roman Wiśniewski, Prof. Dr. rer. nat. hab.

### Address:

Max-Planck-Institute of Biochemistry,  
Department of Proteomics and Signal Transduction,  
Am Klopferspitz 8, D-82152 Martinsried, Germany.

E-mail: [jwisniew@biochem.mpg.de](mailto:jwisniew@biochem.mpg.de)

Phone: +49 89 8578 2505

### Summary:

Studied Chemistry and Biochemistry. Worked in Poland, Germany, Denmark and Canada. Has academic and industrial experience. Conducted research teams with up to 30 scientists and technicians. Has substantial experience in insect endocrinology, protein chemistry and proteomics. Developed methods for large scale quantitative proteomic analysis of animal tissue and clinical material.

### Key scientific achievements:

- Developed the filter aided sample preparation FASP and related methods allowing in-depth protein identification and mapping posttranslational modifications in complex proteomes.
- Invented label and standard free computational approaches for determination of protein concentrations (the Total Protein Approach) and protein copy numbers (the Proteomic Ruler) in complex biological samples
- Discovered human proteins originating from translation of unpredicted ORFs (NARR protein)
- Discovered two families of high-mobility proteins in dipteran insects

### Publication metrics:

- 124 publications
- 7514 citations\*
- 1139 citations in 2017\*
- Hirsh factor: 38\*

\*ISI, [webofknowledge.com](http://webofknowledge.com) (Jan 2018)

**Current position:** Group leader

**Academic degrees:**

- Adjunct Professor at Uppsala University, Dept. of Pharmacology, 2017
- Professor (apl.) at University of Göttingen, Germany, 2000
- Habilitation (im Fach Entwicklungsbiologie), University of Göttingen, Germany, 1995
- Ph.D. (chemistry), Technical University of Wrocław, Poland, 1986
- M.Sc. (pure and applied chemistry), University of Wrocław, Poland, 1979

**Teaching:**

- At Technical University of Wrocław
  - 1979-1986 Laboratory courses in biochemistry, organic chemistry and biotechnology
- At University of Göttingen
  - 1989-2001 Laboratory courses in developmental biology
  - 1995-2001 Lecture series: 'Proteins and nucleic acids'
  - 1989-2001 Supervisor to diploma and PhD students
  - 2003-2005 Proteomic courses in Göttingen

**Corporate experience:**

- 2004-2005 Director of Biochemistry; Protana Inc., Toronto, Canada
- 2001-2004 Director of Protein Analysis / Biochemistry; MDS Proteomics Inc., Odense, Denmark

**Previous professional and educational positions:**

- 1996-2000: *Oberassistent*, University of Göttingen,
- 1989-1996: Research Associate (*wissenschaftlicher Assistent*), University of Göttingen
- 1987-1988: Fellow of the *Alexander von Humboldt Stiftung*
- 1982-1986: Scientist, Technical University of Wrocław

**Editorial activities:**

- Editor-in-Chief 'Proteomes', <http://www.mdpi.com/journal/proteomes>
- Editorial Board Member 'Amino Acids', <https://link.springer.com/journal/726>
- Advisory board member 'Zoologia Poloniae', <http://www.degruyter.com/view/j/zoop>
- Frequent reviewer for Nature Methods, Nature Communications, Analytical Chemistry, Journal of Proteome Research, Journal of Proteomics, Proteomics

**Professional carrier**

**A. Academic**

**1981-1990. Analysis of metabolism, transport and receptors of the juvenile hormones. (15 publications)**

- Analyzed the activities of juvenile hormone (JH) binding proteins in the insect haemolymph and peripheral tissues of *Galleria mellonella* and *Chironomus thummi*. Described for the first time high affinity JH binding proteins from epidermal tissue.
- Studied synthesis and metabolism of the juvenile hormones during larval development and metamorphosis of *G. mellonella*. Demonstrated reactivation of juvenile hormone by the imaginal wing disc. Showed importance of epoxide hydrolases for the regulation of JH titer.
- Developed a technique for visualization of juvenile hormone binding proteins on blots using H<sup>3</sup>-labeled hormone. Discovered different classes of JH binding proteins on 2D page blots

Methodology: protein binding and hormone metabolism assays using tritiated hormones, protein purification techniques including gel filtration, isoelectric focusing, gradient ultracentrifugation, in vitro hormone synthesis assays, thin-layer chromatography, non-denaturing condition-2D-PAGE

### Key publications

1. Tissue specific juvenile hormone degradation in *Galleria mellonella*. **Wiśniewski JR**, Rudnicka M, Kochman M. *Insect Biochem.* 1986, 16:843-849.
2. Identification of juvenile-hormone-binding proteins on blotted electropherograms using tritiated juvenile hormones. **Wiśniewski JR**. *Experientia* 1989, 45:1124-1128.

### 1990-2001. Structure and function of high mobility group (HMG) proteins (21 publications)

- Identified and sequenced HMG proteins from dipteran insects. For the first time demonstrated the occurrence of HMG proteins in invertebrates providing evidence on DNA and proteins level.
- Expressed in bacteria the novel HMG proteins and studied their interaction with DNA. Demonstrated strong DNA bending upon protein binding with essential consequences in chromatin organization.
- Mapped posttranslational modifications of the HMG proteins and analyzed their role in modulation of DNA binding showing that phosphorylation reduces the tightness of the protein binding to DNA.
- Studied organization of the human HMG proteins complex with DNA. Identified protein region involved in contact to DNA
- Raised antibodies against various HMG proteins and studied their subcellular localization. Demonstrated a HMG protein variant-specific distribution of the HMG protein in polytene chromosomes.

Methodology: Edman sequencing, amino acid analysis, cloning and expression in bacteria, mobility shift assay, protein footprinting, DNA footprinting, LC-MS/MS analysis, immunofluorescence, microinjection into *Xenopus* oocyte, fluorescence resonance energy transfer (FRET) measurements, antibody production

## Key publications

1. Insect proteins homologous to mammalian high mobility group protein 1. Characterization and DNA-binding properties. **Wiśniewski JR**, Schulze E. J Biol Chem. 1992, 267:17170-7.
2. High affinity interaction of dipteran high mobility group (HMG) proteins 1 with DNA is modulated by COOH-terminal regions flanking the HMG box domain. **Wiśniewski JR**, Schulze E. J Biol Chem. 1994, 269:10713-9.
3. Protein footprinting reveals specific binding modes of a high mobility group protein I to DNAs of different conformation. Frank O, Schwanbeck R, **Wiśniewski JR**. J Biol Chem. 1998, 273:20015-20.
4. Constitutive phosphorylation of the acidic tails of the high mobility group 1 proteins by casein kinase II alters their conformation, stability, and DNA binding specificity. **Wiśniewski JR**, Szewczuk Z, Petry I, Schwanbeck R, Renner U. J Biol Chem. 1999, 274:20116-22.

## 2006-2018 Development of methods for large scale proteomic analysis (>70 publications)

- Developed filter aided sample preparation (FASP) methods for sample preparation. These methods facilitate protein digestion and sample purification. A variation of the method using multiple protein digestion steps significantly increases the number of peptide and proteins identifications and offer a peptide fractionation strategy. Analysis of the on-filter retained DNA enables calculation of cell number equivalents.
- Established workflows for identification of proteins from formalin fixed and paraffin embedded (FFPE) tissue. Combination of heat induced antigen retrieval with the FASP protocol enable analysis of minute amounts of microdissected FFPE material with a proteome coverage of 10,000 proteins per sample.
- Introduced and validated the 'Total Protein Approach' for absolute quantification of proteins in complex protein mixtures without standards and biochemical assays. This computational approach allows calculation of concentrations on a sole basis of mass spectrometric data. Thus, often critical for analytical accuracy labelled standards, calibration curves, and biochemical determination of total protein are no more required.
- Proposed the "Histone ruler" concept for calculation of protein copy number without standards and cell counting. This concept bases on the experimental evidence that in eukaryotic cells the mass of DNA roughly equals the mass of total histones. Since the mass of DNA per cell is usually known the protein content per cell can be calculated using the 'Total Protein Approach' data and the protein copy numbers can be assessed.
- Developed a fast and sensitive assays for determination of total protein and total peptide. This methods basses on fluorescence of the 'solvent accessible' indole of tryptophan. The method allows determination of total protein and peptides in the

presence on a variety of reagents, which are not compatible with classical colorimetric assays such as BCA and Bradford. Because the assay directly exploits spectral properties of proteins the measurements can be very fast.

- Discovered proteins originating from translation of alternative and unpredicted DNA sequences. The 'nine amino acid repeat' (NARR) proteins and the proteins with N-terminal ET-extensions have been discovered by manual analysis of non-assigned mass spectra.

Methodology: LC-MS/MS, ultrafiltration, fluorescence, antibody production, western blotting

### **Key publications**

1. Universal sample preparation method for proteome analysis. **Wiśniewski JR**, Zougman A, Nagaraj N, Mann M. Nat Methods. 2009, 6:359-62.
2. Combination of FASP and StageTip-based fractionation allows in-depth analysis of the hippocampal membrane proteome. **Wiśniewski JR**, Zougman A, Mann M. J Proteome Res. 2009, 8:5674-8.
3. Proteome, phosphoproteome, and N-glycoproteome are quantitatively preserved in formalin-fixed paraffin-embedded tissue and analyzable by high-resolution mass spectrometry. Ostasiewicz P, Zielinska DF, Mann M, **Wiśniewski JR**. J Proteome Res. 2010, 9:3688-700.
4. Extensive quantitative remodeling of the proteome between normal colon tissue and adenocarcinoma. **Wiśniewski JR**, Ostasiewicz P, Duś K, Zielińska DF, Gnad F, Mann M. Mol Syst Biol. 2012, 8:611.
5. A "proteomic ruler" for protein copy number and concentration estimation without spike-in standards. **Wiśniewski JR**, Hein MY, Cox J, Mann M. Mol Cell Proteomics. 2014, 13:3497-506.
6. The impact of high-fat diet on metabolism and immune defense in small intestine mucosa. **Wiśniewski JR**, Friedrich A, Keller T, Mann M, Koepsell H.J Proteome Res. 2015, 14:353-65.

### **B. Corporate (2001-2005)**

- Worked on developing of proteomic platforms for drug target discovery.
- Developed methods for proteomics analysis of membrane proteins. Methods for enrichment of plasma membrane from frozen tissue and 'on membrane' protein digestion allowed the first large scale identification of brain channels and neurotransmitter receptors and their comparative analysis between distinct parts of mouse brain.
- Created approaches for identification of N-glycosylated peptides in plasma

### **Key publications**

1. Integrated analysis of protein composition, tissue diversity, and gene regulation in mouse mitochondria. Mootha VK, Bunkenborg J, Olsen JV, Hjerrild M, **Wiśniewski JR**, Stahl E, Bolouri MS, Ray HN, Sihag S, Kamal M, Patterson N, Lander ES, Mann M. Cell. 2003, 115:629-40.
2. Proteomic mapping of brain plasma membrane proteins. Nielsen PA, Olsen JV, Podtelejnikov AV, Andersen JR, Mann M, **Wiśniewski JR**. Mol Cell Proteomics. 2005, 4:402-8.

## Streszczenie wykładu: Proteomika wielkoskalowa w badaniach układu pokarmowego

### Podstawy proteomiki

W latach dziewięćdziesiątych minionego stulecia analiza białek i peptydów przy użyciu spektrometrów masowych zaczynała nabierać znaczenia w naukach biologicznych. Ze względu na swój potencjał badawczy, umożliwiający jednoczesne badanie dużej ilości białek, została ona, przez analogię do genomiki i transkryptomiki - wielkoprzepustowych metod badań kwasów nukleinowych, nazwana proteomiką. Proteomika, obdarzona umiejętnością szybkiej i jednoznacznej identyfikacji białek, znalazła różnorodne zastosowania, przede wszystkim do badania składu proteomów, czyli kompozycji białek w komórce lub jej funkcjonalnych podjednostek - organelli. Ważnym nurtem proteomiki stało się badanie oddziaływań białek z białkami lub innymi składnikami komórki. Proteomika oferuje również unikalne możliwości badania modyfikacji potranslacyjnych. Analiza pozwalająca na identyfikację i oznaczenie ilościowe kilku tysięcy do ponad dziesięciu tysięcy białek w jednym pomiarze nazywana jest proteomiką wielkoskalową lub globalną.

Spektrometr masowy, który jest motorem proteomiki, pozwala na pomiary masy białek lub peptydów oraz oznaczanie ich sekwencji aminokwasowej. Znajomość sekwencji oraz mas jest podstawą identyfikacji białek. Podczas gdy bezpośrednia analiza białek ma raczej marginalne znaczenie jako narzędzie badawcze, analiza mieszanin peptydów pochodzących z proteolitycznego trawienia białek, tak zwana technika *bottom-up*, stała się dominującą metodą proteomiczną.

W trawieniu białek największe zastosowanie ma trypsyna, która w sposób swoisty hydrolizuje wiązania peptydowe, w które zaangażowane są lizyna lub arginina. Tak przygotowane mieszaniny peptydów poddaje się jonizacji umożliwiającej oznaczenie ich mas. W następnym etapie, w drodze zderzeń z cząsteczkami gazu, zjonizowane peptydy poddawane są dalszej fragmentacji. Pomiary mas fragmentów dają podstawę do wyznaczenia sekwencji peptydów. Ten dwuetapowy proces spektrometryczny nazywa się techniką tandemową. Zdobyta w powyższy sposób informacja o sekwencji peptydów jest podstawą do identyfikacji białek, która jest możliwa przez porównanie z teoretycznymi sekwencjami wszystkich białek przewidywanych przez analizę genomu badanego organizmu.

### Ilościowe aspekty analizy proteomicznej

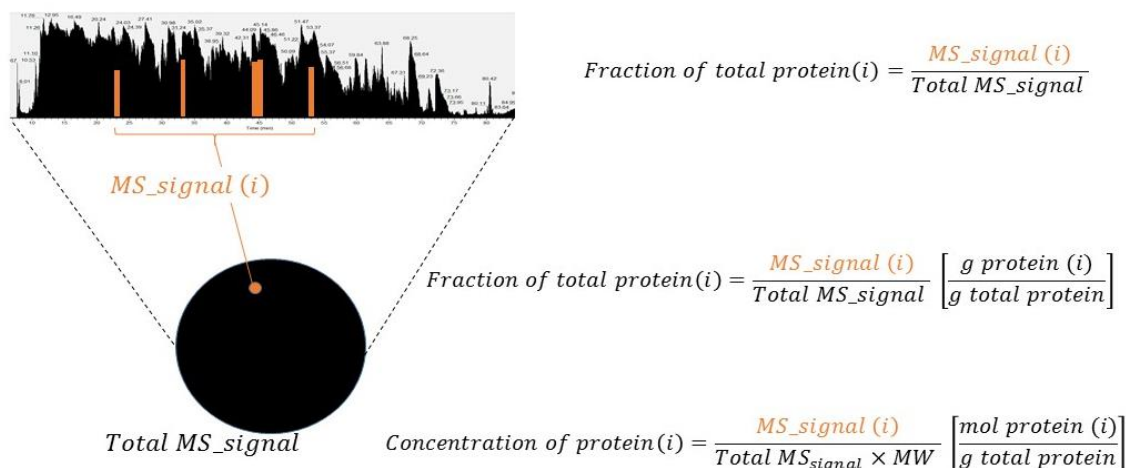
Z technicznego punktu widzenia, największą trudnością w analizie typu *bottom-up* jest zarówno ekstrakcja białek, jak i ich trawienie. Ze względu na funkcję i budowę białka są bardzo różnorodne. Jedne cytosolowe i dobrze rozpuszczalne w wodzie, inne błonowe, w dużej części złożone z hydrofobowych aminokwasów wymagają użycia detergentów lub rozpuszczalników organicznych do ich rozpuszczenia. Użycie detergentów lub rozpuszczalników często uniemożliwia trawienie białek trypsyną lub innymi proteazami.

FASP jest jedną z popularnych metod konwersji białek do peptydów. Umożliwia ona użycie silnych detergentów, takich jak SDS, ich usunięcie i trawienie zdenaturowanych białek w buforach dających proteazom pełną aktywność enzymatyczną. W końcowym etapie FASP-u peptydy izolowane są od niestrawionych substancji przez ultrafiltrację. Niski poziom zanieczyszczeń peptydów otrzymywanych tą metodą umożliwia wydajną identyfikację peptydów pochodzących od białek zarówno rozpuszczalnych, jak i błonowych.

Metoda FASP umożliwiła po raz pierwszy analizę białek błonowych oraz ich modyfikacji potranslacyjnych na dużą skalę. Badania te umożliwiły identyfikację ponad 10000 miejsc fosforylacji w białkach mózgu. Innym przykładem zastosowania FASP-u była analiza N-glikozylacji, modyfikacji występującej jedynie w białkach błonowych na powierzchni komórki lub wewnątrz cystern aparatu Golgiego i kanałów retikularnych.

Do badania i zrozumienia składu proteomu oraz zjawisk z nim związanych, takich jak regulacja ścieżek sygnałowych, czy organizacja organelli komórkowych, potrzebne są pomiary ilościowe. Najczęściej stosowaną metodyką jest względne porównanie obfitości białek pomiędzy dwoma albo większą ilością stanów fizjologicznych. Poważnym mankamentem tej metody jest niemożliwość określenia stężeń białek, co jest szczególnie istotne w zrozumieniu oddziaływań białek z ligandami lub enzymów z ich substratami. Do oznaczania obfitości białek często stosowane są izotopowo znakowane standardy, ale podstawowym ograniczeniem takiego podejścia analitycznego jest niska liczba białek, które mogą być jednocześnie badane.

Innym podejściem w badaniu ilościowym proteomu jest metoda *Total Protein Approach*, w której zawartość całkowitego białka w analizowanej próbce definiowana jest przez całkowity sygnał spektrometryczny mierzony w całej analizie (Ryc. 1). Natomiast stężenie każdego białka

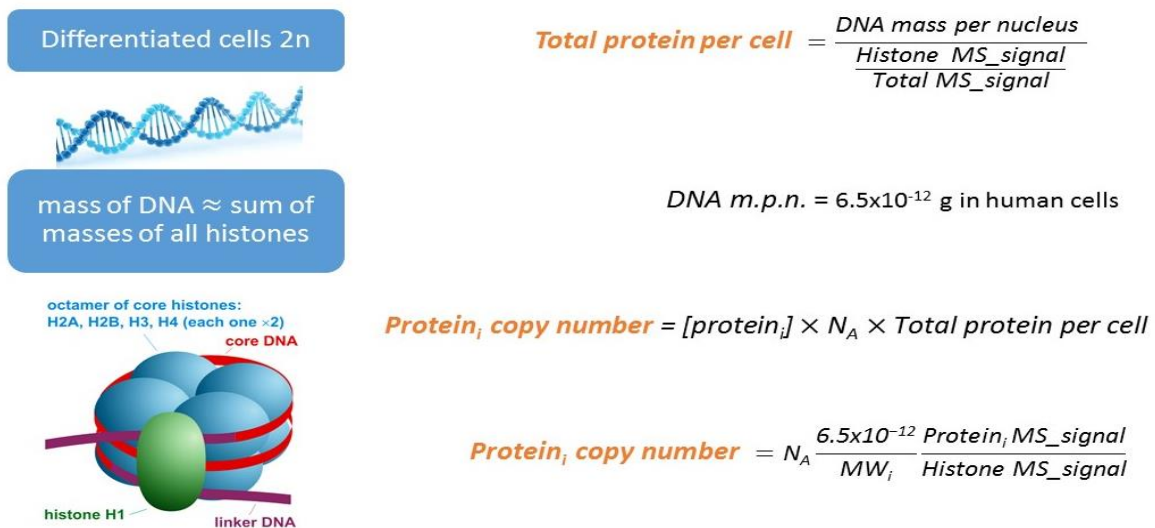


**Ryc. 1. Podstawy ilościowego oznaczania białek z wielkoskalowych danych proteomicznych metodą *Total Protein Approach*. 'MS\_signal (i)' to suma intensywności widmowych wszystkich peptydów pochodzących z białka (i), natomiast 'Total MS\_signal' to całkowity sygnał widmowy pochodzący od wszystkich peptydów.**



odpowiada sumie intensywności widm wszystkich jego peptydów. A zatem informacja intensywności widmowych zawarta w dużych zbiorach danych otrzymywanych przez proteomikę wielkoskalową umożliwia jednocześnie obliczenie stężeń tysięcy białek. Należy tu podkreślić, że *Total Protein Approach* pozwala na określanie stężeń białek bez potrzeby stosowania jakichkolwiek standardów, czy też oznaczania zawartości białka w próbce. Nie wymaga ona wstępnego definiowania białek, których stężenia mają być zmierzone.

