

AUTOREFERAT

I. Imię i Nazwisko

Katarzyna Augoff

II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

2003: stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny, specjalność: medycyna, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu; Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego. Tytuł rozprawy: "Izoenzymy dehydrogenazy mleczanowej (iLDH) i białko Ki-67 jako czynniki rokownicze u chorych operowanych z powodu nowotworów żołądka"

1991: dyplom magistra biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski; Wydział Nauk Przyrodniczych. Tytuł pracy: "Zastosowanie połączonych chromatografii argentacyjnej i chromatografii na fazach odwróconych do analizy składu mieszanin lipidów rezorcynolowych."

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

od 2012 - specjalista naukowo-techniczny; Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu; Katedra i Klinika Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej

1 marca 2011 – 31 grudnia 2011 - research scholar; Cleveland Clinic; Department of Molecular Cardiology of Lerner Research Institute; OH, USA

1 września 2010 - 28 lutego 2011 - staż zagraniczny, współfinansowany ze środków projektu "Program rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu" nr 1-S/PD-SZ-6/2010; Cleveland Clinic; Department of Molecular Cardiology of Lerner Research Institute; OH, USA

16 lipca 2006 – 31 października 2006 - research scholar; Cleveland Clinic Foundation; Department of Molecular Cardiology of Lerner Research Institute; OH, USA

26 maja 2005 – 31 września 2005 - research scholar; Cleveland Clinic Foundation; Department of Molecular Cardiology of Lerner Research Institute; OH, USA

1992 - 2012 - specjalista naukowo-techniczny; Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu; Katedra i Klinika Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej

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

A. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

Zgodnie z treścią w/w ustawy, dołączonym do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego, osiągnięciem naukowym jest cykl powiązanych tematycznie prac objętych wspólnym tytułem: **“Zmiany na poziomie transkrypcji, syntezy i aktywacji wybranych czynników w guzach łagodnych i złośliwych.”**

B. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa):

1. **Augoff K**, Taboła R, Kula J, Gosk J, Rutowski R., Epidermal growth factor receptor (EGF-R) in Dupuytren's disease., 2005 Vol.30 no.6; s.570-573, J.Hand Surg.-Eur.Vol.

IF: 0.759

Liczba cytowań: 6 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)

Autor korespondencyjny, pomysłodawca tematu, zaplanowanie, przygotowanie i wykonanie doświadczeń, wiodący udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.

Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 80%.

2. **Augoff K**, Kula J, Gosk J, Rutowski R, Epidermal growth factor in Dupuytren's disease., 2005 Vol.115 no.1; s.128-13, Plast.Reconstruct.Surg.

IF: 1.692

Liczba cytowań: 8 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)

Autor korespondencyjny, pomysłodawca tematu, zaplanowanie, przygotowanie i wykonanie doświadczeń, wiodący udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.

Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 80%.

3. **Augoff K**, Ratajczak K, Gosk J, Taboła R, Rutowski R, Gelatinase A activity in Dupuytren's disease., 2006 Vol.31 no.10; s.1635-1639, J.Hand Surg.-Am.

IF: 1.286

Liczba cytowań: 15 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)

Autor korespondencyjny, pomysłodawca tematu, zaplanowanie, przygotowanie i wykonanie doświadczeń, wiodący udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.

Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 80%.