Niejako pochodną metody *Total Protein Approach* jest *Proteomic Ruler*, która, korzystając z informacji o zawartości histonów w stosunku do pozostałych białek, umożliwia oszacowanie rozmiarów komórki, a co za tym idzie, możliwość obliczenia ilości cząsteczek białek lub ich kompleksów przypadających na jedną komórkę (liczba kopii) (Ryc. 2). Należy tu podkreślić, że obliczenia te także nie wymagają żadnych dodatkowych pomiarów, takich jak liczenie komórek, a zatem dostarczają absolutnej informacji bazującej jedynie na pomiarze spektrometru masowego.



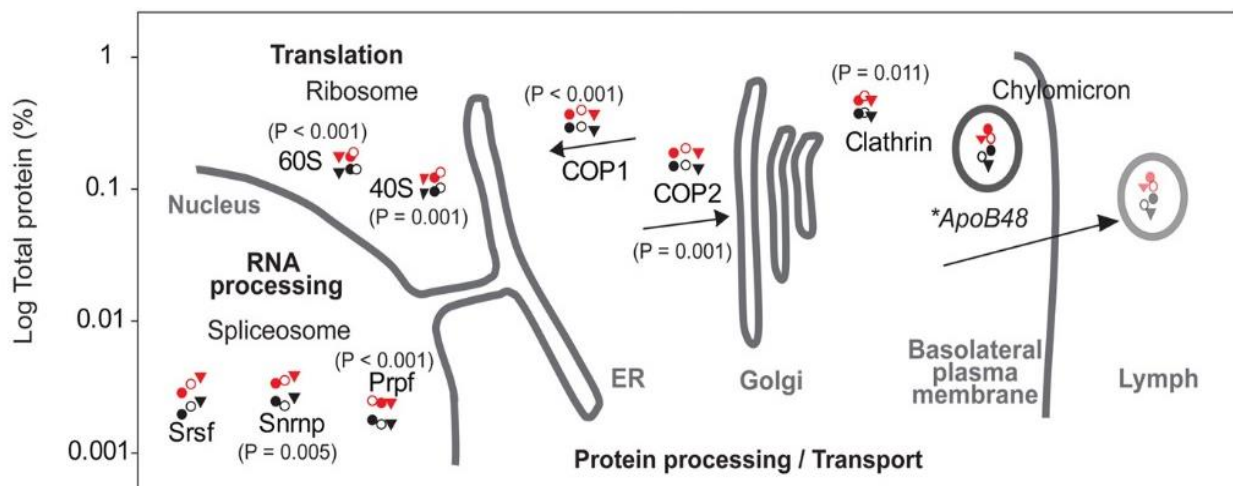
**Ryc. 2. *Proteomic Ruler* umożliwia oznaczenie ilości cząsteczek białek przypadających na komórkę. Wykorzystuje ona to, że w komórkach eukariotów masa histonów jest niemal równa masie DNA. Dzięki temu, że masy DNA przypadające na komórkę są znane, możliwe jest obliczenie zawartości całkowitego białka w komórce na podstawie proporcji intensywności sygnałów widmowych pochodzących z histonów i wszystkich pozostałych białek.**

Ponieważ liczba kopii białka zależy od wielkości komórki, a stężenie białka nie, obydwie te wartości mogą opisywać innego rodzaju zmiany w komórce. Na przykład, liczby kopii białka trafniej opisują zmiany w obrębie jądra komórkowego, a stężenia lepiej pokazują potencjał metaboliczny enzymów w cytoplazmie.

Opracowane przez nas metody proteomiki wielkoskalowej, stały się dla nas narzędziem wielu analiz komórek, tkanek, czy też organów pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Istotną częścią naszych badań były analizy narządów układu pokarmowego, w tym jelita cienkiego, grubego oraz wątroby.

### Zmiany w jelicie cienkim spowodowane dietą wysokotłuszczową

Jelito cienkie jest głównym miejscem absorpcji i przekazywania do organizmu substancji odżywczych: węglowodanów, białek i tłuszczu. Jakkolwiek fizjologia tych procesów była przez dziesięciolecia przedmiotem różnorodnych badań, część jej molekularnych podstaw wciąż jest przedmiotem kontrowersji. Także zmiany adaptacyjne komórek nabłonkowych (enterocytów) zależnie od rodzaju przyjmowanego pokarmu nie mogły być analizowane kompleksowo. Użycie proteomiki wielkoskalowej umożliwiło oznaczenie obfitości tysięcy białek, w tym odpowiedzialnych zarówno za homeostazę enterocytów, jak i za mechanizmy transportowe.



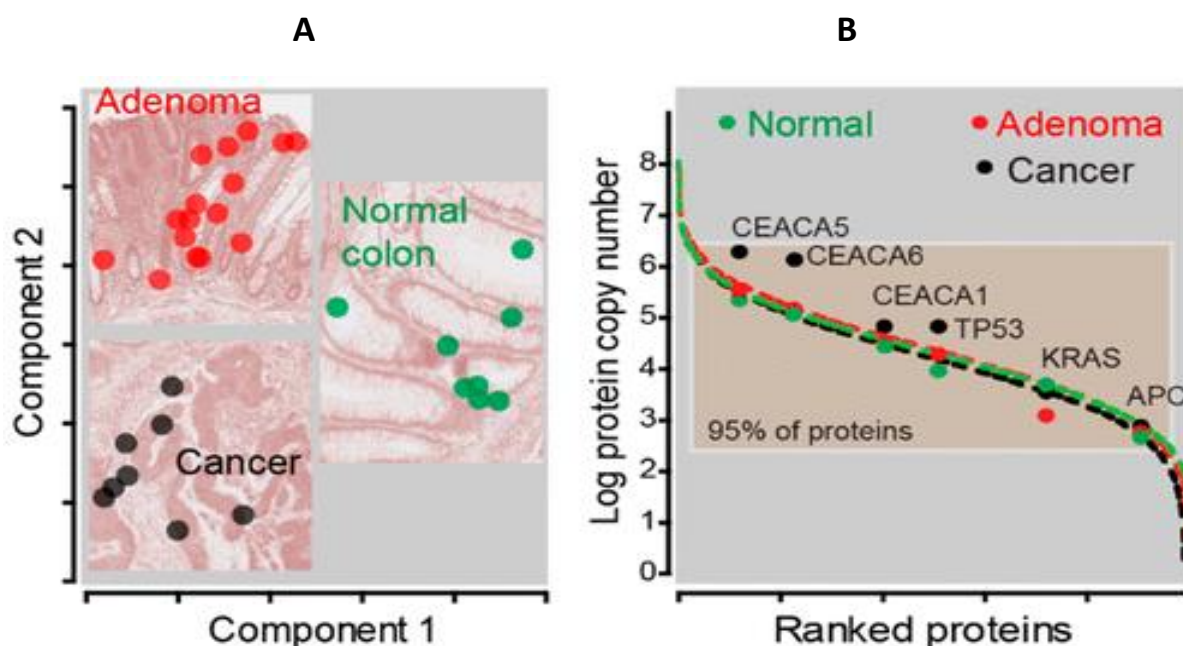
**Ryc. 3. Dieta wysokotłuszczowa stymuluje syntezę białek oraz ich aktywne przemieszczanie się wewnątrz komórki. Wyraźnie podniesiony jest mechanizm transportu tłuszczu w postaci chylomikronów. Symbole czarne - normalna dieta, symbole czerwone - wysokotłuszczowa. Obfitość białek lub kompleksów jest wyrażona w procentach całkowitego białka.**

Porównanie proteomów nabłonka jelita myszy karmionych dietą normalną i jelita myszy odżywianych pokarmem wysokotłuszczowym wykazało istotne zmiany. Ogólnie, dieta wysokotłuszczowa podnosi aktywność produkcji białek i ich transportu wewnątrzkomórkowego (Ryc. 3). Towarzyszy jej podniesiony metabolizm oksydacyjny w mitochondriach. Ponadto dieta wysokotłuszczowa obniża poziom podjednostek przeciwciał i składników kompleksu

histokompatybilności II, co może odzwierciedlać obniżoną odporność i tolerancję immunologiczną.

### Proteom komórek nabłonkowych jelita grubego i jego transformacja w gruczolaku i raku

Celem tego projektu było zbadanie i porównanie proteomów komórek nabłonkowych jelita grubego i wywodzących się od nich gruczolaków i komórek rakowych. Materiałem klinicznym były tkanki utrwalone formaliną i zatopione w parafinie (FFPE; formalin fixed and paraffin embedded). W badaniach tych zastosowane zostały własne protokoły izolacji komórek i ekstrakcji białek. Ponieważ użyte tu metody nie są w żaden oczywisty sposób uzależnione od właściwości fizykochemicznych białek, umożliwiają one analizę wielkoskalową proteomów, w której odzwierciedlony został naturalny rozkład obfitości białek w komórkach.



Ryc. 4. Analiza proteomów nabłonka jelita grubego oraz komórek jego gruczolaka i raka. (A) Analiza głównych składowych pokazuje istotne różnice w proteomach trzech badanych typów komórek. (B) Obfitość białek ropyściera się na 7 rzędów wielkości, podczas gdy liczba kopii około 95% białek, w tym białek związanych z etiologią raka (TP53, APC, KRAS) oraz jego markerów (CEACA), mieści się w przedziale 4 rzędów wielkości.

Kompletna analiza trzech rodzajów komórek umożliwiła identyfikację ponad 10.000 białek, z czego obfitość około 30% różniła się w sposób statystycznie znaczący pomiędzy każdym z trzech badanych proteomów. Potencjalnie każde z tych białek może być rozważane jako biomarker, a

duża część z nich, jako białek docelowych w projektowaniu nowych leków. Otrzymane wyniki stanowią pierwszy, i jak dotąd jedyny bliski kompleksywności, ilościowy opis proteomów prawidłowego nabłonka oraz jego gruczolaka i raka.

### **Perspektywa**

Wykład ten ma na celu przedstawienie aktualnych możliwości proteomiki, jakkolwiek w jego ramach jedynie niektóre metody proteomiki mogą zostać omówione. W centrum uwagi znajduje się proteomika wielkoskalowa, umożliwiająca systemowe spojrzenie na komórkę, które w znacznym stopniu rozszerza możliwości badawcze stworzone przez inne wielkoprzepustowe analizy, takie jak genomika, czy transkryptomika. Podczas gdy macierzowe badania RNA pozwalają jedynie na uchwycenie względnych zmian w komórce, proteomika wielkoskalowa dostarcza informacje o podłożu termodynamicznym, gdyż stężenia białek, czy liczby ich cząsteczek, są wartościami bezpośrednio interpretowalnymi w kategoriach biochemii i fizjologii.

Ze względu na ograniczoną dostępność spektrometrów masowych, jak i względnie długi czas analiz, proteomika wielkoskalowa wciąż pozostaje metodą głównie dostępną specjalistom. Rozpowszechnienie jej jest jednak jedynie kwestią czasu. Coraz szybsze i dostępne urządzenia sprawiają, że globalne analizy proteomów staną się rutynową metodą analityczną, taką jaką są dziś elektroforeza żelowa, czy *western blot*, i je zastąpią.

## Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

### Sprawozdanie z XXXVI Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 14 marca 2018 r. odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXXVI 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, prof. dr Jackiem Wiśniewskim, który swoją drogę naukową rozpoczął uzyskaniem stopnia doktora chemii na Politechnice Wrocławskiej w 1986 roku. Obecnie pracuje w Max-Planck-Institute of Biochemistry, Department of Proteomics and Signal Transduction (Martinsried, Niemcy).

O godzinie 13:00 w Auli im. Stefana Śłopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący Komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczyście powitał nowych członków Komisji oraz słuchaczy (ok. 110 osób), wśród których większość stanowili uczniowie i nauczyciele z liceów nr IV, X i XV, ponadto byli obecni studenci, doktoranci oraz pracownicy naukowcy Instytutu. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę naukową i dorobek wykładowcy (informacja biograficzna w załączeniu).

O godzinie 13:10 rozpoczął się wykład pt. „**Proteomika wielkoskalowa w badaniach układu pokarmowego**”. Prof. Wiśniewski nakreślił zarys wykładu: co to jest proteomika, jak działa spektrometr masowy, ilościowe aspekty proteomiki i jej praktyczne zastosowanie w badaniach jelita.

Proteomika pozwala na identyfikację i oznaczenie ilościowe kilku tysięcy do ponad dziesięciu tysięcy białek w jednym pomiarze. Opracowane przez zespół prof. Wiśniewskiego metody proteomiki wielkoskalowej, stały się narzędziem wielu analiz komórek, tkanek, czy też organów pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Istotną częścią badań były analizy narządów układu pokarmowego, w tym jelita cienkiego, grubego oraz wątroby. W wyniku tych badań wykazano, że **dieta wysokotłuszczowa stymuluje syntezę białek oraz ich aktywne przemieszczanie się wewnątrz komórki. Wywołuje znaczące zmiany w komórkach nabłonka.** Ze względu na ograniczoną dostępność spektrometrów masowych, jak i względnie długi czas analiz, proteomika wielkoskalowa wciąż pozostaje metodą głównie dostępną specjalistom. Rozpowszechnienie jej jest jednak jedynie kwestią czasu.

Wykład był bardzo interesujący, dobrze zaplanowany i przejrzysto ilustrowany. Przystępny język przekazu wzbudzał zainteresowanie młodzieży, która słuchała wykładu w skupieniu.

Ciekawy temat sprowokował pracowników naukowych Instytutu oraz gości z Uniwersytetu Wrocławskiego, Politechniki Wrocławskiej i Uniwersytetu Medycznego do dyskusji, którą kontynuowano na spotkaniu przy kawie w Sali Konferencyjnej.

W XXXVI spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. prof. J. Boratyński, A. Klimczak, K. Prosek, Cz. Radzikowski, Z. Szewczuk. Profesorowie: Paweł Kisielow i Wacław Sokalski usprawiedliwili swoją nieobecność.

*Sprawozdanie przygotowała:*

Katarzyna Prosek

Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski  
Przewodniczący KPM PAU

# z a p r o s z e n i e

---

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU  
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXVII otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu  
**25 kwietnia 2018 roku**

**z udziałem Prof. dr. Andrzeja Mazura**

Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 INRA/ Université Clermont Auvergne;  
Centre INRA Clermont-Fd/Theix, Francja

Tytuł wykładu:

**„NUTRIGENOMIKA – DIALOG ŻYWNOŚCI Z GENAMI”**

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

---



## Prof. dr Andrzej Mazur – informacja biograficzna

---

Studia na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu (na obecnym Uniwersytecie Przyrodniczym) ukończył w roku 1978, gdzie przez następne trzy lata pracował na stanowisku asystenta. W 1982 roku uzyskał dyplom DEA (Masters) w zakresie, Endokrynologia/Rozwój, a w 1986 stopień doktora (Ph.D.) na Uniwersytecie Blaise Pascal w Clermont-Ferrand (we Francji), wykonując prace badawcze nad zaburzeniami metabolicznymi u przeżuwaczy w INRA (Narodowy Instytut Badań Agronomicznych). Zainteresowania naukowe Prof. Mazura następnie ukierunkowały się w stronę prewencji żywieniowej zaburzeń metabolicznych i wynikających z nich chorób przewlekłych u ludzi. Prowadzone badania dotyczyły w dużej mierze mikroskładników pokarmowych i miały na celu ocenę ich biodostępności, efektów fizjologicznych i skuteczności w prewencji. Od 1990 roku pracuje na stanowisku Chargé de Recherche (odpowiednik Adiunkta), a od 1998 roku na stanowisku Directeur de Recherches (odpowiednik Profesora) i pełni funkcję kierownika zespołu badawczego w INRA Centrum Clermont-Ferrand/Theix. Od 2016 roku pełni funkcję dyrektora „Unité de Nutrition Humaine” INRA/Université Clermont Auvergne. Ma w swoim dorobku ponad 200 publikacji naukowych (ponad 6 tys. cytowań wg Web of Science). Prof. Mazur jest od założenia w 1992 roku członkiem Centrum Badań nad Żywieniem Człowieka (CRNH) regionu Auvergne, gdzie od wielu lat pełni rolę koordynatora tematyki „żywienie, prewencja chorób naczyniowych i zespołu metabolicznego”. Prof. Mazur ma silne więzi współpracy z placówkami naukowymi w Polsce w tym we Wrocławiu z Uniwersytetem Przyrodniczym, z IITD PAN im. Ludwika Hirszfelda oraz z Uniwersytetem Medycznym. Został odznaczony Medalem Honorowym Wydziału Medycyny Weterynaryjnej oraz Medalem za zasługi dla Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Tytuł naukowy profesora RP uzyskał w 2006 roku. W 2014 roku Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu nadał Prof. Mazurowi tytuł doktora *honoris causa*. Prof. Mazur jest od wielu lat członkiem licznych stowarzyszeń naukowych, w tym międzynarodowego stowarzyszenia badań nad magnezem (SDRM), w którym pełnił funkcję prezydenta, a aktualnie jest jego wiceprezydentem. Również aktywnie uczestniczy w działalności międzynarodowego stowarzyszenia nutrigenomiki - NuGO. Był wielokrotnie współorganizatorem kongresów i sympozjów naukowych krajowych i międzynarodowych. Prof. Mazur od 2007 roku pełni funkcję głównego redaktora międzynarodowego pisma naukowego „Magnesium Research” i od 2012 roku redaktora działu „Żywienie” w „Polish Journal of Food and Nutrition Sciences”. Jest również członkiem rad wydawniczych licznych pism naukowych.