4. **Augoff K**, Rabczyński R, Taboła R, Czapla L, Ratajczak K, Grabowski K, Immunohistochemical study of decorin expression in polyps and carcinomas of the colon., 2008 Vol.14 no.10; s.CR530-CR535, Med.Sci.Monit.
IF: 1.514
Liczba cytowań: 4 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)
*Autor korespondencyjny, pomysłodawca tematu, zaplanowanie, przygotowanie i wykonanie doświadczeń, wiodący udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.
Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 75%.*
5. **Augoff K**, Grabowski K, Rabczyński J, Kolondra A, Taboła R, Sikorski AF, Expression of decorin in esophageal cancer in relation to the expression of three isoforms of transforming growth factor- β (TGF- β 1, - β 2, and - β 3) and matrix metalloproteinase-2 activity., 2009 Vol.27 no.4; s.443-452, Cancer Invest.
IF: 2.105
Liczba cytowań: 13 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)
*Autor korespondencyjny, pomysłodawca tematu, zaplanowanie, przygotowanie i wykonanie doświadczeń, wiodący udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.
Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 80%.*
6. **Augoff K**, Das M, Bialkowska K, McCue B, Plow EF, Sossey-Alaoui K., miR-31 is a broad regulator of β 1-integrin expression and function in cancer cells., 2011 Nov;9(11):1500-8, Mol Cancer Res.
IF: 4.288
Liczba cytowań: 18 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)
*Przygotowanie i wykonanie doświadczeń, udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.
Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 45%.*
7. **Augoff K**, McCue B, Plow EF, Sossey-Alaoui K., miR-31 and its host gene lncRNA LOC554202 are regulated by promoter hypermethylation in triple-negative breast cancer., 2012 Jan 30;11(1):5, Mol Cancer.
IF: 5.134
Liczba cytowań: 41 (wg danych Web of Science z dnia 20 października 2014)
*Przygotowanie i wykonanie doświadczeń, udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.
Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 80%.*
8. **Augoff K**, Hryniewicz-Jankowska A, Taboła R, Czapla L, Szelachowski P, Wierzbicki J, Grabowski K, Sikorski AF, Up-regulated expression and activation of membrane-

associated proteases in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)., 2014
Jun;31(6):2820-6 Oncol Rep.

IF: 2.19

Autor korespondencyjny, pomysłodawca tematu, zaplanowanie, przygotowanie i wykonanie doświadczeń, wiodący udział w analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do druku.

Indywidualny wkład w autorstwo oceniam na 80%.

- C. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/pracach i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Nieprawidłowy rozrost tkanek (nowotworzenie), jako fizjologicznie nieuzasadnione nagromadzenie w organizmie masy tkankowej o zaburzonej architekturze, jest zjawiskiem rozpoznawanym od wieków i od dawna dobrze scharakteryzowanym na poziomie makro- i mikroskopowym. Dotyczy to zarówno nowotworów o charakterze łagodnym, jak i złośliwym. Powszechnie akceptowana teoria genezy neoplazji (SMT; somatic mutation theory) mówi, że źródłem jej molekularnego uwarunkowania jest kumulacja pewnej liczby somatycznych mutacji w onkogenach lub/i nowotworowych genach inhibitorowych, których konsekwencją są przede wszystkim zaburzenia cyklu komórkowego, prowadzące do niekontrolowanej aktywności proliferacyjnej i warunkujące nieśmiertelność zmutowanych komórek. Jednak nie wszystkie specyficzne cechy i zachowania komórek nowotworowych da się wyjaśnić na podstawie tej teorii, szczególnie kiedy dyskutuje się zjawisko odwracalności inwazyjnego fenotypu komórek transformowanych. Coraz więcej wyników badań przeprowadzonych w ostatnim dziesięcioleciu potwierdza tezę, że komórki nowotworowe nie działają w pełni autonomicznie ale ściśle współpracują z najbliższym otoczeniem generując swoiste, lokalne mikrośrodowisko. Z jednej strony nowotworowo zmienione komórki, poprzez sygnały wysyłane do przestrzeni pozakomórkowej, mają zdolność aktywowania i pozyskiwania komórek stromalnych, takich jak fibroblasty, makrofagi, komórki śródbłonna czy adipocyty, które w odpowiedzi reorganizują strukturę macierzy w sposób umożliwiający komórkom nowotworowym rozrost, inwazję i przerzutowanie, a także indukują oporność na terapię. Z drugiej strony wiadomo, że zaburzenia w parakrynnych sygnałach podścieliska mogą mieć bezpośredni udział w aktywacji nowotworowego fenotypu zmutowanych komórek i tym samym odpowiadać za promocję wzrostu, heterogenność nowo tworzonej tkanki, a także potencjał inwazyjny czy metastatyczny.

Poszukiwanie nowych informacji ma na celu coraz lepsze poznanie i zrozumienie mechanizmów, które inicjują i regulują procesy rozrostowe tkanek, tworząc tym samym bazę do skutecznej walki o zdrowie i życie pacjenta. Tak w przypadku guzów łagodnych jak i guzów złośliwych, interwencja chirurgiczna jest najczęściej pierwszym sposobem leczenia z wyboru. Ponieważ nie zawsze operacja jest możliwa lub nie gwarantuje wyleczenia, poszukiwanie czynników odpowiedzialnych za patologicznie wzmożoną aktywność proliferacyjną komórek wydaje się uzasadnione z perspektywy wykorzystania

terapii lekowej, nawet jeżeli nie w zastępstwie zabiegu chirurgicznego, to przynajmniej wspomagającej proces leczenia. Zatem, celem przedstawionej rozprawy jest zaprezentowanie wyników serii prac, w których podjęto próbę scharakteryzowania wybranych czynników, istotnych z punktu widzenia komunikacji między guzem i jego mikrośrodowiskiem, wraz z oceną ich znaczenia w rozwoju różnego typu nowotworów.

Większość spotykanych u ludzi nowotworów to guzy łagodne. Jednym z przykładów łagodnego przerostu tkanki jest włókniakowatość guzkowata rozciągnięta dłoni, popularnie zwanej przykurczem Dupuytrena (*morbis/contractura Dupuytren*). Jest to zmiana o charakterze progresywnym i z histologicznego punktu widzenia przebiega w trzech etapach, przez Lucka opisanych jako faza proliferacyjna, inwolucyjna i resztkowa. Proces chorobowy rozpoczyna się wraz z pojawieniem się guzowatych zgrubień w miejscach silnej koncentracji intensywnie dzielących się fibroblastów, które stopniowo różnicują do mio-fibroblastów. Główną cechą odróżniającą mio-fibroblasty od pozostałych fibroblastów jest zdolność do syntezy *de novo* alfa aktyny mięśni gładkich (α -SMA; alpha-smooth muscle actin) oraz zwiększona ekspresja i synteza białek strukturalnych macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM; extracellular matrix), głównie kolagenu typu III. Nadmierne wydzielanie białek włóknistych do przestrzeni pozakomórkowej i ich miejscowe nagromadzenie wraz z towarzyszącą temu kurczliwą siłą generowaną z udziałem α -SMA w mio-fibroblastach prowadzi do patologicznego bliznowacenia tkanki, jej progresywnego przykurczu i w konsekwencji deformacji dłoni. Stopień zaawansowania klinicznego przykurczu Dupuytrena opisuje czterostopniowa skala Iselina. Wiadomo, że zarówno wzmożona proliferacja, jak i różnicowanie fibroblastów do komórek mio-fenotypowych mogą być odpowiedzią na autokrynnie i/lub parakrynnie stymulowanie czynnikami wzrostu. Ważną rolę w tych procesach mogą więc pełnić takie czynniki, jak pochodzący z płytek czynnik wzrostu (PDGF; platelet-derived growth factor), fibroblastyczny czynnik wzrostu (FGF; fibroblast growth factor), transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β ; transforming growth factor-beta), czy naskórkowy czynnik wzrostu, (EGF; epidermal growth factor). W porównaniu do rozciągnięta prawidłowego w hiperplastycznym rozciągnięciu dłoni obserwowano istotne zmiany stężenia PDGF, FGF i TGF- β , sugerujące aktywny udział tych czynników i aktywowanych przez nie dróg sygnałowych w patogenezie włókniakowatości guzkowatej. Brak jednak było informacji na temat roli EGF w tym procesie.