## Skrócony życiorys zawodowy

---

### Andrzej Krzysztof MAZUR

Ur. 25 lipca 1955 roku w Częstochowie

### Miejsce zatrudnienia

---

Unité de Nutrition Humaine, UMR 1019 INRA/Université Clermont Auvergne  
Centre INRA Clermont-Fd/Theix, 63122 Saint Genès Champanelle, Francja  
e-mail: [andre.mazur@inra.fr](mailto:andre.mazur@inra.fr)

### Dyplomy i tytuły

---

1978 - Lekarz medycyny weterynaryjnej – Akademia Rolnicza we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy)  
1982 - DEA/Master, Endokrynologia/Rozwój, Uniwersytet Clermont II/Blaise Pascal  
1986 - Doktorat, Uniwersytet Clermont II/Blaise Pascal  
2006 - Profesor RP, nauki weterynaryjne  
2014 - Doktor *honoris causa* Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

## **Przebieg kariery**

---

- 1978 - Asystent – Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Patologii i Terapii Zwierząt, Akademia Rolnicza we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy)
- 1982 - Studia doktoranckie i postdoktorant - Laboratoire des Maladies Métaboliques, INRA, Theix, Francja
- 1990 - Chargé de Recherche (odp. Adiunkt), Unité des Maladies Métaboliques et Micronutriments, INRA, Theix
- 1998 - Directeur de Recherche, Unité de Nutrition Humaine, INRA, Theix; aktualnie Directeur de Recherche 1ère classe (odp. Profesor)
- 2016 – Dyrektor, Unité de Nutrition Humaine, INRA/Université Clermont Auvergne

## **Pełnione funkcje (aktualnie lub w ostatnich latach)**

---

- INRA - Unité de Nutrition Humaine, Clermont/Theix - Kierownik zespołu naukowego (Equipe de recherche) «Micronutriments et Santé Cardiovasculaire»; od 2016 r. Dyrektor, Unité de Nutrition Humaine, INRA/Université Clermont Auvergne
- CRNH - Centre des Recherches en Nutrition Humaine (Centrum Badań nad Żywieniem Człowieka) regionu Auvergne - członek biura naukowego i koordynator tematyki „żywienie, prewencja chorób naczyniowych i zespołu metabolicznego”
- ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) - francuska Narodowa Agencja ds. bezpieczeństwa sanitarnego żywności, środowiska i pracy - członek stałego komitetu ekspertów „Żywienie człowieka” (kadencja 2013-2015) i grupy roboczej „zagrożenia toksykologiczne żywności dla małych dzieci” (2014-2015)
- SDRM - międzynarodowe stowarzyszenie badań nad magnezem - Prezydent (2009-2010) i wiceprezydent (aktualnie)
- Główny wydawca (Editor-in-chief) międzynarodowego pisma naukowego „Magnesium Research” od 2007 i wydawca działu „Żywienie człowieka” (Nutrition section Editor) w Polish Journal of Food and Nutrition Sciences od 2012 oraz Członek Rady wydawniczej pism: Trace elements and Electrolytes; Folia Histochemica et Cytobiologica. Pisma krajowe: Acta Scientiarum Polonorum – Zootechnika; Nauka Przyroda Technologie;

## **Odnaczenia**

---

- Medal Honorowy Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu, 2002
- Medal za zasługi dla Akademii Rolniczej we Wrocławiu, 2005.
- Medal Warszawskiej Szkoły Fizjologii Zwierząt, 2012

## **Wybór publikacji**

---

1. Barber-Chamoux N, Milenkovic D, Verny MA, Habauzit V, Pereira B, Lambert C, Richard D, Boby C, Mazur A, Lusson JR, Dubray C, Morand C. Substantial Variability Across Individuals in the Vascular and Nutrigenomic Response to an Acute Intake of Curcumin: A Randomized Controlled Trial. *Mol Nutr Food Res*. 2018 Mar;62(5).
2. Bosviel R, Jourard-Cubizolles L, Chinetti-Gbaguidi G, Bayle D, Copin C, Hennuyer N, Duplan I, Staels B, Zanoni G, Porta A, Balas L, Galano JM, Oger C, Mazur A, Durand T, Gladine C. DHA-derived oxylipins, neuroprostanes and protectins, differentially and dose-dependently modulate the inflammatory response in human macrophages: Putative mechanisms through PPAR activation. *Free Radic Biol Med*. 2017 Feb;103:146-154.
3. Polakof S, Dardevet D, Lyan B, Mosoni L, Gatineau E, Martin JF, Pujos-Guillot E, Mazur A, Comte B. Time Course of Molecular and Metabolic Events in the Development of Insulin Resistance in Fructose-Fed Rats. *J Proteome Res*. 2016 Jun 3;15(6):1862-74.
4. Habauzit V, Verny MA, Milenkovic D, Barber-Chamoux N, Mazur A, Dubray C, Morand C. Flavanones protect from arterial stiffness in postmenopausal women consuming grapefruit juice for 6 mo: a randomized, controlled, crossover trial. *Am J Clin Nutr*. 2015 Jul;102(1):66-74.
5. Libako P, Miller J, Nowacki W, Castiglioni S, Maier JA, Mazur A. Extracellular Mg concentration and Ca blockers modulate the initial steps of the response of Th2 lymphocytes in co-culture with macrophages and dendritic cells.



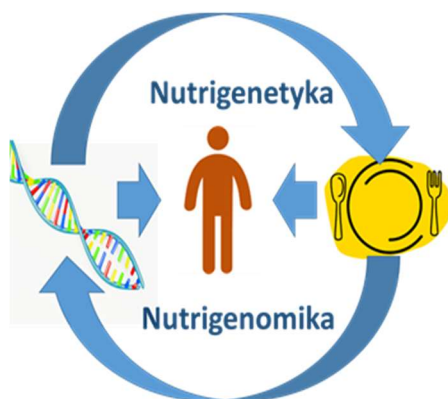
- Eur Cytokine Netw. 2015 Jan-Mar;26(1):1-9.
6. Martinez E, Deval C, Jousse C, Mazur A, Brachet P, Comte B. Methyl donor deficiency in H9c2 cardiomyoblasts induces ER stress as an important part of the proteome response. *Int J Biochem Cell Biol.* 2015 Feb;59:62-72.
  7. Gladine C, Zmojdian M, Joumard-Cubizolles L, Verny MA, Comte B, Mazur A. The omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid favorably modulates the inflammatory pathways and macrophage polarization within aorta of LDLR(-/-) mice. *Genes Nutr.* 2014 Sep;9(5):424.
  8. Gladine C, Newman JW, Durand T, Pedersen TL, Galano JM, Demougeot C, Berdeaux O, Pujos-Guillot E, Mazur A, Comte B. Lipid profiling following intake of the omega 3 fatty acid DHA identifies the peroxidized metabolites F4-neuroprostanes as the best predictors of atherosclerosis prevention. *PLoS One.* 2014 Feb 18;9(2):e89393.
  9. Martinez E, Gérard N, Garcia MM, Mazur A, Guéant-Rodriguez RM, Comte B, Guéant JL, Brachet P. Myocardium proteome remodelling after nutritional deprivation of methyl donors. *J Nutr Biochem.* 2013 Jul;24(7):1241-50
  10. Polakof S, Díaz-Rubio ME, Dardevet D, Martin JF, Pujos-Guillot E, Scalbert A, Sebedio JL, Mazur A, Comte B. Resistant starch intake partly restores metabolic and inflammatory alterations in the liver of high-fat-diet-fed rats. *J Nutr Biochem.* 2013 Nov;24(11):1920-30.
  11. Perche O, Vergnaud-Gauduchon J, Morand C, Dubray C, Mazur A, Vasson MP. Orange juice and its major polyphenol hesperidin consumption do not induce immunomodulation in healthy well-nourished humans. *Clin Nutr.* 2014 Feb;33(1):130-5.
  12. Chanet A, Milenkovic D, Claude S, Maier JA, Kamran Khan M, Rakotomanomana N, Shinkaruk S, Bérard AM, Bennetau-Pelissero C, Mazur A, Morand C. Flavanone metabolites decrease monocyte adhesion to TNF- $\alpha$ -activated endothelial cells by modulating expression of atherosclerosis-related genes. *Br J Nutr.* 2013 Aug;110(4):587-98.
  13. Coban D, Milenkovic D, Chanet A, Khallou-Laschet J, Sabbe L, Palagani A, Vanden Berghe W, Mazur A, Morand C. Dietary curcumin inhibits atherosclerosis by affecting the expression of genes involved in leukocyte adhesion and transendothelial migration. *Mol Nutr Food Res.* 2012 Aug;56(8):1270-81.
  14. Dejeans N, Herosimczyk A, Sayd T, Chambon C, Martin JF, Maier JA, Tauveron I, Mazur A. Effect of a high-fat challenge on the proteome of human postprandial plasma. *Clin Nutr.* 2013 Jun;32(3):468-71.
  15. Milenkovic D, Deval C, Gouranton E, Landrier JF, Scalbert A, Morand C, Mazur A. Modulation of miRNA expression by dietary polyphenols in apoE deficient mice: a new mechanism of the action of polyphenols. *PLoS One.* 2012;7(1):e29837.
  16. Milenkovic D, Deval C, Dubray C, Mazur A, Morand C. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. *PLoS One.* 2011;6(11):e26669.
  17. Morand C, Dubray C, Milenkovic D, Lioger D, Martin JF, Scalbert A, Mazur A. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jan;93(1):73-80.
  18. Talvas J, Caris-Veyrat C, Guy L, Rambeau M, Lyan B, Minet-Quinard R, Lobaccaro JM, Vasson MP, Georgé S, Mazur A, Rock E. Differential effects of lycopene consumed in tomato paste and lycopene in the form of a purified extract on target genes of cancer prostatic cells. *Am J Clin Nutr.* 2010 Jun;91(6):1716-24.
  19. Ryazanova LV, Rondon LJ, Zierler S, Hu Z, Galli J, Yamaguchi TP, Mazur A, Fleig A, Ryazanov AG. TRPM7 is essential for Mg(2+) homeostasis in mammals. *Nat Commun.* 2010 Nov 2;1:109.
  20. Fardet A, Canlet C, Gottardi G, Lyan B, Llorach R, Révész C, Mazur A, Paris A, Scalbert A. Whole-grain and refined wheat flours show distinct metabolic profiles in rats as assessed by a <sup>1</sup>H NMR-based metabolomic approach. *J Nutr.* 2007 Apr;137(4):923-9

**Prof. dr Andrzej Mazur**

Streszczenie wykładu:

## Nutrigenomika – Dialog żywności z genami

W 2010 roku miałem zaszczyt wygłosić wykład w ramach Spotkań dydaktyczno-naukowych Komisji Przyrodniczo-Medycznej Polskiej Akademii Umiejętności we Wrocławiu i mówiąc wówczas o mikroskładnikach pokarmowych i ich związku ze zdrowiem, nawiązałem do rozwijającej się dziedziny nauki - nutrigenomiki. Rosnące zainteresowanie zależnością między odżywianiem a zdrowiem oraz nowe odkrycia w dziedzinie biologii molekularnej, chemii analitycznej i biochemii doprowadziły do szybkiego rozwoju nutrigenomiki, opartej w dużej mierze na szerokiej gamie nowych technologii wielkoskalowych (ang. high-throughput; omics), np. genomiki, transkryptomiki, proteomiki, metabolomiki. W ostatnich latach błyskawiczny rozwój technologiczny przyczynił się też do pogłębienia wiedzy o mikroflorze, głównie przewodu pokarmowego, poprzez szeroko zakrojoną analizę profilu genetycznego i metabolicznego tej społeczności drobnoustrojów. W dzisiejszym wykładzie przedstawione zostaną aktualne możliwości badań w zakresie nutrigenomiki. Będą ilustrowane przykładami z literatury i badań własnych, zarówno przedklinicznych, jak i klinicznych. Wykład będzie też okazją do refleksji nad perspektywami rozwoju nutrigenomiki i jej praktycznego wkładu do żywienia człowieka.



Nutrigenetyka, Nutrigenomika i Genomika żywieniowa. Nutrigenetyka zajmuje się badaniem wpływu zmienności genetycznej organizmu na jego reakcję na składniki pokarmowe. Natomiast, nutrigenomika, w jaki sposób składniki odżywcze wpływają na ekspresję genów. W literaturze często termin nutrigenomika (zwana również „genomiką żywieniową”), obejmuje zarówno nutrigenomikę, jak i nutrigenetykę.

„OMICS” odnosi się do innowacyjnych platform technologicznych w dziedzinie genetyki, genomiki, proteomiki i metabolomiki. Narzędzia te pozwalają nam wykrywać i identyfikować wiele różnych cząsteczek, takich jak DNA, RNA, białka, peptydy, lipidy i metabolity w różnych biologicznych przedziałach, takich jak krew, osocze, mocz, ślina, tkanki, flora bakteryjna ...

Głównym celem **nutrigenetyki** jest wyjaśnienie wpływu zmienności genetycznej na odpowiedź organizmu na dietę oraz na interakcję między dietą a chorobą. Sekwencjonowanie ludzkiego genomu ujawniło znaczną genetyczną heterogeniczność w ludzkich populacjach. Odkryto miliony polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (ang. single-nucleotide polymorphism - SNP) i ich liczne związki z odżywianiem. Rozpoznano wiele chorób o podłożu jednogenowym, w przypadku których zmiana w odżywianiu może zapobiec lub zmniejszyć jej objawy (np. fenylketonuria, nietolerancja laktozy, galaktozy, czy alkoholu ...). Poznanie sekwencji genomu ludzkiego i rozwój technik biologii molekularnej umożliwia prowadzenie analizy na poziomie całego genomu. Badania asocjacyjne całego genomu (ang. genome-wide association study - GWAS) umożliwiają identyfikację markerów genetycznych, które związane są ze zwiększonym ryzykiem chorób przewlekłych, w tym tych mogących mieć związek z odżywianiem np. otyłość, nadciśnienie, cukrzyca, hiperlipemia, niektóre nowotwory ... Poza znanymi przypadkami chorób o podłożu jednogenowym powszechnie choroby mają podłoże złożone wielogenowe, co w interakcji z czynnikami środowiskowymi (w tym odżywianie) utrudnia zrozumienie patogenezę, jak i zapobieganie tym chorobom.

Dziedzina **nutrigenomiki** obejmuje wiele dyscyplin i obejmuje wpływ diety na stabilność genomu, zmiany epigenomu, ekspresję RNA i mikro-RNA (transkryptomika), ekspresję białka (proteomika) i zmiany poziomu metabolitów (metabolomika). Nutrigenomika przyczyniła się w dużym stopniu do zidentyfikowania i zrozumienia interakcji na poziomie molekularnym między składnikami pokarmowymi (odżywczymi i innymi składnikami bioaktywnymi) i organizmem. Przynajmniej tutaj nasze badania nad poznaniem mechanizmów bioaktywności roślinnych składników pokarmowych w zapobieganiu dysfunkcjom naczyniowym. Prowadzone badania przedkliniczne i kliniczne z użyciem narzędzi nutrigenomiki pozwoliły na określenie mechanizmów działania wybranych polifenoli w ochronie naczyń przed stresem metabolicznym czy zapalnym. Na poziomie śródbłonna naczyniowego wykazaliśmy, że liczne polifenole, w badaniach żywieniowych u ludzi i zwierząt doświadczalnych, oraz ich metabolity *in vitro* wpływają na ekspresję genów (na poziomie RNA i microRNA) związanych z adhezją leukocytów i reakcją zapalną. Zbliżone badania nad metabolitami pochodzącymi z utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych n-3 *in vivo* pozwoliły na identyfikację metabolitów o potencjalnych właściwościach przeciwzapalnych i przeciwmiażdżycowych. Należy podkreślić, że w zależności od ustalonych celów badawczych, badania są prowadzone z użyciem „omics” otwartych, badania całego transkryptomu lub metabolomu, lub ukierunkowanych na grupę genów czy metabolitów.

Zmiany na poziomie transkryptomu, epigenomu, proteomu oraz metabolomu mogą odzwierciedlać modyfikowalne, krótko lub długoterminowe, odpowiedzi w celu utrzymania homeostazy, w tym również na dietę. Zdolność odpowiedzi organizmu, tzw. **plastyczność fenotypowa**, jest niezbędnym elementem odpowiedzi na dietę. Nieodpowiednia dieta i brak odpowiedniej plastyczności mogą doprowadzić do zaburzenia homeostazy i w konsekwencji do zaburzeń metabolicznych i stanów chorobowych. Można ocenić plastyczność organizmu poprzez zbadanie odpowiedzi po obciążeniu dietą lub składnikami odżywczymi (tłuszcz, glukoza, fruktoza, „Western diet”, metionina ...). Przeprowadziliśmy liczne badania nad odpowiedzią organizmu na stres metaboliczny wywołany dietą, zarówno po posiłku (ang. postprandial), jak i krótko i długoterminowych. Badania prowadzone na zwierzętach doświadczalnych (szczur, mysz, świnia) karmionych dietą wysoko tłuszczową lub/i bogatą w cukier mają na celu wywołanie insulinooporności i zespołu metabolicznego. Pokazaliśmy przy użyciu tych modeli, że zmiany trajektorii metabolicznej śledzone przy użyciu metabolomiki poprzedzają objawy kliniczne i klasycznie oznaczane parametry biochemiczne. Zidentyfikowane metabolity lub specyficzne sygnatury metaboliczne są aktualnie oceniane jako potencjalne wczesne markery rozwoju zespołu metabolicznego i cukrzycy typu 2.

O fenotypie wspólnie z genotypem decydują czynniki środowiskowe (zmiany klimatyczne, zanieczyszczenie środowiska, praktyki żywieniowe, ...). **Ekspozom** jest pojęciem odpowiadającym wszystkim ekspozycjom na czynniki środowiskowe, którym podlega organizm od jego poczęcia do końca życia. W odróżnieniu od toksykologów, którzy ograniczają ekspozom do związków toksycznych, niektórzy autorzy poszerzają ekspozom o czynniki socjoekonomiczne, styl życia, reakcje organizmu na wpływy środowiska, metabolizm .... W ciągu ostatnich lat coraz lepiej poznane zostało znaczenie mechanizmów epigenetycznych w regulacji ekspresji genów pod wpływem środowiska. **Epigenetykę** można zdefiniować jako dziedziczne somatycznie stany ekspresji genów wynikające ze zmian w strukturze chromatyny bez zmian w sekwencji DNA, w tym metylacji DNA, modyfikacji histonów i przebudowy chromatyny. W dziedzinie żywienia, zjawiska epigenetyczne są wyjątkowo ważne, ponieważ składniki odżywcze i inne bioaktywne składniki żywności mogą przez te modyfikacje zmieniać ekspresję genów na poziomie transkrypcji. Przykładowo, foliany (wit. B-9), wit. B-12, metionina,

cholina i betaina mogą wpływać na metylację DNA i metylowanie histonów. Zmiany epigenetyczne dotyczą nie tylko organizmów podlegających bezpośredniej ekspozycji, ale także kolejnych pokoleń poprzez trans generacyjne dziedziczenie cech epigenetycznych. Wiele prac na modelach zwierzęcych wskazuje na związek między żywieniem i wzrostem w okresie perinatalnym a fenotypem i pojawieniem się zaburzeń metabolicznych w wieku dorosłym (ang. Nutritional programming). W tym zakresie prowadzone w naszej jednostce badania na modelu mysim wykazały, że niedożywienie podczas ciąży i laktacji wpływa na stopień metylacji promotora leptyny u zwierząt dorosłych i że ta metylacja jest skorelowana ze zmianami w regulacji leptyny. Otrzymane wyniki podkreślają znaczenie przedziału czasowego, w którym zachodzi stres żywieniowy matki i konsekwencje zdrowotne objawiające się w późniejszym wieku u potomstwa np. w rozwoju zespołu metabolicznego.

Część metabolomu organizmu, najczęściej badanego w płynach ustrojowych, który pochodzi bezpośrednio z trawienia i biotransformacji żywności i jej składników, jest określany jako „**food metabolome**” (metabolom pokarmowy). Różnorodność konsumowanych pokarmów zawierających tysiące składników przyczynia się do niezwyklej złożoności i zmienności „food metabolomu”. Jego analiza dostarcza cennych informacji o spożywanych pokarmach i umożliwia identyfikację zależności pomiędzy spożywanymi składnikami pokarmowymi a zdrowiem w badaniach klinicznych i epidemiologicznych. Pozwala na monitorowanie ekspozycji na dietę, uzupełniając lub nawet zastępując tradycyjne pomiary np. z pomocą wywiadu 24-godzinnego, lub kwestionariusza częstotliwości spożycia. Zastosowanie spektrometrii masowej umożliwia pomiary z wysokim poziomem szczegółowości i dokładności. Zaletą badań w zakresie food metabolomu jest również pozyskanie danych o metabolitach składników pokarmowych, co pozwala na ocenę ich biodostępności i identyfikację metabolitów bioaktywnych wynikających z ich metabolizowania. Nasza jednostka badawcza jest od wielu lat zaangażowana w badania nad food metabolomem i przyczyniła się do stworzenia internetowej bazy danych PhytoHub poświęconej składnikom roślinnym pożywienia i ich metabolitom u ludzi, zidentyfikowanych za pomocą spektrometrii mas. Różnorodność związków i brak komercyjnych standardów dla metabolitów pochodzących z tych składników żywności jest głównym ograniczeniem w rozwoju food metabolomu. Niedawno stworzona biblioteka chemiczna FoodComEx ma na celu ułatwienie dzielenia się dostępnymi w różnych laboratoriach danymi, wyizolowanymi lub syntetyzowanymi związkami i standardami.

Jakie są **perspektywy** i ograniczenia w rozwoju i zastosowaniu nutrigenomiki? Rozwój nutrigenomiki jest zależny od wielu czynników takich jak dalszy postęp w opracowaniu narzędzi analitycznych, harmonizacji analiz w różnych laboratoriach, stworzenia i utrzymania bibliotek (np. chemicznych dla metabolomu) i wspólnych repozytoriów danych. Ogromnym wyzwaniem pozwalającym na pełne wykorzystanie danych z analiz omicznych, jest ich integracja z innymi danymi: medycznymi, laboratoryjnymi i obrazowymi, o środowisku i stylu życia, w tym o żywieniu. Integracja tych danych jest zależna w dużej mierze od postępu w informatyce i bioinformatyce umożliwiającego analizę danych masowych. Niezaprzeczalnie nutrigenomika, wraz z integracją tych różnorodnych danych, pozwoli na dalsze dogłębne poznanie złożonych zależności między dietą, mechanizmami molekularnymi działania składników pokarmowych i zdrowiem. W ten sposób może przyczynić się to do lepszej oceny potrzeb żywieniowych i opracowania bardziej precyzyjnych i spersonalizowanych zaleceń żywieniowych. Niemniej, złożoność diety, trudność dokładnej oceny dietetycznej wraz ze znikomym, lecz wieloletnim wpływem odżywiania na stan zdrowia skłania też do refleksji nad racjonalnym zastosowaniem nutrigenomiki, szczególnie na szeroką skalę. Czynnikiem warunkującymi dalszy rozwój i rozpowszechnienie nutrigenomiki będą też aspekty etyczne i prawne.



## Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

### Sprawozdanie z XXXVII Spotkania naukowo-dydaktycznego

W dniu 25 kwietnia 2018 r. odbyło się w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda XXXVI 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, prof. dr Andrzejem Mazurem, absolwentem Wydziału Medycyny Weterynaryjnej (obecnego) Uniwersytetu Przyrodniczego, który nadał Mu tytuł doktora honoris causa w 2014 roku. Od 2016 roku prof. Mazur pełni funkcję dyrektora „Unite de Nutrition Humaine” INRA/Universite Clermont Auvergne (Francja). Ma w swoim dorobku ponad 200 publikacji naukowych.


O godzinie 13:00 w Auli im. Stefana Ślopka rozpoczęło się spotkanie dydaktyczno-naukowe, które otworzył przewodniczący Komisji, prof. Czesław Radzikowski. Uroczyste powitał słuchaczy (ogółem ok. 140 osób) zgromadzonych w Auli oraz w holu przed Aulą, wśród których większość stanowili uczniowie i nauczyciele z liceów nr VII, VIII i XV, ponadto byli obecni studenci, doktoranci oraz pracownicy naukowcy Instytutu. Następnie przedstawił zgromadzonym sylwetkę naukową i dorobek wykładowcy (informacja biograficzna w załączeniu).


Prof. Mazur rozpoczął wykład pt. „**Nutrigenomika – Dialog żywności z genami**” od wyjaśnienia pojęć dot. nowych technologii wielkoskalowych („-omics”). Dziedzina **nutrigenomiki** obejmuje wiele dyscyplin i obejmuje wpływ diety na stabilność genomu, zmiany epigenomu, ekspresję RNA i mikro-RNA (transkryptomika), ekspresję białka (proteomika) i zmiany poziomu metabolitów (metabolomika). Nutrigenomika przyczyniła się w dużym stopniu do zidentyfikowania i zrozumienia interakcji na poziomie molekularnym między składnikami pokarmowymi (odżywczymi i innymi składnikami bioaktywnymi) i organizmem. Nutrigenomika pozwoli na dalsze dogłębne poznanie złożonych zależności między dietą, mechanizmami molekularnymi działania składników pokarmowych i zdrowiem. W ten sposób może przyczynić się to do lepszej oceny potrzeb żywieniowych i opracowania bardziej precyzyjnych i spersonalizowanych zaleceń żywieniowych.

Wykład był bardzo interesujący i przejrzyście ilustrowany. Licznie zgromadzona młodzież z zainteresowaniem słuchała wykładu, zwracając uwagę na zagrożenia związane z dostępem firm ubezpieczeniowych do informacji o stosowanej diecie, ujawnianych na portalach społecznościowych.

Ciekawy temat sprowokował pracowników naukowych Instytutu oraz gości z Uniwersytetu Wrocławskiego do dyskusji, którą prowadzono na spotkaniu przy kawie w Sali Konferencyjnej.

W XXXVII spotkaniu uczestniczyli członkowie KPM PAU: prof. prof. J. Boratyński, A. Chełmońska-Soyta, T. Dobosz, I. Frydecka, A. Klimczak, E. Piasecki, K. Prosek, Cz. Radzikowski, W. Sokalski. Profesorowie: Paweł Kisielow, Bożena Obmińska-Mrukowicz, Małgorzata Sasiadek i Zbigniew Szewczuk usprawiedliwili swoją nieobecność.

  
Sprawozdanie przygotowała:  
Katarzyna Prosek

  
Prof. dr hab. med. Czesław Radzikowski  
Przewodniczący KPM PAU

# z a p r o s z e n i e

---

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU  
I MIASTO WROCŁAW

Zapraszają na XXXVIII otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu  
**19 września 2018 roku**

**z udziałem Prof. dra hab. Janusza Raka**

The Research Institute of the McGill University Health Centre,  
Montreal Children's Hospital, Montreal, Quebec, Kanada

Tytuł wykładu:

**„CZĘŚĆ I CAŁOŚĆ W BIOLOGII NOWOTWORÓW”**

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

---



## **Prof. dr hab. Janusz Rak** – informacja biograficzna

**Janusz Rak** jest profesorem na Wydziale Pediatrii (Full Professor) Uniwersytetu McGill w Montrealu (Kanada). Jest także kierownikiem Katedry (Jack Cole Chair) Dziecięcej Hematologii i Onkologii oraz kierownikiem Laboratorium Kancerogenezy i Angiogenezy.

Od 2009 jest również profesorem Uniwersytetu im. Masaryka w Brnie (Republika Czeska), a od 2007 doktorem habilitowanym Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej (IITD) im. L. Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu. W 2017 Janusz Rak został mianowany Członkiem Zagranicznym Polskiej Akademii Nauk.

Janusz Rak ukończył studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej we Wrocławiu (1980). Po odbyciu stażu podyplomowego (1981) rozpoczął studia doktoranckie w IITD, gdzie uzyskał stopień doktora nauk medycznych (1986) w dziedzinie onkologii eksperymentalnej. Jako stypendysta programu Fullbrighta odbył studia podoktorskie w Instytucie Fundacji Nowotworowej Stanu Michigan (Michigan Cancer Foundation) w Detroit (USA), a następnie w instytutach S. Lunenfelda oraz Sunnybrook w Toronto (Kanada). W jednostkach tych zajmował stanowisko asystenta a następnie pracownika naukowego (scientist), pracując pod kierunkiem profesora Roberta Kerbela (1993–1999).

W latach 2000–2006 Janusz Rak pracował na stanowisku profesora na Wydziale Medycznym na Uniwersytecie McMaster w Hamilton (Kanada), a następnie (od 2006) na Uniwersytecie McGill w Montrealu (Kanada), gdzie obecnie kieruje 12-osobowym zespołem badawczym.

Zainteresowania naukowe Janusza Raka dotyczą badań nad komunikacją międzykomórkową jako siłą napędową w procesie nowotworzenia. Badania te obecnie koncentrują się na roli mikropęcherzyków (*extracellular vesicles*), w tym exosomów, w regulacji procesów naczyniowych towarzyszących nowotworzeniu, takich jak angiogeneza, aktywacja układu krzepnięcia oraz ich biologicznych następstw, w tym regulacji biologicznej komórek drzemiących (*dormant cells*), inicjujących (*stem cells*) oraz inwazyjności złośliwych nowotworów mózgu.

Janusz Rak wniósł do badań swoje koncepcje onkogennej kontroli procesów formowania unaczynionego podścieliska nowotworowego (stroma), w tym regulacji czynników angiogennych (1995). Badania te uwidoczniły również rolę komórek śródbłonna w regulacji zachowania komórek nowotworowych (1994), rolę onkogenów w nowotworowej zakrzepicy (2005). Wykazał również zjawisko międzykomórkowego rozprzestrzeniania onkogennych białek jako części składowej nowotworowych mikropęcherzyków (2008), w tym ich zdolność do międzykomórkowej transmisji onkogennego DNA (2016). Kontynuacja tych badań wykazała związki pomiędzy podtypami molekularnymi nowotworów mózgu i regulacją czynników angiogennych, krzepnięcia, oraz mikropęcherzyków, jak również ich rolę w procesie nowotworzenia (2014). Zainteresowania koncentrują się także na badaniu roli oddziaływań międzykomórkowych z udziałem mikropęcherzyków w biologii komórek inicjujących glejaka (*glioma stem cells*) oraz w odpowiedzi tych komórek na leki przeciwnowotworowe (2018).

Janusz Rak jest autorem lub współautorem 155 prac naukowych i 3 patentów, jest też recenzentem prac naukowych, członkiem komisji grantowych i kolegów redakcyjnych szeregu czasopism. Jego program badawczy jest sponsorowany przez szereg Kanadyjskich fundacji (CIHR, CCSRI, FRSQ, Cole Foundation), w tym prestiżowego programu Foundation Grant. Współpracuje z siecią placówek naukowych w różnych krajach, w tym także z Instytutem L. Hirszfelda we Wrocławiu i kieruje rozwojem naukowym wielu doktorantów, stażystów podoktorskich oraz personelu technicznego. Jest również członkiem specjalistycznych towarzystw naukowych (ISEV, AACR, SNO, ASH).

## WYBRANE PUBLIKACJE

Spinelli C., Montermini L., Meehan B., Brisson A., Choi D., Nakano I. and **Rak J.** (2018, in press). Molecular subtypes and differentiation programs of glioma stem cells as determinants of extracellular vesicle profiles and endothelial cell stimulating activities. **Journal of Extracellular Vesicles (JEV).**

Choi D., Montermini L., Kim D-K., Meehan B., Roth F.P. and **Rak J.** (2018, in press). The impact of oncogenic EGFRvIII on the proteome of extracellular vesicles released from glioblastoma cells. **Molecular and Cellular Proteomics (MCP).**

Chennakrishnaiah S., Meehan B., D'Asti E., Montermini L., Lee T-H., Karatzas N., Buchanan M., Tawil N., Choi D., Divangahi M., Basik M. and **Rak J.** (2018, in press). Leukocytes as a reservoir of circulating oncogenic DNA and regulatory targets of tumor-derived extracellular vesicles. **J. of Thrombosis and Haemostasis (JTH).**

Tawil N.\*, Chennakrishnaiah S.\*, Bassawon R.\*, Johnson R., D'Asti E.\* and **Rak J.** (2018). Single cell coagulomes as constituents of the oncogene-driven coagulant phenotype in brain tumours. **Thrombosis Research (TR).** 164 Suppl 1:S136-S142.

Garnier D., Meehan B., Kislinger T., Daniel P., Sinha A., Abdulkarim B., Nakano I. and **Rak J.** (2018). Divergent evolution of temozolomide resistance in glioblastoma stem cells is reflected in extracellular vesicles and coupled with radiosensitization. **Neuro-Oncology (N-O).** 20(2):236-248.

Choi D., Lee T-H., Spinelli C., Chennakrishnaiah S., D'Asti E. and **Rak J.** (2017). Extracellular vesicle communication pathways as regulatory targets of oncogenic transformation. **Seminars in Cell and Developmental Biology (SCDB).** 67:11-22.

Lee T-H., Chennakrishnaiah S., Meehan B., Montermini L., Garnier D., D'Asti E., Hou W., Magnus N., Gayden T., Jabado N., Eppert K., Majewska L. and **Rak J.** (2016). Barriers to horizontal cell transformation by extracellular vesicles containing oncogenic H-ras. **Oncotarget (OT).** 7(32):51991-52002. doi: 10.18632/oncotarget.10627.

D'Asti E., Huang A., Kool M., Meehan B.\*\*., Chan J.A., Jabado N., Korshunov A., Pfister S.M. and **Rak J.** (2016). Tissue factor regulation by microRNA-520g in primitive neuronal brain tumour cells- a possible link between oncogenic microRNA and the vascular tumour microenvironment. **American Journal of Pathology (AJP).** 186(2):446-59.

**Rak J.** (2015). Organ-seeking vesicles. **Nature.** 527(7578):312-4.

Montermini L.\*\*., Meehan B.\*\*., Garnier D.\*, Lee W.J.\*, Lee T-H.\*, Al-Nedawi K. and **Rak J.** (2015). Pharmacological blockade of epidermal growth factor receptor activity triggers release of exosome-like extracellular vesicles containing target oncoprotein and genomic DNA. **Journal of Biological Chemistry (JBC).** 290(40):24534-46.

Das J., Ivanov I., Montermini L.\*\*., **Rak J.**, Sargent E.H. and Kelley S.O. (2015). An electrochemical clamp assay for direct, rapid analysis of circulating nucleic acids in serum. **Nature Chemistry.** 7(7):569-75.

Lee T-H.\*, Chennakrishnaiah S.\*, Audemard E., Montermini L.\*\*, Meehan B.\*\* and **Rak J.** (2014). Oncogenic ras-driven cancer cell vesiculation leads to emission of double-stranded DNA capable of interacting with target cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications (BBRC).** 451(2):295-301.

Magnus N.\*, Garnier D.\*, Meehan B.\*\*., McGraw S., Lee T-H., Caron M., Bourque G., Milsom C., Jabado N., Trasler J., Pawlinski R., Mackman N. and **Rak J.** (2014). Tissue factor expression modulates gliomagenesis, provokes escape from tumor dormancy and leads to genomic alterations. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA (PNAS).** 111(9):3544-9; recommended by Faculty 1000.

Magnus N.\*, Gerges N., Jabado N. and **Rak J.** (2013). Coagulation gene expression profile in glioblastoma is defined by molecular subtypes. **J. of Thrombosis and Hemostasis (JTH).** 11(6):1197-2000 - recommended by Faculty 1000.



Lu J., Ye X., Fan F., Xia L., Bhattacharya R., Tozzi F., Sceusi E., Zhou Y., Tachibana I., Hawke D.H., **Rak J.**, Mani S., Zweidler-McKay P., Ellis L.M. (2013). Endothelial Cells Promote the Colorectal Cancer Stem Cell Phenotype Through a Soluble Form of Jagged-1. **Cancer Cell**. 23:1-15.

Garnier D.\*, Magnus N.\*, Lee T-H.\*, Bentley V.\*, Meehan B.\*\*\*, Milsom C., Montermini L., Kislinger T., **Rak J.** (2012). Cancer cells induced to express mesenchymal phenotype release exosome-like extracellular vesicles carrying tissue factor. **J. Biol. Chem.** 287(52):43565-72.

Magnus N.\*, Garnier D.\* and **Rak J.** (2010). Oncogenic epidermal growth factor receptor up-regulates multiple elements of the tissue factor signaling pathway in human glioma cells. **Blood**. 116(5):815-818.

Milsom C.\*, Magnus N.\*, Meehan B., Al-Nedawi K., Garnier D. and **Rak J.** (2009). Tissue Factor and Cancer Stem Cells – Is There a Linkage. **Arterioscl Thromb. Vasc Biol (ATVB)**. 29:2005-14.

Al-Nedawi K.\*, Meehan B.\*\*\*, Allison A.C. and **Rak J.** (2009). Endothelial expression of autocrine VEGF upon the uptake of tumor-derived microvesicles containing oncogenic EGFR. **Proceedings of the Natl Acad. of Sci, USA (PNAS)**. 106:3794-3799; Media coverage (The Gazette).

Al-Nedawi K.\*, Meehan B., Micallef J., Lhotak V.\*, May L.\*\*\*, Guha A. and **Rak J.** (2008). Intercellular transfer of the oncogenic EGFRvIII *via* tumor cell derived microvesicles. **Nature Cell Biology**. 10, 5: 619-624- Editorialized, media coverage.

**Rak J.** (2006). Is cancer stem cell a cell, or a multicellular unit capable of inducing angiogenesis. **Medical Hypotheses**. 66: 601-4.

Kalas W.\*, Yu J.L.\*, Rosenfeld J., Benzra R., Bornstein P. and **Rak J.** (2005). Oncogenes and angiogenesis. Downregulation of thrombospondin 1 in normal fibroblasts exposed to factors from cancer cells harboring mutant ras. **Cancer Res**. 65: 8878-8886.

Yu J.L.\*, May L.\*\*\*, Lhotak V.\*, Shahrzad S., Shirasawa S., Weitz J.I., Coomber B., Mackman N. and **Rak J.** (2005). Oncogenic events regulate tissue factor expression in colorectal cancer cells: Implications for tumor progression and angiogenesis. **Blood**. 105: 1734-174 - with cover image.

Yu J.L.\* and **Rak J.** (2004). Shedding of tissue factor (TF)-containing microparticles rather than alternatively spliced TF is the main source of TF activity released from human cancer cells. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**. 11:2065-7.

Viloria-Petit A.\*\*\*, Miguero L., Gertsenstein M., Yu J.\*, Sheehan C., May L.\*\*\*, Lobe C., Nagy A., Kerbel R.S. and **Rak J.** (2003). Contrasting effects of VEGF gene disruption in embryonic stem cell-derived teratomas versus adult fibrosarcoma cells. **EMBO J**. 22, 16: 4091-4102.

Yu J.\*\*\*, **Rak J.**, Coomber B., Hicklin D., Kerbel R.S. (2002). Effect of *p53* status on tumor response to anti-angiogenic therapy. **Science**. 295: 1526-1528.

**Rak J.**, Mitsuhashi Y., Bayko L., Filmus J., Shirasawa S., Sasazuki T., Kerbel R.S. (1995). Mutant ras oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: Implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis. **Cancer Res**. 55: 4575-4580.

**Rak J.**, Hegmann E., Lu C., Kerbel R.S. (1994). Progressive loss of sensitivity to endothelium-derived growth inhibitors expressed by human melanoma cells during disease progression. **J. Cell. Physiol**. 159: 245-255.

**Prof. dr hab. Janusz Rak**

Streszczenie wykładu: **CZEŚĆ I CAŁOŚĆ W BIOLOGII NOWOTWORÓW**

„Część i całość” jest parafrazą tytułu książki Wernera Heisenberga, jednego z najbardziej wpływowych i - z wielu względów - kontrowersyjnych postaci w nauce dwudziestego wieku. W książce tej rozważane są zmagania umysłu ludzkiego (fizyki) ze światem materii, jej prostotą i złożonością, oraz sposobami ich poznania<sup>1</sup>. Choć to odległa analogia, role przypisywane ideom, obserwacji i technologii w nauce wydają się również niezwykle ważne w badaniach przyrodniczych, w tym w zmaganiach medycyny z brzemieniem chorób nowotworowych.

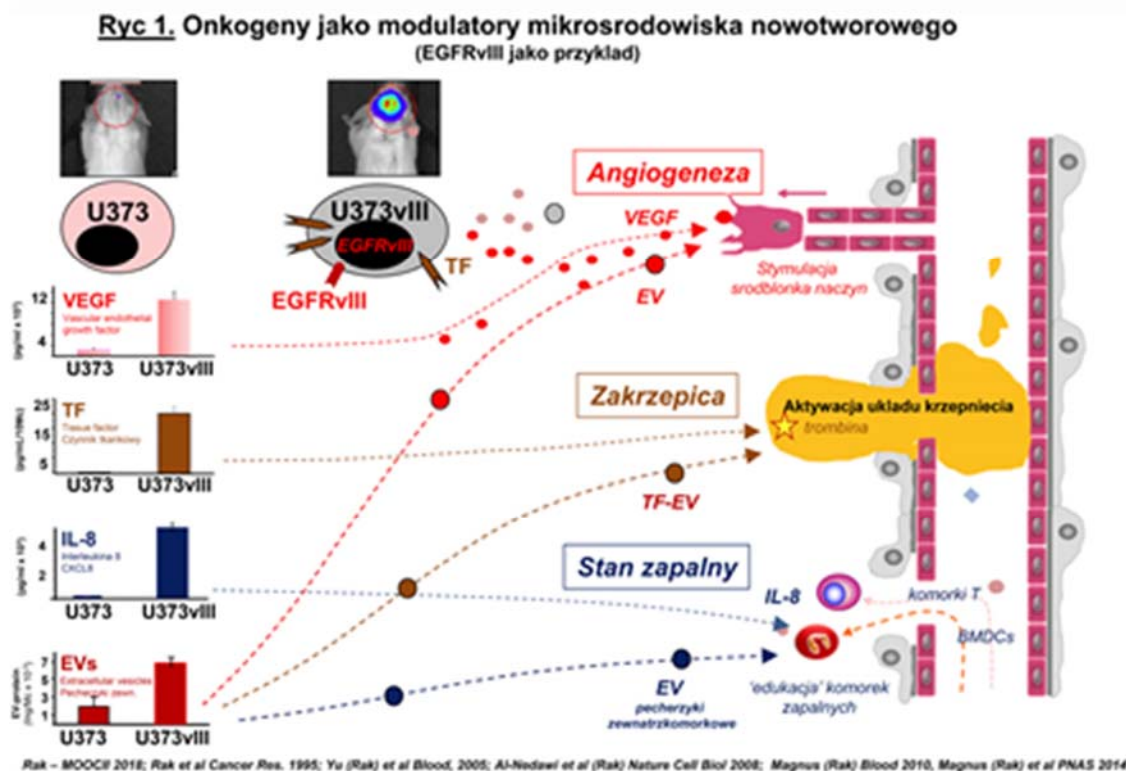
Technologia jest ogromną siłą w rozwiązywaniu medycznych zagadek i, co najważniejsze, w przywracaniu ludzkiego zdrowia i nadziei. A jednak, można argumentować, jest to warunek konieczny, ale niewystarczający, jak instrument bez partytury. Dlaczego przy obecnym poziomie zrozumienia czynników genetycznych, sekwencjonowania genomu w pojedynczych komórkach, ogromnego potencjału komputerowej analizy danych z użyciem sztucznej inteligencji, fenomenalnego postępu immunoterapii oraz trwałych sukcesów w stosowaniu leków celowanych i antyangiogennych niektóre typy nowotworów stały się uleczalne, a inne nie? Dlaczego nie potrafimy sobie poradzić z nowotworami płuc, trzustki czy mózgu? Może po prostu nie potrafimy ich jeszcze zrozumieć albo nie zadajemy właściwych pytań?