Droga przekazywania sygnałów z udziałem receptora EGF (EGF-R) jest jedną z najlepiej poznanych i stanowi wręcz modelowy system do zrozumienia jak transmembranowe receptory o aktywności kinazy tyrozynowej regulują odpowiedź komórkową na stymulację ligandem. Na istotny związek EGF-R z wieloma różnymi procesami patologicznymi zwrócono uwagę już pod koniec lat osiemdziesiątych XX wieku. Prowadzone od tamtego czasu badania doprowadziły do opracowania i wdrożenia leków nowej generacji, których bezpośrednim zadaniem jest blokowanie dróg sygnałowych inicjowanych aktywacją EGF-R.

Praca pt. 'EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGF-R) IN DUPUYTREN'S DISEASE', Journal of Hand Surgery (British and European Volume), 2005:30B(6);570–573, Augoff K. i wsp. jest pierwszą próbą poszukiwania związku pomiędzy zaburzeniami na drodze przekazywania sygnałów z udziałem EGF-R i włóknikowatością guzkowatą w obrębie dłoni.

EGF-R, znany też jako HER1/ErbB1, jest transbłonową glikoproteiną, jednym z czterech blisko spokrewnionych członków rodziny receptorów ErbB/HER, aktywowanych przez co najmniej 13 różnych czynników. Przyłączanie ligandu indukuje kompleksowanie receptora do homo- lub heterodimerskich form. W wyniku zmian konformacyjnych, związanych z procesem dimeryzacji, następuje aktywacja cytoplazmatycznych domen katalitycznych i w efekcie specyficzna autofosforylacja reszt tyrozynowych przy C-końcach, otwierająca dostęp do receptora białkom adaptorowym. Białka adaptorowe, aktywowane i zwalniane już jako białka efektorowe, uruchamiają system przepływu informacji w skład którego wchodzi kilka różnych dróg sygnałowych znanych jako droga kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAPK; mitogen-activated protein kinase), droga kinazy-3 fosfatydyloinozytolu (PI3K; phosphoinositide 3-kinase), białkowej fosfolipazy C gamma (PLC γ ; phospholipase C-gamma), kinazy anty-apoptotycznej (AKT) czy droga sygnałowego przekaźnika i aktywatora transkrypcji (STAT; signal transducer and activators of transcription), a wszystkie one funkcjonują na bazie sekwencyjnej fosforylacji kolejnych, specyficznych dla każdej drogi, przekaźników. EGF-R kierując sygnał z powierzchni błony na właściwą ścieżkę sygnałową ma kontrolę nad ekspresją genów i syntezą białek decydujących o podziale komórki, czy jej śmierci. Te właściwości stały się podstawą do przeprowadzenia analizy EGF-R w rozciągniętej dłoni z włóknikowatością guzkowatą o różnym stopniu rozwoju choroby. Do analizy wykorzystano metodę ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Ponieważ o funkcji receptora decyduje jego komórkowa lokalizacja, zmiany w dostępności EGF-R dla ligandu, które zdefiniowano jako stosunek ilościowy receptora związanego z błoną komórkową do receptora pozostającego wewnątrz komórki, co śledzono w zależności od stanu klinicznego zaawansowania choroby. Materiał do badań w postaci fragmentów rozciągnięta uzyskano śródoperacyjnie od pacjentów leczonych z powodu przukurczu dłoni w Klinice Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu. Wyniki badań wskazują, że zmiany w dostępności receptora EGF dla ligandu mają charakter dynamiczny i współgrają z aktywacją fibroblastów w poszczególnych etapach choroby. Najwyższy stosunek związanego z błoną EGF-R do EGF-R wewnątrzkomórkowego obserwowano w II^o zaawansowania choroby i był on statystycznie większy od tego wyznaczonego dla tkanek bez znamion włóknikowatości. To sugeruje, że EGF-R ma istotny udział w patogenezie przykurczu dłoni ale jego rola wydaje się związana raczej z różnicowaniem fibroblastów do mio-fibroblastów niż ze zwiększaniem aktywności proliferacyjnej komórek.