W przełomach medycznych często odgrywa rolę intuicja, przypadek lub oparty na fragmentarycznej wiedzy szczęśliwy zbieg okoliczności. Dodają one smaku badaniom naukowym, ale nie są ich celem. W badaniach nad nowotworami celem jest znalezienie mechanizmu biologicznego (programu lub algorytmu), który byłby na tyle specyficzny i niezastąpiony, że jego uszkodzenie spowodowałoby załamanie się procesu nowotworzenia (wyleczenie), i na tyle prosty żeby dało się go uszkodzić dostępnymi metodami. Takim mechanizmem jest, na przykład, zależność raków nerki od naczyń krwionośnych, blokada odpowiedzi immunologicznej w niektórych formach czerniaka lub uzależnienie komórek przewlekłych białaczek szpikowych od niektórych zmutowanych białek transformujących takich jak BCR-ABL. Skuteczność leków takich jak sunitinib, bevacizumab, nivolumab, czy imatinib symbolizuje, często nieoczekiwane, przypadki odnalezienia takich kluczowych mechanizmów i wrażliwych na terapię elementów w patologii niektórych (niestety nie wszystkich) chorób nowotworowych. Jak sprawić, żeby postęp w tej dziedzinie oparty był na mocniejszych podstawach koncepcyjnych, i przez to był bardziej uniwersalny, przewidywalny, podatny na naukową ekstrapolację (tak jak lot kosmiczny w nieznaną czy konstrukcja nowego drapacza chmur).

Wśród wielu teorii, które usiłowały wyjaśnić proces nowotworowy szczególne znaczenie ma, dziś powszechnie zaakceptowana, koncepcja onkogenów<sup>2</sup>. To mutacyjne lub regulacyjne (epigenetyczne) zaburzenia w funkcji niektórych genów miałyby przekształcać je w siłę napędzającą raka (*driver genes*), a ich komórkowe siedlisko w komórki rakowe. Działyby się tak albo poprzez nabycie właściwości stymulujących niekontrolowany wzrost (onkogeny), lub przez utratę fizjologicznej aktywności przeciwwzrostowej (geny supresorowe). Od czasu krystalizacji tej koncepcji w latach 1970-tych, wyróżnienia jej Nagrodą Nobla (1989) i późniejszego zawrotnego rozwoju wywarła ona ogromny wpływ na rozumienie, diagnozowanie i leczenie chorób nowotworowych. Sugerowała przy tym, że nowotworzenie daje się sprowadzić do autonomicznego i, w zasadzie, wewnątrzkomórkowego zaburzenia biochemicznego, które można precyzyjnie zdefiniować w ramach istniejących szlaków

sygnalizacyjnych, i farmakologicznie skorygować, lub wykorzystać do unicestwienia zmutowanych komórek. Onkogeny takie jak BCR-ABL, RAS, BRAF, EGFR, HER2, MET zostały obszernie zbadane i dziś niektóre z nich dają się skutecznie neutralizować lekami celowanymi. Leki te stały się podstawą terapii w niektórych białaczkach, czerniakach, rakach gruczołu piersiowego, jelita i innych typach nowotworzenia. A jednak, nie wszystko idzie według planu.

Glejak wielopostaciowy (*glioblastoma multiforme* – GBM) jest jednym z najlepiej scharakteryzowanych nowotworów ludzkich, który najczęściej pojawia się nagle i w około 30% przypadków zawiera transformujące mutacje receptora naskórkowego czynnika wzrostu wariantu trzeciego (EGFRvIII), który wydawałby się niemal idealnym celem terapeutycznym. Białko to jest silnie transformujące, nie występuje w normalnych komórkach i nie ma fizjologicznej roli, jest też immunogenne (zdolne do wywołania odpowiedzi odpornościowej) i stymuluje angiogenezę (wzrost naczyń krwionośnych). Pomimo to GBM nie odpowiada trwale ani na leki celowane, które skutecznie blokują EGFRvIII, ani na szczepionki przeciwko temu białku ani na żadne formy terapii celowanej, immunologicznej, chemicznej czy antyangiogennej<sup>3</sup>. Przyczyna takiego stanu rzeczy jest nieznaną. Wydaje się jednak, że patogeneza GBM nie daje się zamknąć w ramach wewnątrzkomórkowej transformacji takim czy innym zmutowanym onkogenem i jest w niej coś dodatkowego, coś, czego jeszcze nie rozumiemy i czemu nie umiemy się przeciwstawić.



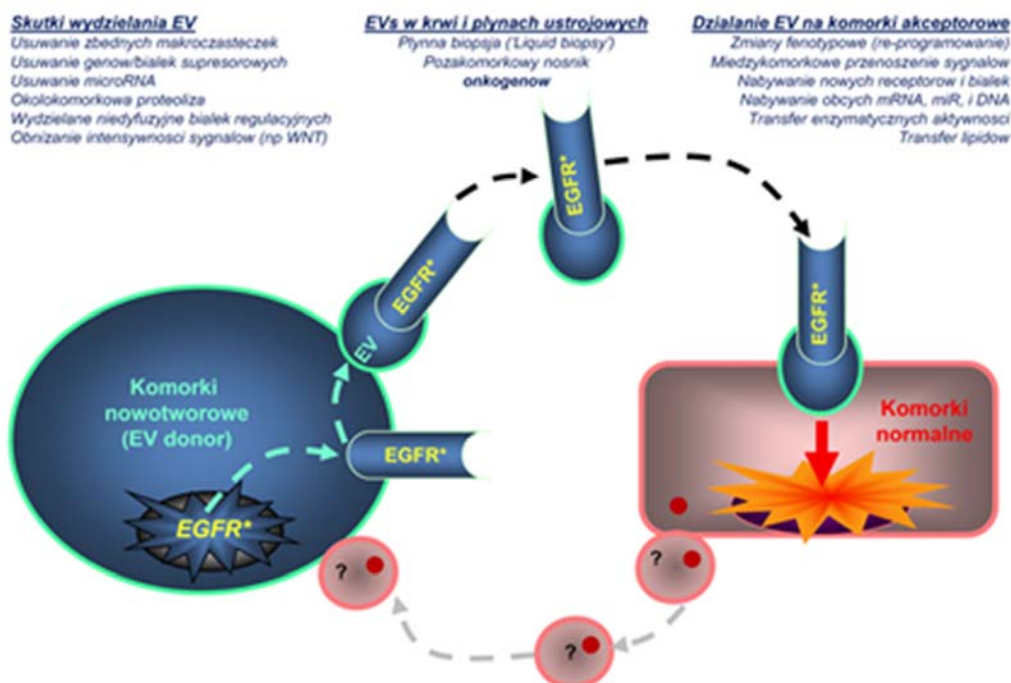
Badania wykazują, że GBM funkcjonuje nie jako zbiór autonomicznych zmutowanych komórek, nosicieli onkogenów, ale jako ich zorganizowany i wysoce zróżnicowany zespół. W tym przypadku działanie onkogenów nie tylko zmienia procesy wewnątrzkomórkowe, ale również interakcje między populacjami komórek nowotworowych, jak również ich relacje z komórkami normalnymi, śródbłonkiem naczyń, komórkami podścieliska, układu immunologicznego, elementami układu krzepnięcia krwi i innymi regulatorami ogólnej homeostazy, które w ten sposób wciągane są w „wir”

procesu nowotworzenia (Ryc. 1). Tworzy się wielokomórkowa sieć, lub jednostka górotwórcza zależna od komunikacji między jej częściami składowymi<sup>4</sup>. Chociaż podobnie mogą funkcjonować również inne typy nieuleczalnych obecnie nowotworów, np. rak trzustki, leczenie oparte na rozrywaniu sieci interakcji międzykomórkowych do niedawna nie było przedmiotem większego zainteresowania.

Wiele przykładów przemawia za istnieniem „sieci komórkowych” w nowotworach. Od dawna wiadomo, że onkogeny, np. RAS, EGFR, EGFRvIII prowokują produkcję czynników modulujących naczynia krwionośne (VEGF), które z kolei wydzielają substancje modulujące komórki rakowe. Komórki podścieliska dostarczają czynników (SHH) niezbędnych do pełnej aktywacji sygnałów emanujących ze zmutowanego białka RAS w komórkach raka trzustki. W GBM populacje komórkowe zawierające onkogen EGFRvIII podtrzymują wzrost komórek nieposiadających takich mutacji, prowadząc do kolektywnego wzrostu obydwu elementów guza. Co więcej, komórki niektórych podtypów GBM tworzą fizyczne połączenia, mikroskopijne kanały (*tumour microtubes* – TM), za pomocą których komórki nowotworowe przekazują sobie informacje i wspomagają wzajemne przeżycie i zbiorową ekspansję. Nowotworowe komórki macierzyste w GBM (*glioma stem cells* - GSCs) i w innych nowotworach mogą pozostawać w stanie liczbowej równowagi z ich bardziej zróżnicowanymi komórkami potomnymi poprzez wydzielanie substancji regulujących zachowania zespołowe (VGF, BDNF, WNT). Kompozycja komórkowa leży również u podstaw molekularnych podtypów GBM (*PN - proneural, NEU - neural, MES - mesenchymal and CL- classical*)<sup>5</sup>, sugerując wysoki stopień koordynacji pomiędzy elementami składowymi. Choć komórki nowotworowe wydają się działać grupowo, obecne terapie traktują je tak jakby to były byty indywidualne. Ażeby to zmienić należy poznać sposoby komunikacji międzykomórkowej.

Wymiana informacji molekularnej między komórkami nowotworowymi oraz między nimi i otoczeniem może sięgać nadspodziewanie głęboko<sup>6</sup>. Białka onkogenne, takie jak EGFRvIII oraz kodujące je kwasy nukleinowe (RNA, DNA), długo były uważane za integralne części komórek, zamknięte i działające wyłącznie w ich wnętrzu. Okazuje się jednak, że onkogeny mogą być uwalniane z komórek nowotworowych i przenikać do innych komórek wywołując zjawiska podobne do złośliwienia<sup>7</sup>. Dzieje się tak za przyczyną mechanizmu polegającego na tworzeniu przez błony komórkowe mikroskopijnych pęcherzyków, które mogą zawierać zdumiewające bogactwo materiału komórkowego, w tym aktywne onkogeny. Istnieje wiele odmian tych tzw. pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (*extracellular vesicles* – EV), które w zależności od procesu ich powstawania, wielkości i innych właściwości określa się różnymi terminami (*exosomes, ectosomes, microvesicles, microparticles, oncosomes*)<sup>8</sup>. Istotną właściwością tego procesu jest nie tylko obecność onkogenów wewnątrz EV, ale również to, że mechanizm ich powstawania, skład białkowy i kwasów nukleinowych, repertuar populacji EV produkowanych przez dany typ komórek, ich zdolność do penetracji do wnętrza komórek, z którym oddziałują w mikrośrodkowisku, oraz związana z tym aktywność biologiczna ulegają zmianom pod wpływem transformacji onkogennej. Właściwości te zmieniają się również w wyniku zmian fenotypowych, takich jak różnicowanie komórek macierzystych nowotworu (np. GSCs) lub nabywanie właściwości mezenchymalnych (EMT) w guzach inwazyjnych. EV wprowadzają „program” nowotworowy do komórek śródbłonkowych (edukują je) w procesie angiogenezy, oraz uczestniczą w innych formach oddziaływań międzykomórkowych związanych z nowotworzeniem. Uważa się również, że odgrywają one kluczową rolę w „przygotowywaniu” całego organizmu i poszczególnych narządów do nieuchronnego uogólnionego rozsiewu nowotworowego, który znamionuje końcową fazę choroby<sup>9,10</sup>.

## Ryc. 2. Komunikacja międzykomorkowa i transfer onkogenów z udziałem pecherzyków zewnątrzkomorkowych (EV)



Transmisja onkogenów między komórkami jest jednym z najbardziej fascynujących i kontrowersyjnych właściwości EV (Ryc. 2). Jakkolwiek wprowadzenie tą drogą białek onkogennych, takich jak EGFRvIII, do mniej zmutowanych lub normalnych komórek (akceptorowych) wywołuje dobrze udokumentowane objawy fenotypowego „uzłośliwienia”, zmiany te mają najczęściej charakter przejściowy w związku ze stopniową degradacją białek transformujących w obcym środowisku komórkowym. Jednakże, wykrycie w latach 2013–2014 obecności onkogenicznie zmutowanych sekwencji DNA we wnętrzu nowotworowych EV zrodziło podejrzenie, że materiał ten może na trwałe wbudowywać się do genomu komórek akceptorowych powodując zjawisko ich horyzontalnej (poziomej) transformacji. Miałoby to polegać na tym, że o ile zmutowane geny zwykle przekazywane są jedynie do komórek potomnych, w wyniku podziałów komórkowych, a więc „pionowo”, EV mogą służyć do przepływu tych mutacji pomiędzy sąsiadującymi niezależnymi klonami komórkowymi („poziomo”). Istnienie takiego procesu podważyłoby wiele uznanych poglądów i wstrząsnęło podstawami biologii nowotworów, na przykład w kwestii istoty przerzutowania. Jakkolwiek badania eksperymentalne nie potwierdziły trwałego i zachodzącego na dużą skalę przekazywania genów transformujących pomiędzy komórkami produkującymi i akceptującymi onkogeniczne EV <sup>11</sup>, nie można wykluczyć, że oddziaływanie pęcherzyków z licznymi populacjami komórek może prowadzić do progresji genetycznej i nowotworzenia w sposób bardziej ograniczony lub pośredni.

Należy dodać, że cechy mikrośrodowiska, w tym obecność EV i innych form oddziaływań międzykomórkowych, mogą odgrywać ważną rolę w progresywnych zmianach na poziomie genetycznym i epigenetycznym samych komórek nowotworowych. Przykładem tego jest chroniczna aktywacja układu krzepnięcia krwi, który jest częścią programu tkankowego gojenia, w tym procesów

zapalnych i regeneracyjnych. Stymulowanie tego procesu poprzez chroniczną ekspresję tzw. czynnika tkankowego (*tissue factor* – TF/F3) na powierzchni komórek nowotworowych o łagodnym fenotypie prowadzi do ich progresywnego zezłóśliwienia i głębokich zmian w metylacji ich DNA<sup>12</sup>. Jednym z nośników czynnika tkankowego w organizmie są EV.

Zainteresowanie biologią EV jest obecnie ogromne, a ich rola jako krążących we krwi nośników informacji genetycznej reprezentującej nowotwór, często niedostępny bezpośrednio badaniu (*liquid biopsy*), została już do pewnego stopnia zaakceptowana w badaniach i praktyce klinicznej. EV badane są również jako potencjalne nośniki leków obdarzone wyjątkową zdolnością do penetracji tkanek i komórek docelowych, w tym nowotworowych. A jednak, ich właściwości jako biologicznego łącznika pomiędzy komórkami nowotworowymi i otaczającymi tkankami są znacznie mniej zrozumiane, bardziej złożone i nie poddają się jeszcze leczniczej interwencji. Jest to wyzwanie naukowe, jak również przykład na istnienie szerszego widnokręgu w złożoności biologicznej procesu nowotworzenia, nie jako kolekcji identycznych komórek ale jako zaburzenia w homeostazie tkankowej o zasięgu większym niż sugerują jego części składowe, procesu wymagającego nowych paradygmatów i form terapii. Część i całość w tym procesie nadal oczekują na właściwe dla siebie miejsce.

1. Heisenberg, W. *Der Teil Und Das Ganze: Gespräche im Umkreis der Atomphysik*. ISBN8306015126 PWN (1987);
2. Bishop, J. M. *Cancer: the rise of the genetic paradigm*. *Genes & development* 9, 1309-1315 (1995);
3. Reifenberger, G., Wirsching, H. G., Knobbe-Thomsen, C. B. & Weller, M. *Advances in the molecular genetics of gliomas - implications for classification and therapy*. *Nature reviews. Clinical oncology* 14, 434-452 (2017);
4. Rak, J. *Is cancer stem cell a cell, or a multicellular unit capable of inducing angiogenesis?* *Med. Hypotheses* 66, 601-604 (2006);
5. Patel, A. P. et al. *Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma*. *Science (New York, N.Y.)*, 1396-1401 (2014);
6. Rak, J. *Extracellular vesicles - biomarkers and effectors of the cellular interactome in cancer*. *Front Pharmacol* 4:21 (2013);
7. Al-Nedawi, K. et al. *Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells*. *Nat. Cell Biol* 10, 619-624 (2008);
8. van Niel, G., D'Angelo, G. & Raposo, G. *Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles*. *Nature reviews. Molecular cell biology*.125 (2018);
9. Peinado, H. et al. *Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases*. *Nature reviews. Cancer* 17, 302-317, (2017);
10. Rak, J. *Cancer: Organ-seeking vesicles*. *Nature* 312-314 (2015); 11. Lee, T. H. et al. *Barriers to horizontal cell transformation by extracellular vesicles containing oncogenic H-ras*. *Oncotarget* 7, 51991-52002, (2016);
11. Magnus, N. et al. *Tissue factor expression provokes escape from tumor dormancy and leads to genomic alterations*. *Proc. Natl. Acad Sci U S. A* 111, 3544-3549 (2014).



## **Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu**

**Spotkanie z prof. dr hab. med. Januszem Rakiem  
z okazji przyznania mu zaszczytnego tytułu członka zagranicznego PAN**

**19 września 2018 r.**

11.45 - 12.55 (sala Rady Naukowej)

Spotkanie Dyrektora Instytutu, dr hab. Jacka Rybki oraz Przewodniczącego Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU, prof. dr hab. med. Czesława Radzikowskiego z prof. dr hab. med. Januszem Rakiem i zaproszonymi członkami Dyrekcji, Rady Naukowej Instytutu oraz Dyrektorem i współpracownikami Biura Współpracy z Uczelniami Wyższymi Urzędu Miasta Wrocławia (lista obecnych gości podana niżej).

W czasie spotkania Dyrektor uroczyście przywitał profesora Janusza Raka, który po zakończeniu studiów na Akademii Medycznej im Piastów Śląskich we Wrocławiu pracował w latach 1981 - 1988 na stanowisku asystenta w Zakładzie Immunologii Nowotworów Instytutu. Podczas wieloletniego pobytu za granicą utrzymywał kontakty naukowe z Instytutem, a także z innymi ośrodkami w kraju. Rada Naukowa naszego Instytutu, oceniając wysoko Jego osiągnięcia naukowe, wystąpiła z wnioskiem o uhonorowanie prof. Janusza Raka zaszczytnym tytułem członka zagranicznego PAN.

Na życzenie Dyrektora Instytutu, prof. Czesław Radzikowski przywitał przybyłych gości, zapraszając obecnych do korzystania z przygotowanego poczęstunku. Jako były kierownik Zakładu Immunologii Nowotworów i promotor dysertacji doktorskiej Janusza Raka przedstawił Jego krótką charakterystykę jako wyróżniającego się młodego naukowca z medycznym przygotowaniem, który włączając się do pracy zespołu Zakładu (nie medycznego) odgrywał znaczącą, komplementarną rolę. Ujawnił swoje szerokie zainteresowania i zdolności do badań naukowych, a także łatwość nie tylko dyskusji ale i opanowania warsztatu badań prowadzonych w onkologii doświadczalnej. Aktywnie włączył się w bieżące badania prowadzone przez zespół Zakładu. Wykazał także swoją zdolność formułowania śmiałych hipotez, których weryfikacja sprawdzana była w programowanych doświadczeniach.

Dyrektor Biura Współpracy z Uczelniami Wyższymi, Tomasz Janoś w swym wystąpieniu ocenił pracę Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU, która powstała z inspiracji Prezydenta Miasta Rafała Dutkiewicza w porozumieniu z Prezesem PAU, prof. Andrzejem Białasem i z powodzeniem realizuje swe działanie od roku 2009. Podkreślił, że prof. Janusz Rak był wykładowcą na pierwszym Spotkaniu Komisji, wzbudzając swym ciekawym



## **Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu**

wykładem duże zainteresowanie. Zapewnił także, że dołoży starań organizacyjnych dla zapewnienia ciągłości pracy Komisji w przyszłym roku i następnych latach po zmianie Władz Miasta.

Na zaproszenie prof. Czesława Radzikowskiego, prof. Leon Strządała wspomniał o początkach wspólnej pracy z Januszem Rakiem, wówczas jego młodszym kolegą w Zakładzie Immunologii Nowotworów oraz dr hab. Wojciech Kałas, który studium podoktorskie odbył pod kierunkiem prof. Janusza Raka w Kanadzie.

Obecni na spotkaniu:

Przedstawiciele Dyrekcji i Rady Naukowej Instytutu: prof. prof. Jacek Rybka, Czesław Ługowski i Danuta Witkowska;

Przedstawiciele BWzUW Urzędu Miasta: prof. Tadeusz Luty, Tomasz Janoś i Monika Sochacka;

Członkowie KPM PAU: prof. prof. Janusz Boratyński, Paweł Kisielow, Andrzej Sokalski, Zbigniew Szewczuk;

Goście: prof. prof. Leon Strządała, Wojciech Kałas, Andrzej Rapak, studentka Ewa Frąckiewicz.

Po uroczystości wszyscy uczestnicy przeszli do Auli im. Stefana Śłopka, wysłuchać wykładu prof. dra hab. Janusza Raka w ramach XXXVIII Spotkania dydaktyczno-naukowego Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU.

**Prof. dr hab. Czesław Radzikowski**  
**Przewodniczący**  
**Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU**



## Zdjęcia - spotkanie przed wykładem









## Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

### Sprawozdanie z XXXVIII Spotkania dydaktyczno-naukowego

W dniu 19 września 2018 r. w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirsztfelda PAN odbyło się XXXVIII Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU w Wrocławiu. Zaproszonym wykładowcą był prof. dr hab. med. Janusz Rak, który przedstawił swój kolejny wykład na Spotkaniach naszej Komisji. Jego pierwszy wykład pt. „Myśli, które leczą – refleksje nad postępowaniem w racjonalnej terapii przeciwnowotworowej”, przedstawił na pierwszym Spotkaniu naszej Komisji, które odbyło się 29 września 2009 roku, czyli 9 lat temu. Drugi wykład pt. „Nowotwór jako następstwo zaburzeń harmonii oddziaływań międzykomórkowych” przedstawił 9 października 2012 r. na XIII Spotkaniu.

Z okazji przyznania prof. dr hab. med. Januszowi Rakowi w bieżącym roku zaszczytnego tytułu członka zagranicznego PAN, przed wykładem w sali Rady Naukowej odbyło się spotkanie Dyrektora Instytutu, dr hab. Jacka Rybki oraz Przewodniczącego Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU, prof. dr hab. med. Czesława Radzikowskiego z Wykładowcą i zaproszonymi członkami Dyrekcji, Rady Naukowej Instytutu oraz Dyrektorem i współpracownikami Biura Współpracy z Uczelniami Wyższymi Urzędu Miasta Wrocławia.

Spotkanie dydaktyczno-naukowe otworzył o godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Śłopka przewodniczący Komisji prof. Czesław Radzikowski. Oficjalnie powitał wykładowcę, przybyłych uczestników uroczystości oraz wszystkich licznie przybyłych słuchaczy (około 170 osób), w tym 125 uczniów IV, X i XV liceum przybyłych wraz z ich pedagogami.

Następnie przedstawił sylwetkę profesora Janusza Raka, który ukończył studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej we Wrocławiu w 1980 roku. Pracę w naszym Instytucie rozpoczął w 1981 roku a po 5 latach uzyskał stopień doktora medycyny, pracując w Zakładzie Immunologii Nowotworów. Od roku 1988 pracuje za granicą, rozpoczynając od stażu podoktorskiego w USA, następnie pracował w swojej dziedzinie badań w różnych ośrodkach onkologicznych w USA i Kanadzie. Aktualnie pełni obowiązki profesora na Wydziale Pediatrii Uniwersytetu McGill w Montrealu, kierując Katedrą Hematologii i Onkologii oraz Laboratorium Kancerogenezy i Angiogenezy. W roku 2007 uzyskał stopień naukowy doktora habilitowanego w naszym Instytucie.

Zainteresowania naukowe prof. Janusza Raka w dziedzinie onkologii dotyczą badań nad mechanizmem progresywnego wzrostu nowotworowego i procesu przerzutowania, w szczególności nad komunikacją międzykomórkową jako siłą napędową procesu nowotworzenia. Szczególną uwagę poświęca roli mikropęcherzyków (*extracellular vesicles*), w tym eksosomów w regulacji procesów naczyniowych, jak tworzenie naczyń (angiogeneza),



## Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

aktywacja procesu krzepnięcia i ich biologicznych następstw, w tym regulacji różnych subpopulacji komórek nowotworowych od drzemiących, inicjujących i agresywnych. Jest autorem wielu wysoko ocenianych publikacji naukowych, kilku patentów, recenzentem prac naukowych, członkiem komisji grantowych i kolegów redakcyjnych specjalistycznych czasopism naukowych.

O godzinie 13.15 rozpoczął się wykład pt. „**Część i całość w biologii nowotworów**”. Jak wyjaśnił Wykładowca, tytuł jest parafrazą tytułu książki Wernera Heisenberga, sławnej i wpływowej, choć kontrowersyjnej postaci w nauce XX wieku. Autor ten, fizyk, w swym dziele rozważa zmaganie umysłu ludzkiego ze światem materii, jej prostotą i złożonością oraz sposobem jej poznawania. Rola przypisywana ideom, obserwacji i technologii w nauce, wydaje się także ważna w badaniach przyrodniczych, w tym w zmaganiach medycyny z brzemieniem chorób nowotworowych.

W bogato ilustrowanym przeźroczym wykładzie prof. Rak podkreślił, że wśród wielu teorii wyjaśniających istotę procesu nowotworowego akceptowana powszechnie jest koncepcja onkogenów. Dużo uwagi poświęcił badaniom nad nowotworem mózgu – glejakiem wielopostaciowym, w którym w 30% przypadków wykazuje obecność transformującej mutacji receptora naskórkowego czynnika wzrostu, jego wariantu trzeciego (EGFRvIII). Wydaje się, że mógłby być idealnym celem terapeutycznym, okazało się, że mimo poznania właściwości tego białka i uzyskaniu czynników blokujących jego funkcję lekami celowanymi, czy przeciwciałami blokującymi jego funkcję nie uzyskano efektu działania terapeutycznego w leczeniu przeciwnowotworowym. Jak podaje Wykładowca, niewrażliwość tego nowotworu na dobierane celowo czynniki, które powinny wykazać działanie przeciwnowotworowe pozostaje jak dotąd nieznaną.

Inne omawiane zagadnienie to sprawa wymiany informacji molekularnej pomiędzy komórkami nowotworowymi i komórkowymi komponentami środowiska. Okazało się, że białka onkogenne oraz kodujące je kwasy nukleinowe, uważane za integralne części komórek nowotworowych mogą być z nich uwalniane i przenikać do innych, także prawidłowych komórek, powodujących w nich zmiany podobne do nowotworowych. Odbywa się to dzięki tworzeniu przez błony komórkowe pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, które mogą zawierać aktywne onkogeny. Posiadają one zdolność penetracji do wnętrza komórek środowiska okołonowotworowego powodując ich transformację onkogeną.

Zainteresowanie biologią pęcherzyków zewnątrzkomórkowych jest szerokie, także możliwości ich wykorzystania jako krążących we krwi nośników informacji genetycznej reprezentujących nowotwór, (tzw. *liquid biopsy* - biopsja płynna) może być stosowana w badaniach diagnostycznych. Jednak, jak podkreśla Wykładowca, ich właściwości jako biologicznego łącznika pomiędzy komórkami nowotworowymi i otaczającymi tkankami pozostają niezrozumiałe i nie są jeszcze wykorzystywane w próbach terapeutycznych.

Na zakończenie wykładu, prof. Rak stwierdził, że jest to wyzwanie naukowe, jak również przykład na istnienie szerszego widnokręgu złożoności biologicznego procesu



## Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

nowotworzenia, nie jako zbioru identycznych komórek ale jako zaburzenie w homeostazie tkankowej o zasięgu szerszym niż to sugerują jego części składowe, procesu wymagającego nowych paradygmatów i form terapii. Część i całość w tym złożonym procesie nadal oczekują na właściwe dla nich miejsce. Wykład skończył się o godzinie 14.15, bogaty w interesujące ilustracje dokumentujące założenia, szczegóły i wyniki badań własnych, przedstawiony interesująco, a wysłuchany z uwagą i w skupieniu.

Prof. Czesław Radzikowski podziękował Wykładowcy za przedstawienie wykładu i słuchaczom za wysłuchanie w skupieniu wykładu niezwykle bogatego w prezentowane wyniki badań i komentarze i otworzył dyskusję. Prof. Paweł Kisielow wyraził swe uznanie dla wykładowcy za przedstawienie interesujących wyników i przedstawił komentarz na temat kosztowności badań w tej dziedzinie i jeszcze odległej możliwości poprawienia wyników leczenia chorych, Także dr hab. Marek Drab zabrał głos w dyskusji, oceniając wysoko przedstawione wyniki badań i ich prezentację.

Przewodniczący Komisji podziękował także obecnym na Spotkaniu słuchaczom i zaprosił zainteresowanych kontynuowaniem dyskusji do sali konferencyjnej na tradycyjne „Spotkanie po Spotkaniu”. W spotkaniu uczestniczyło 15 osób (lista podana niżej). W kameralnej dyskusji powrócono do treści wykładu i przedstawionych wyników, a także do zagadnień organizacji pracy naukowej i sposobów jej finansowania w Kanadzie i w naszych warunkach. Rozmawiano także o zmianach w Instytucie związanych z reformowaniem nauki w Polsce. Spotkanie zakończyło się o godz. 16.15.

W XXXVIII Spotkaniu KPM PAU uczestniczyli członkowie Komisji: prof. prof. Janusz Boratyński, Irena Frydecka, Paweł Kisielow, Czesław Radzikowski, Andrzej Sokalski, Zbigniew Szewczuk, usprawiedliwili swoją nieobecność: prof. prof. Tadeusz Dobosz, Aleksandra Klimczak, Egbert Piasecki.

Uczestnicy spotkania po spotkaniu: Marek Drab, Danuta Duś, Irena Frydecka, Agnieszka Krawczyńska, Hubert Krotkiewski, Piotr Kuśnierczyk, Beata Orzechowska, Elżbieta Pajtasz-Piasecka, Czesław Radzikowski, Janusz Rak, Andrzej Rapak, Joanna Rossowska, Jacek Rybka, Leon Strządała, Zbigniew Szewczuk.

Prof. dr hab. Czesław Radzikowski  
Przewodniczący  
Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU

Sprawozdanie przygotowała:  
Katarzyna Prosek  
Sekretarz Komisji

## Zdjęcia - wykład prof. Janusza Raka









# z a p r o s z e n i e

---

KOMISJA PRZYRODNICZO-MEDYCZNA PAU we WROCŁAWIU  
I MIASTO WROCŁAW

zapraszają na XXXIX otwarte spotkanie dydaktyczno-naukowe w dniu  
**28 listopada 2018 roku**

**z udziałem Bartosza Grzywacza, M.D.**

Department of Laboratory Medicine and Pathology, Medical School,  
University of Minnesota, Minneapolis (USA)

Tytuł wykładu:

**„KOMÓRKI NK (NATURAL KILLERS) - STRAŻNICY ORGANIZMU  
PRZECIWKO WIRUSOM I NOWOTWOROM”**

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

---



**CURRICULUM VITAE****Bartosz Grzywacz****PROFESSIONAL ADDRESS**

D218 Mayo Memorial Building, MMC609  
 420 Delaware St SE, MMC609  
 Minneapolis, MN 55455  
 Phone: 612-273-5464  
 Email: [grzywacz@umn.edu](mailto:grzywacz@umn.edu)

**IDENTIFYING INFORMATION****Education**

<b>Degree</b>	<b>Institution</b>	<b>Date Degree Granted</b>
M.D.	Wroclaw Medical University, Wroclaw, Poland, with honors	1999
Internship	Lower Silesian Centre for Cellular Transplantation, Wroclaw, Poland	2001 - 2005
Residency training in Medicine,	Lower Silesian Centre for Cellular Transplantation, Wroclaw, Poland	1999 - 2005
Research Associate / postdoctoral fellow	Hirszfeld Institute for Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Science, Wroclaw, Poland	
Postdoctoral Fellow	University of Minnesota Cancer Center / Pediatric BMT, Laboratory of Dr M.Verneris	2005 - 2009
Residency training in Anatomic and Clinical Pathology	University of Wisconsin Hospital and clinics, Madison Wisconsin	2009 - 2013
Fellowship training in Hematopathology	Cleveland Clinic, Cleveland OH	2013 – 2014
Assistant Professor ,	Department of Laboratory Medicine and Pathology, University of Minnesota	2014 - present

**Certifications, Licenses**

Unrestricted Medical License in the state of Minnesota - 2014-present  
 Board Certified in Hematopathology, 2014  
 Board Certified in Pathology, AP / CP, 2013

**Academic Appointments**

University of Minnesota, Twin Cities Campus July 2014- present Assistant Professor  
 University of Minnesota, Twin Cities Campus 2005 – 2009 Postdoctoral scholar

**Academic Administrative Appointments**

Medical Director, BioNet, ( Biological Material Procurement Network) , University of Minnesota  
April 2015 to September 2017

**Clinical/Hospital Appointments**

Hematopathology fellowship	Cleveland Clinic	2013 - 2014
Pathology residency, AP / CP	University of Wisconsin Hospital and Clinics	2009 - 2013
Physician, Internal Medicine Residency Training	Lower Silesia Center for Cellular Transplantation, Wroclaw, Poland	2001 - 2005
Internship	Lower Silesia Center for Cellular Transplantation, Wroclaw, Poland	1999 - 2001

**Current Membership and Offices in Professional Organizations**

American Society for Clinical Pathology; Member  
United States College of Anatomic Pathology; Member  
Society for Hematopathology; Member  
International Society for the Advancement of Cytometry; Member  
American Society of Hematology; Member  
College of American Pathologists; Member  
Society for Natural Immunity  
American Association for Advancement of Liver Disease

**HONORS AND AWARDS FOR RESEARCH WORK, TEACHING, PUBLIC ENGAGEMENT, AND SERVICE****External Sources****American Society of Hematology ASH Trainee Research Award, 2011**

Title: *The influence of KIR and HLA genotype on the Clinical Response to Immunotherapy with Rituximab for patients with Follicular Lymphoma*

**American Society of Hematology Abstract Achievement Award**

(formerly known as “ASH Travel award”) to attend ASH annual meeting ;

New Orleans, LA (2013), San Francisco, CA (2008), Atlanta, GA (2007) , San Diego, CA (2006)

**Society for Natural Immunity Young Investigator Travel Award**

Natural Killer Cell Meeting; Cambridge, England, 2007

Natural Killer Cell Meeting; Noordwijkerhout , Netherlands, 2004

**European Federation for Immunogenetics Young Investigator Travel Award**

18th European Histocompatibility Conference, Sofia, Bulgaria, 2004

**SCHOLARSHIP**

2001	Scholarship of the Huygens Program Investigator of NUFFIC (The Netherlands Organization for International Cooperation in Higher Education)	Source: Leiden University Medical Centre, The Netherlands. Principal Investigator: Prof. F.H.J. Class
June-August 1999	Scholarship of the European Federation for Immunogenetics	Department of Immunohematology, Leiden University Medical Center, The Netherlands. Principal Investigator: Prof. F.H.J Class

1996 - 1997	Visiting scholar - Research Assistant	Department of Immunohematology, Leiden University Medical Centre, The Netherlands. Principal Investigator: Prof. F.H.J. Class
June 1996	Summer Exchange Program	Department of Clinical Immunology, Hospital El Puerta del Mar, Cadiz, Spain

## RESEARCH AND SCHOLARSHIP

### Grants and Contracts

#### Current External Sources

1. **Role:** Principal investigator  
**Grant Number:** NIH-NIDDK-DDN-2017-5, HHSN275201700005C  
**External Granting Agency:** NIH / NIDDK  
**Grant Title:** *“Liver Tissue and Cell Distribution System”*  
**Project Dates:** September 29, 2017 - September 28, 2022
2. **Role:** Co- investigator  
**Principal Investigator:** Mark Osborn  
**Grant Number:** RMM 102516 007  
**External Granting Agency:** Regenerative Medicine Minnesota  
**Grant Title :** “Natural Killer Cell Chimeric Antigen Receptor Therapy”  
**Project Dates:** 3/1/2017 to 2/28/2019

#### Previous funding:

1. **Role:** Co-investigator ; **Principal Investigator:** Paul Sondel, MD  
**Number:** 1R01CA166105-01 (2012) ; **Agency:** NCI  
**Title:** *“The role of KIR FcR genotype in the efficacy of Mab and il2 immunotherapy”*
2. **Role:** Co-investigator ; **Principal Investigator:** Paul Sondel, MD (Investigator initiated pilot project) ;  
**External Agency:** University of Wisconsin P. Carbone Cancer Center  
**Title:** *“The Influence of KIR and HLA Genotype on the Response to Rituximab Immunotherapy in ECOG-E4402 Patients with Follicular Lymphoma”*
3. **Role:** Co-investigator ; **Principal Investigator:** Michael R. Verneris, MD  
**External Agency:** American Cancer Society –  
**Title:** *Two pathways of NK cell differentiation: generating alloreactive NK cells*  
**Date:** 2008
4. **Role:** Co-investigator ; **Principal Investigator:** Michael R. Verneris, MD MD  
**External Agency:** Leukemia Research Foundation  
**Title:** *Two pathways of NK Cell Differentiation: Generation of Alloreactive NK Cells*  
**Date:** 2007
5. **Role:** Principal Investigator ; **External Agency:** Children’s Cancer Research Fund  
**Title:** *The identification of discrete human NK cell developmental stages*  
**Dates:** 2006.