Aktywatorami EGF-R są białka z rodziny EGF. Obok samego EGF są to między innymi amfiregulina (AR; amphiregulin), epiregulina (EPR; epiregulin), transformujący czynnik wzrostu alpha (TGF α ; transforming growth factor alpha), EGF wiążący heparynę (HB-EGF; heparin binding EGF-like

growth factor), czy neuregulina-2 beta (NRG2 β ; neuregulin 2 beta). Pomimo, że wszystkie te białka podobnie wiążą i aktywują EGF-R, to funkcjonalnie różnią się między sobą. Mechanizm tego zjawiska nie został jednak do końca wyjaśniony.

EGF, podobnie jak pozostali członkowie rodziny, początkowo występuje w formie transmembranowego prekursora, z którego specyficzne metaloproteinazy odcinają i uwalniają do przestrzeni zewnątrzkomórkowej 53-aminokwasowy polipeptyd zdolny do wiązania i aktywacji receptora. Jest wiele dowodów wskazujących na istotny udział EGF w stymulowaniu proliferacji i keratynizacji komórek podczas rozwoju naskórka ale też i jego ważnej roli w procesie gojenia ran, czy patogenezie nowotworów złośliwych.

W pracy pt. "EPIDERMAL GROWTH FACTOR IN DUPUYTREN'S DISEASE" *Plast.Reconstruct.Surg.* 2005:115(1);128-133, Augoff K. i wsp. wykazano, że zaburzony poziom syntezy EGF jest zjawiskiem towarzyszącym również łagodnym zmianom rozrostowym rozciągnięta dłoni. Poziom wolnego EGF w tkankach, pobranych śródoperacyjnie z dłoni pacjentów leczonych z powodu przykurczu Dupuytrena, mierzony był metodą ELISA. Okazało się, że inaczej niż w przypadku większości cytokin, poziom EGF w rozciągniętej dłoni w aktywnej fazie proliferacji fibroblastów jest istotnie mniejszy niż w rozciągniętej o zanikającej aktywności komórkowej oraz rozciągniętej bez oznak włóknikowości. To sugeruje, że EGF nie odpowiada za zwiększoną aktywność proliferacyjną fibroblastów, a więc nie odgrywa bezpośredniej roli w procesie tworzenia guzkowatych zmian w obrębie rozciągniętej dłoni. Jednak znaną funkcją EGF, obok wcześniej wspomnianych, jest również działanie antagonistyczne względem czynnika TGF- β 1, którego ilość istotnie się zwiększa w tkankach chorobowo zmienionych u pacjentów cierpiących z powodu przykurczu Dupuytrena. Zaburzenie fizjologicznej równowagi pomiędzy EGF i TGF- β 1 i wynikający stąd brak kontroli aktywności TGF- β 1, głównego czynnika generującego różnicowanie fibroblastów do α -SMA-pozytywnych form, może sugerować pośredni udział EGF w rozwoju włóknikowości.

TGF- β 1 jest również jednym z głównych czynników odpowiedzialnych za odkładanie białek włóknistych w ECM. Z drugiej strony ma też bezpośredni udział w kontroli ekspresji genów kodujących enzymy, które biorą udział w proteolitycznej reorganizacji struktur szkieletowych macierzy. Enzymy te, to głównie metaloproteinazy (MMP; matrix metalloproteinases), stanowiące dużą rodzinę funkcjonalnie zależnych od jonów cynku i wapnia endopeptydaz. Ponieważ razem enzymy te zdolne są do degradacji wszystkich białek włóknistych ECM, uważane są za głównego organizatora przestrzeni pozakomórkowej. Jednocześnie wiadomo, że MMP biorą udział w uwalnianiu z komponentów macierzy aktywnych biologicznie czynników. Decydują więc nie tylko o mechanicznych właściwościach ECM ale są też wyjątkowo ważnym pośrednikiem w komunikacji pomiędzy komórkami i/lub komórkami i ich środowiskiem.