### University Sources

#### Current:

**Role:** Co-Principal Investigator  
**Funding Source:** Department of Lab Medicine and Pathology New Initiatives Grant  
**Title:** *Mechanism of infection of Natural Killer cells by Epstein Barr Virus (EBV) and the pathogenesis of EBV positive NK cell Lymphomas; Project Dates:* July 2015 – December 2017

**Past:****Role:** Co-investigator ; **Principal Investigator:** Michael R. Verneris, MD MD**Source:** Minnesota Medical Foundation**Title:** *Characterizing developmental Stages of NK cells, 2007***PUBLICATIONS****Impact Analytics**

<i>h</i> -index	<i>h(fl)</i> -index	Total Publications	First/Last Author Publications	Total Citations	First/Last Author Citations
<b>11</b>	<b>4</b>	<b>17</b>	<b>6</b>	<b>576</b>	<b>250</b>

**Peer-Reviewed Publications**

- 1) Grzywacz B, Moench L, McKenna D<sup>1</sup>, Tessier K M , Bachanova V , Cooley S, Miller JS, Courville EL. *“Natural killer cell homing and persistence in the bone marrow after adoptive immunotherapy correlates with better leukemia control”* ; In press, accepted at The Journal of Immunotherapy
- 2) Kityo C, Nganou Makamdop K, Rothenberger M, Chipman J G, Hoskuldsson T, Beilman GJ, **Grzywacz B**, Mugenyi P , Ssali Rama Akondy F, Anderson J, Schmidt T, Reimann T, Callisto S, Schoepfoerster J, Schuster J, Muloma N, Ssengendo P, Moysi E, Petrovas C, Lanciotti RS, Zhang L, Arevalo MT, Rodriguez B, Ross T, Trautmann L, Sekaly RP, Lederman M, Koup R, Ahmed R, Reilly C, Douek D, Schacker T. *“Lymphoid tissue fibrosis is associated with impaired vaccine responses”*; J Clin Invest. 2018 Jul 2;128(7):2763-2773. PMID:29781814
  - IF: 14.4 Cited : not available (too early)
- 3) Rothenberger M, Wagner JE, Haase A, Richman D, **Grzywacz B**, Strain M, Lada S, Estes J, Fletcher CV, Podany AT, Anderson J, Schmidt T, Wietgreffe S, Schacker T, Verneris MR. *Transplantation of CCR5Δ32 Homozygous Umbilical Cord Blood in a Child With Acute Lymphoblastic Leukemia and Perinatally Acquired HIV Infection.* Open Forum Infect Dis. 2018 May 22;5(5) PMID: 29868623
  - IF: 3.24 Cited : not available (too early)
- 4) Sundin A, **Grzywacz B**, Yohe S, Linden MA, Courville EL. *B-cell posttransplant lymphoproliferative disorder isolated to the central nervous system is Epstein-Barr virus positive and lacks p53 and Myc expression by immunohistochemistry.* Hum Pathol. 2017 Mar;61:140-147. PMID: 27993575, ;
  - IF: 2.899 , Cited 1 time
- 5) Hsi ED, Horwitz SM, Carson KR, Pinter-Brown LC, Rosen ST, Pro B, Federico M, Gisselbrecht C, Schwartz M, Bellm LA, Acosta M, Collie AM, Gruver AM, **Grzywacz B**, Turakhia S, Shustov AR, Advani RH, Feldman T, Lechowicz MJ, Smith SM, Lansigan F, Tulpule A, Craig MD, Greer JP, Kahl BS, Leach JW, Morganstein N, Casulo C, Park SI, Foss FM. : *Analysis of Peripheral T-cell Lymphoma Diagnostic Workup in the United States.* Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2017 Apr;17(4):193-200.. PMID:28209473
  - IF: 2.223 , Cited 2 times
- 6) Ondrejka SL, **Grzywacz B**, Bodo J, Makishima H, Polprasert C, Said JW, Przychodzen B, Maciejewski JP, HSI ED, *Angioimmunoblastic T-cell Lymphomas With the RHOA p.Gly17Val mutation have classic clinical and pathologic features.* Am J Surg Pathol 2016 Mar ;40(3):2335-41
  - IF: 2.223 , Cited 2 times

- 7) Bachanova V, Frankel A E, Cao Q, Lewis D, **Grzywacz B**, Verneris M R, Ustun C, Lazaryan A., McClune B, Warlick E D, Kantarjian H, Weisdorf D J, Miller J S, Vallera DA. *Phase I study of a bispecific ligand-directed toxin targeting CD22 and CD19 (DT2219) for refractory B-cell malignancies*. Clinical Cancer Research. 2015; 21(6):1267-1272.
  - IF: 9.25 , Cited 11 times
- 8) Koehn T A, Trimble L L, Alderson K L, Erbe A K, McDowell K A, **Grzywacz B**, Hank JA, Sondel PM. *Increasing the clinical efficacy of NK and antibody-mediated cancer immunotherapy: Potential predictors of successful clinical outcome based on observations in high-risk neuroblastoma*. Frontiers in Pharmacology. 2012; 3 MAY.
  - IF: 4.275 , Cited 20 times
- 9) **Grzywacz B.**, Kataria NK, Kataria N, Blazar BR, Miller JS, Verneris MR. *Natural Killer cell differentiation by myeloid progenitors*. 2009; Blood 117(13):3548-58
  - IF: 10.37, Cited 51 times
- 10) **Grzywacz B**, Miller JS, Verneris MR. *Use of natural killer cells as immunotherapy for leukaemia*. 2008; Best practice & research in Hematology 21:467-483.
  - IF: 3.589, Cited 28 times
- 11) **Grzywacz B**, Kataria N, Verneris MR. *CD56(dim)CD16(+) NK cells downregulate CD16 following target cell induced activation of matrix metalloproteinases*. 2007; Leukemia 21:356-359; Letter to editor
  - IF: 9.923 Cited 74 times
- 12) **Grzywacz B**, Kataria N, Sikora M, Oostendorp RA, Dzierzak EA, Blazar BR, Miller JS, and Verneris MR. *Coordinated acquisition of inhibitory and activating receptors and functional properties by developing human natural killer cells*. 2006; Blood 108:3824-3833.
  - IF: 10.55, Cited 93 times
- 13) **Grzywacz B**, Dlubek D, Lange A. *NK cells become Ki-67+ in MLC and expand depending on the lack of ligand for KIR on stimulator cells in IL-2 supplemented MLC*. 2002; Human immunology 63:638-646.
  - IF: 2.57, Cited 4 times
- 14) Woll PS, **Grzywacz B**, Tian X, Marcus R, Knorr DA, Verneris MR and Kaufman DS. *Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity*. 2009. Blood 113(24):6094-6101.
  - IF: 10.37, Cited 97 times
- 15) Anderson E, **Grzywacz B**, Wang H, Wang T, Lee SJ, Haagenson M, Spellman S, Blazar BR, Miller JS, Verneris MR. *Limited role of MHC-class I chain related gene A (MICA) typing in assessing the risk of graft-versus-host disease after fully human leukocyte antigen-matched unrelated donor transplantation*. 2009. Blood 114 (21):4753-4; Letter to editor
  - IF: 10.37 Cited 15 times
- 16) Tang Q, **Grzywacz B**, Wang H, Kataria N, Cao Q, Wagner JE, Blazar BR, Miller JS, Verneris MR. *Umbilical cord blood T cells express multiple natural cytotoxicity receptors after IL-15 stimulation, but only NKp30 is functional*. 2008. J Immunol 181:4507-4515.
  - IF:6.0 , Cited 26 times

- 17) Wang H, **Grzywacz B**, Sukovich D, McCullar V, Cao Q, Lee AB, Blazar BR, Cornfield DN, Miller JS, Verneris MR. *The unexpected effect of cyclosporin A on CD56+CD16- and CD56+CD16+ natural killer cell subpopulations*. 2007. Blood 110:1530-1539.
  - IF: 10.896, Cited 99 times
- 18) Lund TC, Anderson LB, McCullar V, Higgins V, Yun GH, **Grzywacz B**, Verneris MR, Miller JS. *iTRAQ is a useful method to screen for membrane-bound proteins differentially expressed in human natural killer cell types*. 2007. Journal of proteome research 6:644-653.
  - IF: 5.675 , Cited 45 times
- 19) Karabon L, Polak M, Pacuszko T, **Grzywacz B**, Koscinska K, Pietraszek E, Kalota A, Lange A. *HLA typing for donor-recipient matching in unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation*. 2002. Transplantation proceedings 34:668-670.
  - IF: 0.48 , Cited 1 time
- 20) Miklaszewicz A, Giedrys-Kalemba S, Teodorczyk U, Halasa J, Goertz K, Zielinski S, Ostrowski M, Kostyrka R, Lapis J, Kulig G, Kulig T, Kruszewski T, Kozlowski M, Lewinski D, **Grzywacz B**, Grzywacz M, Kuprjanowicz L. *Influence of protective genes in the HLA system on renal graft survival*. 2000. Transplantation proceedings 32:1337-1338.
  - IF: 0.68 , Cited : no data available in search

#### Articles Submitted for Publication

1. S. Cooley, F. He, V. Bachanova, G. Vercellotti, T. DeFor, J. Curtsinger, P. Robertson, **B. Grzywacz**, K. C. Conlon, Th. A. Waldmann, D. McKenna, B. R Blazar, D. J Weisdorf & J.S Miller “*First-In-Human Trial of rhIL-15 and Haploidentical Natural Killer (NK) Cell Therapy for Advanced Acute Myeloid Leukemia*”; submitted to Blood , September 2018
2. A.K. Erbe; W. Wang; L. Carmichael; A. Hoefges; **B. Grzywacz**; P.K. Reville; E.A. Ranheim; J.A Hank; K. Mann Kim; S. Seo; E.A. Mendonca; Y. Song; V.P Kenkre; F. Hong; R. D. Gascoyne; E. Paietta; S.J. Horning; J.S. Miller; B. Kahl; P.M. Sondel “*Follicular Lymphoma Patients with KIR2DL2 and KIR3DL1 and Their Ligands (HLA-C1 and HLA-Bw4) Show Improved Outcome When Receiving Rituximab*” , submitted to the Journal of Immunotherapy of Cancer
3. Hashmi H, Grzywacz B, Trikudanathan G. “*Diagnosing Richter Transformation Using Endoscopic Ultrasound Guided Fine Needle Biopsy*”; Submitted to ACG case reports journal on 03/21/2018  
Submitted to Turkish Journal of Gastroenterology August 2018

#### Chapters in Books

"**Bone Marrow Metastatic Tumors**" By: Grzywacz, Bartosz and McKenna Robert.  
Chapter in the 4th edition of the AFIP fascicle - Tumors of the Bone Marrow  
ISBN: 978-1-933477-35-0, Published 2016

#### Developmental stages and pathways of NK cell maturation

By: Grzywacz, Bartosz; Miller, Jeffery S.; Verneris, Michael R.  
Edited by: Lotze, MT; Thomson, AW

Natural Killer Cells: Basic Science and Clinical Application Pages: 3-24 Published: 2010



**Bartosz Grzywacz, M.D.**

## **Streszczenie wykładu**

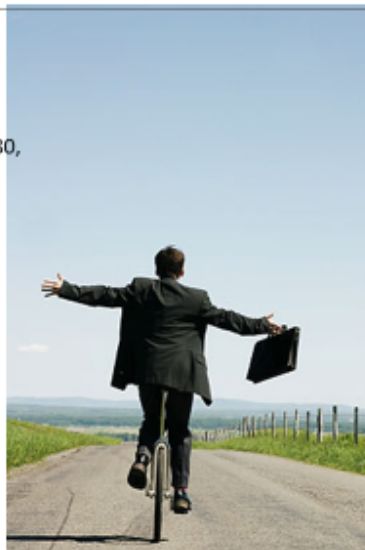
### **"KOMÓRKI NK (NATURAL KILLERS) – STRAŻNICY ORGANIZMU PRZECIWKO WIRUSOM I NOWOTWOROM".**

Komórki NK należą do limfocytów – czyli komórek układu odpornościowego. W gronie limfocytów rozróżniamy limfocyty T, limfocyty B i komórki NK. Limfocyty T i B odpowiedzialne są za specyficzną odpowiedź komórkową, mają one unikalne receptory – tzn. każdy klon ma inne receptory do rozpoznania antygenów. Olbrzymia różnorodność receptorów limfocytów T i B wynika z ich powstawania w wyniku rekombinacji genetycznej, unikalnej dla każdej komórki. Komórki NK nie mają tego rodzaju antygenów powstających w wyniku rekombinacji genetycznej. Pod tym względem komórki NK są bardziej zbliżone do prymitywnej gałęzi układu odpornościowego – granulocytów i monocytów. Do niedawna uważano, że komórki NK nie mają zdolności do pamięci immunologicznej – czyli zjawiska spotęgowanej reakcji na antygeny, które napotkały wcześniej. Ten pogląd został zweryfikowany w ciągu ostatnich 10 lat (Hendricks, Min-Oo et al. 2016). Najpierw odkryto spotęgowaną odpowiedź na pewne antygeny, proste związki chemiczne, u myszy które nie miały limfocytów T czy B i okazało się, że odpowiedzialne są komórki NK (O'Leary, Goodarzi et al. 2006). Nieco później okazało się, że po przejściu pierwotnej infekcji cytomegalowirusem (CMV) zachodzą zmiany w repertuarze ludzkich komórek NK, które przypominają pamięć immunologiczną (Lopez-Verges, Milush et al. 2011). Komórki NK osób, które przeszły infekcje CMV miały większy potencjał cytotoksyczny. Tak więc komórki NK mają zdolność pamięci immunologicznej, która jednak nie jest aż tak spotęgowana jak to ma miejsce w przypadku limfocytów T i B .

## **Regulacja komorek NK : balans pomiedzy aktywacja a hamowaniem**

### **Receptory Aktywujace**

- NCRs: NKp30, NKp44, NKp46, NKp80, DNAM
- Lektynowe: CD94/NKG2C, NKG2D, CD161
- CD16 (Fc receptor)
- Immunoglobulinowe: KIR
- Co-receptors: CD8, 2B4



### **Receptory hamujace**

- Immunoglobulinowe: (KIR, ILT, LAIR)
- Lektynowe: (CD94/NKG2A)

## Jak komórki NK odróżniają przyjaciół od wrogów ?

Działanie układu odpornościowego opiera się na odróżnianiu antygenów obcych od własnych. Obce antygeny wzbudzają produkcję przeciwciał przez limfocyty B i aktywację limfocytów T. Komórki NK działają inaczej – one rozpoznają brak własnych antygenów HLA (Ljunggren and Karre 1990). Wydaje się, że w ten sposób uzupełniają one odpowiedź limfocytów T wobec komórek, które tracą ekspresję antygenów HLA. Okazuje się, że komórki nowotworowe często tracą ekspresję HLA i w ten sposób stają się „niewidoczne” dla limfocytów T (Lopez-Nevot, Esteban et al. 1989). Podobnie infekcje (Lee, Llano et al. 1998) wirusowe, np. CMV obniżają ekspresję HLA w zakażonych komórkach, żeby uniknąć rozpoznania przez limfocyty T (Beersma, Bijlmakers et al. 1993). Wtedy do akcji wkraczają komórki NK, uczulone na brak własnego HLA. Komórki NK mają receptory KIR (*Killer Immunoglobuline – like receptors*) odkryte przez s.p. Alessandro Moretta (Moretta, Vitale et al. 1993). Moretta pierwotnie nazywał je *Killer Inhibitory receptors*, bo ich rola polega na hamowaniu komórek NK, gdy rozpoznają obecność własnego HLA na powierzchni innej komórki. Można to porównać do kontroli policyjnej, gdzie limfocyty T potrafią rozpoznać sfałszowane dokumenty, natomiast komórki NK wkraczają do akcji, gdy podejrzany nie ma żadnych dokumentów.

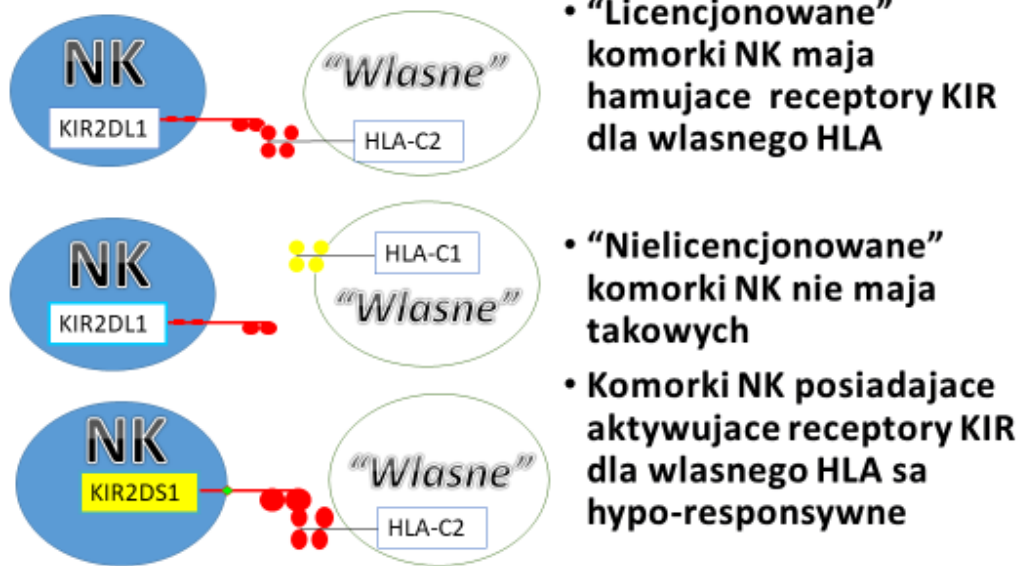
## Lektynowe receptory hamujące komórki NK

Oprócz receptorów KIR jest jeszcze jeden rodzaj receptorów hamujących komórki NK – CD94/NKG2A. Ten receptor ma strukturę lektynową, nie immunoglobulino-podobną. CD94/NKG2A rozpoznaje antygen nieklasyczny HLA-E (Lee, Llano et al. 1998). HLA-E jest nietypowym antygenem HLA. Klasyczne antygeny HLA – A, B, C, DR, DQ są bardzo polimorficzne, tzn. różni ludzie mają bardzo różne antygeny HLA. Prawdopodobieństwo, że dwie niespokrewnione osoby mają takie same antygeny klasyczne HLA jest prawie zerowe, dlatego tak trudno jest czasami znaleźć zgodnego w HLA dawcę szpiku i potrzebne są międzynarodowe rejestry w liczbie milionów ludzi by to prawdopodobieństwo zwiększyć. HLA-E natomiast jest takie samo u wszystkich. Przez długi czas nie było wiadomo dlaczego tak jest, aż odkryliśmy, że HLA-E jest rozpoznawane przez CD94/NKG2A. Wydaje się, że HLA-E zostało “zakonserwowane” w toku ewolucji żeby się nie zmieniać. Ekspresja HLA-E zależy od dostępności fragmentów liderowych z klasycznych antygenów HLA (Lee, Goodlett et al. 1998), tak więc jeżeli komórka zakażona wirusem lub pod wpływem transformacji nowotworowej utraci ekspresję HLA klasy I, może też utracić ekspresję HLA-E i stanie się podatna na atak komórek NK. Oczywiście, wirusy szukają innych sposobów na oszukanie układu odpornościowego i mają w swoich genach receptory podobne do HLA-E, są to swoiste “podróbki” HLA-E zdolne do symulowania tego receptora i hamowania komórek NK. CD94 /NKG2A jest receptorem hamującym, złożonym z dwóch podjednostek – CD94 i NKG2A. Ale CD94 może także tworzyć kompleks z innym partnerem - NKG2C, który jest aktywujący a nie hamujący. Jak się okazuje, komórki NK u osób, które przeszły infekcję CMV mają wysoką ekspresję NKG2C, tak więc pamięć komórek NK związana jest z przejściem z hamującego kompleksu CD94/NKG2A do aktywującego CD94/NKG2C.

## Tolerancja komórek NK wobec własnych komórek

opiera się na ekspresji hamujących receptorów KIR, które po rozpoznaniu własnego HLA zapobiega niszczeniu własnych komórek. Jednak HLA jest bardzo polimorficzne, bardzo zróżnicowane. Receptory KIR też są polimorficzne, a dziedziczone są niezależnie od HLA, bo są one kodowane przez geny na innym chromosomie (HLA jest na chromosomie 6-tym a KIRy na 19-tym). Jak to się dzieje, że komórki NK uczą się własnego HLA ?

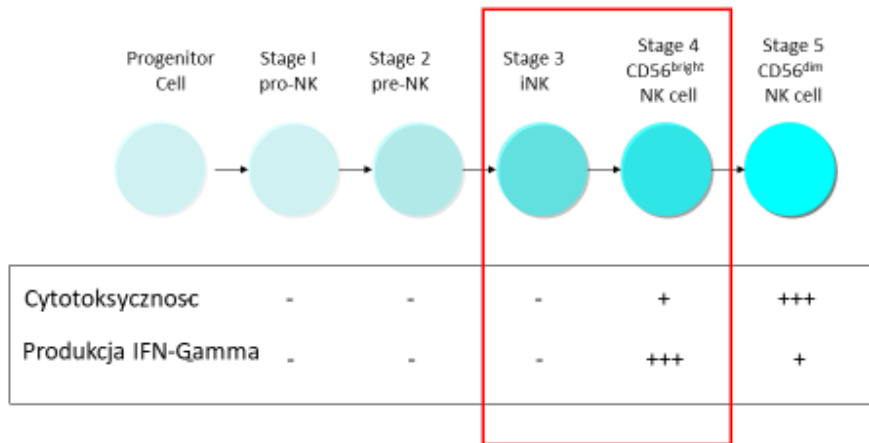
## Jak Receptory KIR i HLA regulują aktywność komórek NK



## Dojrzewanie komórek NK z ich prekursorów

Dojrzewanie komórek NK może być badane w hodowli. My badaliśmy różnicowanie komórek NK z komórek macierzystych w hodowli *in vitro* i opisaliśmy po raz pierwszy etapy dojrzewania komórek NK (Grzywacz, Kataria et al. 2006). Te same stopnie dojrzewania zostały opisane przez A. Freud (Freud, Yokohama et al. 2006) na bazie studiów komórek obecnych w węzłach chłonnych i migdałach gardłowych. Obydwa modele wskazują na to, że nabycie zdolności cytotoksycznych jest związane czasowo z nabyciem receptorów hamujących CD94/NKG2A. Jak wspomniałem wcześniej, HLA-E jest obecne u każdego i ma taką samą budowę, zapewniając „bezpieczeństwo” komórek NK i zabezpieczając przed ich auto-reaktywnością.