Jednym z najbardziej charakterystycznych członków tej rodziny enzymów jest metaloproteinaza 2/żelatynaza A (MMP-2; matrix metalloproteinase 2/gelatinase A). MMP-2 (72 kDa) jest kolagenazą typu

IV, syntetyzowaną i uwalnianą w formie pro-enzymu, który ulega aktywacji w przestrzeni pozakomórkowej przy udziale jednej z metaloproteinaz błonowych. Aktywna forma MMP-2 (62-kDa), wykazuje specyficzność substratową (z różnym powinowactwem) w stosunku do kolagenu typu I, II i IV, fibronektyny i elastyny oraz do niektórych proteoglikanów. Zaburzenia kontroli aktywacji MMP-2 w ECM są częstym zjawiskiem związanym z różnymi procesami patologicznymi, takimi jak stan zapalny, miażdżyca, czy inwazja i metastaza nowotworowa. W pracy pt. "GELATINASE A ACTIVITY IN DUPUYTREN'S DISEASE." J Hand Surg Am. 2006 Dec;31(10):1635-9, Augoff K. i wsp. wykazano, że zmiany w aktywacji MMP-2 są ściśle związane również z włóknikowością rozciągniętej dłoni. Poziom aktywacji MMP-2, wyrażony stosunkiem aktywnej formy MMP-2 do fizjologicznie nieaktywnego proenzymu, mierzono densytometrycznie w ekstraktach tkankowych rozdzielanych i aktywowanych w zymografii substratowej. Istotnie większy stopień aktywacji MMP-2 obserwowano we wszystkich tkankach chorobowo zmienionych w porównaniu do tkanek kontrolnych, bez objawów włóknikowości. Najwyższy poziom aktywacji MMP-2 był charakterystyczny dla wczesnego stadium choroby, sklasyfikowanego jako I° wg skali Iselina, histologicznie związanego ze wzmożoną aktywnością proliferacyjną fibroblastów. Poziom ten stopniowo, wraz z progresem przykurczu palców, obniżał się ale nawet w daleko zaawansowanych przypadkach pozostawał statystycznie większy niż w rozciągnięciu prawidłowym.

Zmiany w aktywacji MMP-2 w relacji do stopnia zaawansowania choroby wskazują na to, że enzym ten ma istotny udział w inicjowaniu wzrostu guzków proliferacyjnych. Wydaje się zatem, że warte rozważenia może być wykorzystanie inhibitorów MMP-2 w terapii farmakologicznej u pacjentów z wczesną włóknikowością dłoni.

Macierz zewnątrzkomórkowa jest wielce skomplikowaną, dynamiczną strukturą, która nie tylko odpowiada za organizację przestrzenną tkanki ale też, będąc stale jeszcze mało docenianym magazynem informacji, kontroluje wiele komórkowych zachowań. Obok podstawowych białek szkieletowych takich jak kolagen, laminina, czy fibronektyna, ważnymi elementami wchodzącymi w skład ECM są małe, bogate w leucynę proteoglikany (SLRP; small leucine-rich proteoglycans). Rodzinę SLRP stanowi osiem strukturalnie pokrewnych ale genetycznie odmiennych członków. Jednym z nich jest dekoryna (DCN; decorin), proteoglikan niezbędny w utrzymaniu stabilności i integralności włóknistych struktur ECM. DCN wchodzi w interakcje nie tylko z takimi białkami jak kolagen, fibronektyna, trombospondyna-1 czy tropoelastyna, ale ma również zdolność wiązania niektórych czynników wzrostu i ich receptorów, co powoduje, że uczestniczy w kontroli zewnątrzkomórkowego systemu przepływu informacji. Z punktu widzenia zmian rozrostowych najbardziej istotny wydaje się udział DCN w negatywnej kontroli proliferacji komórkowej. Wiązanie DCN do receptora EGF pociąga za sobą aktywację drogi sygnałowej prowadzącej do zwiększenia ekspresji genu CDKN1A kodującego białko p21/Waf1/Cip1, inhibitor kinazy zależnej od cyklin, które będąc bezpośrednio związane z cyklem komórkowym odpowiada za wstrzymanie podziału komórkowego. Wszystkie te cechy wskazują na ważną

role DCN w utrzymaniu homeostazy. Wydaje się więc, że zaburzenia funkcji DCN mogą się bezpośrednio przekładać na niekontrolowany rozrost komórkowy. Faktem jest, że aktywnie dzielące się komórki generalnie charakteryzuje brak lub niska ekspresja genu *DCN* i synteza DCN.