## Roznicowanie komórek NK



Freud, JEM, 2006  
Grzywacz, Blood, 2006

### Naturalne komórki limfoidalne (*Innate Lymphoid Cells*)

Naturalne komórki limfoidalne – czyli nowa populacja komórek opisana w ostatnich latach. W naszych eksperymentach z dojrzewaniem komórek NK w hodowli z komórek macierzystych opisaliśmy etap pośredni tuż przed uzyskaniem zdolności cytotoksycznych (CD117 bright CD94(-)). We wszystkich eksperymentach ta populacja komórek zachowywała się z jednej strony jak niedojrzały etap pośredni, ale z drugiej strony część z nich nigdy nie dojrzewała do kompletnych komórek NK a nawet obserwowaliśmy odrobinę zmiany w kierunku przeciwnym, Jak się okazało później, w populacji tej znajdują się naturalne komórki limfoidalne (*Innate Lymphoid Cells*). Komórki te zostały w pewnym sensie odkryte na przestrzeni ostatnich 10 lat (Vivier, Artis et al. 2018). Jak do tego doszło ? Otóż polega to na tym, że komórki tego typu znajdują się przede wszystkim w tkankach organizmu. Większość badań opierała się na komórkach obecnych we krwi, a tych komórek tam nie znajdziemy.

### **NK cell licensing – czyli licencja na „zabijanie”**

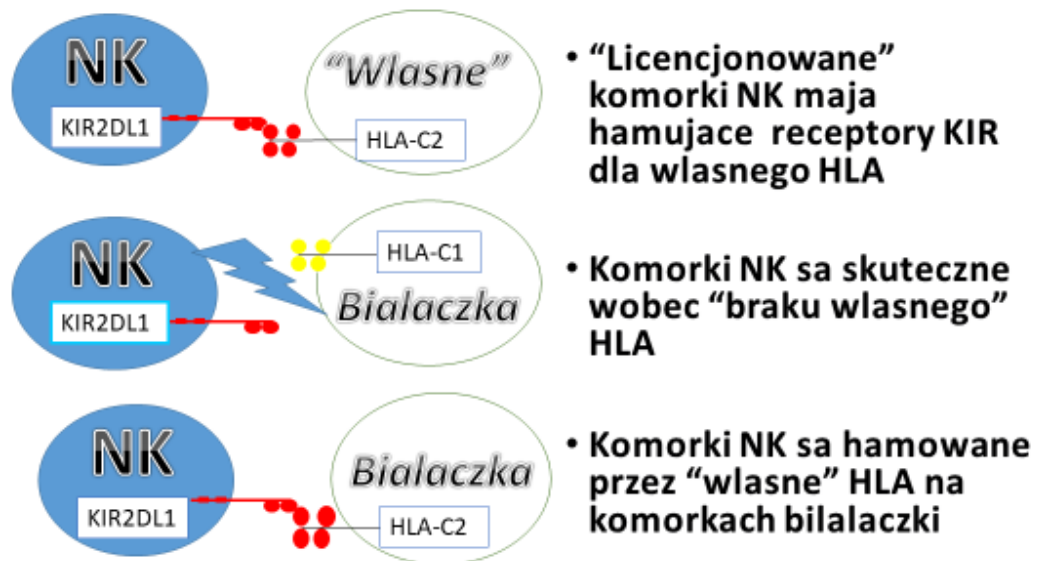
*NK cell licensing* – czyli licencja na „zabijanie” innych komórek jest zależna od ekspresji receptorów hamujących (Kim, Poursine-Laurent et al. 2005). Komórki NK, które mają receptory hamujące, dla których są obecne ligandy HLA posiadają zdolność do zabijania komórek, które nie mają tego właśnie „własnego” HLA. W myśl tej reguły komórki NK, które nie mają receptorów hamujących dla własnego HLA nie posiadają „licencji na zabijanie” i w eksperymentach nie są zdolne do zabijania innych komórek.

### **Komórki NK po przeszczepieniu szpiku kostnego – czyli jak brak własnego HLA na komórkach białaczki pomaga w efekcie leczniczym.**

W przeszczepach komórek macierzystych szpiku w celu leczenia białaczki wykorzystuje się różnego rodzaju dawców. Specjaliści z ośrodka w Perugia (Włochy) specjalizowali się

w przeszczepach od dawców tylko w połowie zgodnych w HLA (haploidentycznych). To może być matka lub ojciec, czasem rodzeństwo chorego. W leczeniu białaczki limfoblastycznej największym zagrożeniem jest wznowa białaczki. Okazało się, że pacjenci którzy mieli „brak własnego HLA” z perspektywy komórek NK dawcy mieli mniejsze ryzyko wznowy białaczki (Ruggeri, Capanni et al. 2002). Był to bardzo przekonujący dowód na to, że komórki NK są w stanie efektywnie zapobiec wznowie agresywnych nowotworów hematologicznych, jakimi są białaczki.

## Jak komórki NK pomagają po haploidentycznym przeszczepie szpiku



- **“Licencjonowane” komórki NK mają hamujące receptory KIR dla własnego HLA**

- **Komórki NK są skuteczne wobec “braku własnego” HLA**

- **Komórki NK są hamowane przez “własne” HLA na komórkach białaczki**

Komórki NK mają zdolność do ADCC – w tym przypadku działają jakby „na polecenie” specyficznego układu odpornościowego. Jeżeli limfocyty B wytworzą przeciwciała, które wiążą się z komórką docelową, komórki NK mają receptor CD16 i poprzez to przeciwciała będą aktywowane do ataku na oznaczoną przeciwciałem komórkę. Czy komórki NK odgrywają rolę w efekcie leczenia przeciwciałami takimi jak rituximab (przeciwciała przeciw CD20), które stanowi podstawę w leczeniu chłoniaków? Wyniki naszych badań wskazują, że może tak być.

### Zastosowanie komórek NK w leczeniu białaczek.

Komórki NK są skuteczne w zabijaniu komórek białaczkowych, dlaczego by nie zastosować ich w leczeniu? Specjaliści z Uniwersytetu stanu Minnesota zaczęli podawać komórki NK pacjentom z białaczkami (Miller, Soignier et al. 2005). Cała procedura jest skomplikowana organizacyjnie – dobór dawcy (najczęściej haploidentyczny członek rodziny), pobranie komórek NK, oczyszczenie ich spośród innych komórek, aktywacja przed podaniem - to etapy tej procedury w dużym skrócie. W ostatecznym wyniku leczniczym ważne jest, czy komórki NK przetrwają w organizmie biorcy, czy dotrą do szpiku i czy będą się rozmnażać w miejscu gdzie przebywają komórki białaczki. My ostatnio przeanalizowaliśmy zagadnienie, czy przetoczone komórki NK można wykryć w biopsji szpiku pacjentów pobranej w 2 tygodnie po ich przetoczeniu. Zbadaliśmy, jaki to ma związek z efektem leczniczym, czyli z remisją lub

wznową białaczki (Grzywacz, w druku). Z drugiej strony, na przestrzeni lat protokół leczniczy był modyfikowany poprzez zmiany, takie jak: podawanie interleukiny 2 lub interleukiny 15 po transfuzji komórek NK, uprzednie napromieniowanie szpiku, podanie leku żeby wyeliminować limfocyty T regulatorowe dawcy i inne zmienne. Okazało się, że liczba komórek NK w szpiku była skorelowana z korzystnym wynikiem leczenia białaczki. Co więcej, stwierdziliśmy, że napromieniowanie niszy szpikowej przed ich podaniem (*Total Body Irradiation*) jak również eliminacja limfocytów T regulatorowych przy pomocy przeciwciała/toksyny przeciwko CD25 sprzyja przetrwaniu komórek NK w szpiku biorcy.

### **Przyszłe kierunki immunoterapii przy użyciu komórek NK.**

Różnicowanie komórek NK z komórek macierzystych jest możliwe w hodowli laboratoryjnej. Komórki NK, które są w ten sposób „fabrykowane” z embrionalnych komórek macierzystych mają dobre zdolności cytotoksyczne wobec białaczek i innych nowotworów (Woll, Grzywacz et al. 2009). Co więcej, laureat Nagrody Nobla S. Yamanaka pokazał jak przy pomocy 4 czynników można przeobrazić komórkę ciała taką jak np. fibroblast pobrany z tkanki podskórnej w komórkę IPS (*Induced Pluripotent Stem cell*) – indukowaną komórkę podobną do embrionalnych (Takahashi, Tanabe et al. 2007). W chwili obecnej z takich wyindukowanych komórek macierzystych produkuje się komórki NK (Saetersmoen, Hammer et al. 2018). Tak uzyskane komórki NK dostępne są w o wiele większej liczbie niż konwencjonalne komórki NK. Co więcej, można je łatwo modyfikować poprzez dodawanie lub odejmowanie receptorów i innych czynników wpływających na aktywność. Umożliwi to produkcję komórek NK w dużej ilości, a jak wykazały nasze badania jest to jeden z kluczy do sukcesu terapeutycznego.

### **Podsumowanie**

Przedstawię podstawowe zasady działania komórek NK i etapy ich dojrzewania. Omówione będą przykłady zastosowania komórek NK w leczeniu chorób nowotworowych i jak zrozumienie zasad ich działania pomaga w skutecznym zastosowaniu w terapii. Ponadto przedstawię nowe kierunki, w których wykorzystujemy znajomość zjawiska pamięci immunologicznej komórek NK i inżynierii ich dojrzewania z komórek macierzystych do produkcji nowej generacji komórek NK z zamiarem ich wykorzystania w leczeniu nowotworów.

1. Beersma, M. F., M. J. Bijlmakers and H. L. Ploegh (1993). "Human cytomegalovirus down-regulates HLA class I expression by reducing the stability of class I H chains." *J Immunol* **151**(9): 4455-4464.
2. Freud, A. G., A. Yokohama, B. Becknell, M. T. Lee, H. C. Mao, A. K. Ferketich and M. A. Caligiuri (2006). "Evidence for discrete stages of human natural killer cell differentiation in vivo." *J Exp Med* **203**(4): 1033-1043.
3. Grzywacz, B., N. Kataria, M. Sikora, R. A. Oostendorp, E. A. Dzierzak, B. R. Blazar, J. S. Miller and M. R. Verneris (2006). "Coordinated acquisition of inhibitory and activating receptors and functional properties by developing human natural killer cells." *Blood* **108**(12): 3824-3833.
4. Hendricks, D. W., G. Min-Oo and L. L. Lanier (2016). "Sweet Is the Memory of Past Troubles: NK Cells Remember." *Curr Top Microbiol Immunol* **395**: 147-171.
5. Kim, S., J. Poursine-Laurent, S. M. Truscott, L. Lybarger, Y. J. Song, L. Yang, A. R. French, J. B. Sunwoo, S. Lemieux, T. H. Hansen and W. M. Yokoyama (2005). "Licensing of natural killer cells by host major histocompatibility complex class I molecules." *Nature* **436**(7051): 709-713.

6. Lee, N., D. R. Goodlett, A. Ishitani, H. Marquardt and D. E. Geraghty (1998). "HLA-E surface expression depends on binding of TAP-dependent peptides derived from certain HLA class I signal sequences." *J Immunol* **160**(10): 4951-4960.
7. Lee, N., M. Llano, M. Carretero, A. Ishitani, F. Navarro, M. Lopez-Botet and D. E. Geraghty (1998). "HLA-E is a major ligand for the natural killer inhibitory receptor CD94/NKG2A." *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**(9): 5199-5204.
8. Ljunggren, H. G. and K. Karre (1990). "In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition." *Immunol Today* **11**(7): 237-244.
9. Lopez-Nevot, M. A., F. Esteban, A. Ferron, J. Gutierrez, M. R. Oliva, C. Romero, C. Huelin, F. Ruiz-Cabello and F. Garrido (1989). "HLA class I gene expression on human primary tumours and autologous metastases: demonstration of selective losses of HLA antigens on colorectal, gastric and laryngeal carcinomas." *Br J Cancer* **59**(2): 221-226.
10. Lopez-Verges, S., J. M. Milush, B. S. Schwartz, M. J. Pando, J. Jarjoura, V. A. York, J. P. Houchins, S. Miller, S. M. Kang, P. J. Norris, D. F. Nixon and L. L. Lanier (2011). "Expansion of a unique CD57(+)NKG2Chi natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection." *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**(36): 14725-14732.
11. Miller, J. S., Y. Soignier, A. Panoskaltsis-Mortari, S. A. McNearney, G. H. Yun, S. K. Fautsch, D. McKenna, C. Le, T. E. Defor, L. J. Burns, P. J. Orchard, B. R. Blazar, J. E. Wagner, A. Slungaard, D. J. Weisdorf, I. J. Okazaki and P. B. McGlave (2005). "Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer." *Blood* **105**(8): 3051-3057.
12. Moretta, A., M. Vitale, C. Bottino, A. M. Orengo, L. Morelli, R. Augugliaro, M. Barbaresi, E. Ciccone and L. Moretta (1993). "P58 molecules as putative receptors for major histocompatibility complex (MHC) class I molecules in human natural killer (NK) cells. Anti-p58 antibodies reconstitute lysis of MHC class I-protected cells in NK clones displaying different specificities." *J Exp Med* **178**(2): 597-604.
13. O'Leary, J. G., M. Goodarzi, D. L. Drayton and U. H. von Andrian (2006). "T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells." *Nat Immunol* **7**(5): 507-516.
14. Ruggeri, L., M. Capanni, E. Urbani, K. Perruccio, W. D. Shlomchik, A. Tosti, S. Posati, D. Rogaia, F. Frassoni, F. Aversa, M. F. Martelli and A. Velardi (2002). "Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants." *Science* **295**(5562): 2097-2100.
15. Saetersmoen, M. L., Q. Hammer, B. Valamehr, D. S. Kaufman and K. J. Malmberg (2018). "Off-the-shelf cell therapy with induced pluripotent stem cell-derived natural killer cells." *Semin Immunopathol.*
16. Takahashi, K., K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda and S. Yamanaka (2007). "Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors." *Cell* **131**(5): 861-872.
17. Vivier, E., D. Artis, M. Colonna, A. Diefenbach, J. P. Di Santo, G. Eberl, S. Koyasu, R. M. Locksley, A. N. J. McKenzie, R. E. Mebius, F. Powrie and H. Spits (2018). "Innate Lymphoid Cells: 10 Years On." *Cell* **174**(5): 1054-1066.
18. Woll, P. S., B. Grzywacz, X. Tian, R. K. Marcus, D. A. Knorr, M. R. Verneris and D. S. Kaufman (2009). "Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity." *Blood* **113**(24): 6094-6101.



## Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu

### Sprawozdanie z XXXIX Spotkania dydaktyczno-naukowego

W dniu 28 listopada 2018 r. w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirsztfelda PAN odbyło się XXXIX Spotkanie dydaktyczno-naukowe zorganizowane przez Komisję Przyrodniczo-Medyczną PAU we Wrocławiu, współfinansowane przez Gminę Wrocław.

Przed wykładem Dyrekcja Instytutu i członkowie Komisji spotkali się w Sali konferencyjnej z zaproszonym wykładowcą, dr med. Bartoszem Grzywaczem, który po ukończeniu z wyróżnieniem studiów na Akademii Medycznej we Wrocławiu (1999) i pracy w Dolnośląskim Centrum Transplantacji Komórkowych w zespole prof. dra Andrzeja Lange, wyjechał w 2005 roku do USA, gdzie rozwijał swoje zainteresowania naukowe w takich ośrodkach jak: University of Minnesota Cancer Center, University of Wisconsin Hospital and clinics, a obecnie pracuje jako Assoc. Prof. na Uniwersytecie Minnesota (Department of Laboratory Medicine and Pathology).

Spotkanie dydaktyczno-naukowe otworzyła o godzinie 13.00 w Auli im. Stefana Śłopka – w zastępstwie nieobecnego przewodniczącego Komisji, prof. Czesława Radzikowskiego – dr hab. Aleksandra Klimczak. Oficjalnie powitała wykładowcę, przybyłych gości, w tym Dyrektora Biura Współpracy z Uczelniami Wyższymi Urzędu Miasta Wrocławia oraz wszystkich licznie przybyłych słuchaczy (około 140 osób), w tym 125 uczniów IV, X i XV liceum przybyłych wraz z ich pedagogami.

Następnie przedstawiła krótko sylwetkę naukową dra Bartosza Grzywacza, który pracował również w naszym Instytucie.

O godzinie 13.10 rozpoczął się wykład pt. „**Komórki NK (Natural killer) – strażnicy organizmu przeciwko wirusom i nowotworom**”. Na początku wykładu dr Grzywacz uprzedził słuchaczy, że jest to jego pierwszy wykład po polsku od 13 lat. W bogato ilustrowanym przeźroczeniowym wykładzie dr Grzywacz przedstawił komórki NK, czyli komórki układu odpornościowego. W jasny sposób omówił podstawowe zasady działania komórek NK i etapy ich dojrzewania. Zgodnie z planem wykładu, zaprezentował jak komórki NK odróżniają przyjaciół od wrogów, porównując ich rolę do kontroli policyjnej. Przedstawił również przykłady zastosowania komórek NK w leczeniu chorób nowotworowych. Zapoznał słuchaczy z nowymi kierunkami immunoterapii, w których wykorzystuje się znajomość zjawiska pamięci immunologicznej komórek NK i inżynierii ich dojrzewania z komórek macierzystych do produkcji nowej generacji komórek NK.

Prowadząca Spotkanie, dr hab. Aleksandra Klimczak podziękowała Wykładowcy za prezentację i słuchaczom za wysłuchanie bardzo ciekawego wykładu, zgodnie z założeniem działania Komisji PAU, „zbliżającego wyniki fascynującego postępu w badaniach przyrodniczych, głównie w biologii molekularnej i genetyce, środowisku medycznemu, a także studentom, nauczycielom i uczniom klas licealnych kierunków przyrodniczych regionu dolnośląskiego”.





## **Komisja Przyrodniczo-Medyczna PAU we Wrocławiu**

Następnie zaprosiła zainteresowanych kontynuowaniem dyskusji do sali konferencyjnej na tradycyjne „Spotkanie po Spotkaniu”. W kameralnej dyskusji powrócono do treści wykładu i przedstawionych wyników, a także do zagadnień organizacji pracy naukowej i sposobów jej finansowania w USA i w naszych warunkach. Spotkanie zakończyło się ok. godz. 15.30.

W XXXIX Spotkaniu KPM PAU uczestniczyli członkowie Komisji: prof. prof. Tadeusz Dobosz, Aleksandra Klimczak, Katarzyna Prosek, Zbigniew Szewczuk, usprawiedliwili swoją nieobecność: profesorowie: Janusz Boratyński, Irena Frydecka, Bożena Obmińska-Mrukowicz, Czesław Radzikowski, Andrzej Sokalski.

Prof. dr hab. Czesław Radzikowski  
Przewodniczący  
Komisji Przyrodniczo-Medycznej PAU

Sprawozdanie przygotowała:  
Katarzyna Prosek  
Sekretarz Komisji

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

<b>Nr</b>	<b>Data</b>	<b>Numery liceów</b>
XXXVI	14.03.2018	IV, X, XV
XXXVII	25.04.2018	VII, VIII, XV
XXXVIII	19.09.2018	IV, X, XV
XXXIX	28.11.2018	IV, X, XV

**DOSTĘPNOŚĆ WYKŁADÓW**

Istnieje możliwość uczestniczenia w wykładzie za pomocą streamingu.

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.