Polipy jelita grubego stanowią grupę najczęściej identyfikowanych zmian rozrostowych błony śluzowej w dolnym odcinku przewodu pokarmowego. Większość z nich, w ocenie histopatologicznej, to formy łagodne. Niemniej szeroko akceptowany związek polipów z rakiem jelita grubego, zwiększa ich znaczenie kliniczne i potrzebę prowadzenia badań w kierunku poszukiwania skutecznych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Celem pracy pt. "IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF DECORIN EXPRESSION IN POLYPS AND CARCINOMAS OF THE COLON." Med Sci Monit, 2008; 14(10): CR530-535, Augoff K. i wsp. było więc znalezienie odpowiedzi na pytanie o rolę DCN w formowaniu i różnicowaniu polipów jelita grubego i jej ewentualny związek z uwarunkowaniem złośliwienia, a co za tym idzie, ocena DCN jako potencjalnego czynnika do wykorzystania w terapii antynowotworowej. Badania przeprowadzone zostały metodą immunohistochemiczną przystosowaną do pracy z preparatami parafinowymi. Fragmenty jelita grubego obejmujące zmiany polipowate pochodziły od pacjentów leczonych endoskopowo w Klinice Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu. Zgodnie z oceną histopatologiczną wyodrębniono trzy grupy badane, mianowicie, polipy hiperplastyczne, polipy cewkowe i cewkowo-kosmkowe. Wyniki porównano do tych, uzyskanych dla prawidłowej błony śluzowej, pochodzącej z marginesu polipektomii, oraz raka jelita grubego.

Wysoki poziom immunoreaktywności przeciwko DCN obserwowano we wszystkich badanych tkankach prawidłowych i obejmował on cały obszar podścieliska. Podobny wynik uzyskano w przeważającej liczbie przypadków polipów hiperplastycznych i cewkowych. Standardowo polipy hiperplastyczne uważa się za zmiany, które nie predysponują do transformacji w formy złośliwe, inaczej niż polipy gruczolowe (gruczolaki), czy cewkowe i kosmkowe. Obecność w polipach struktur kosmkowych, którym przypisuje się największą skłonność do przechodzenia w zmiany złośliwe, wiązało się z istotnym zmniejszeniem ilości DCN, głównie w obrębie samych kosmków. Niski poziom lub brak DCN obserwowano też w stromie bezpośrednio okalającej skupiska komórek rakowych we wszystkich badanych fragmentach gruczolakoraków. Wyjątek stanowił przypadek gruczolakoraka śluzotwórczego (*adenocarcinoma mucinosum*). Różnicowanie histologiczne raka jelita grubego jest wynikiem indywidualnych dla każdego typu zaburzeń genetycznych/epigenetycznych, co może przekładać się na odmienny obraz aktywności określonych czynników i ich wielofunkcyjność. W pracy wykazano, że ilość DCN w polipach jest odwrotnie proporcjonalna do ich predyspozycji do przechodzenia w formy złośliwe. To potwierdza udział DCN w różnicowaniu polipów i weryfikuje jej rolę jako naturalnej bariery chroniącej przed nadmierną aktywnością proliferacyjną komórek nabłonka jelita grubego. Stąd wydaje się, że DCN może być brana pod uwagę w strategii terapeutycznej gruczolaków i gruczolakoraków, jako czynnik odbudowujący homeostazę tkanki.

Rdzeń DCN stanowi małe białko o masie cząsteczkowej około 44 kDa, którego centralny region tworzą powtarzające się sekwencje aminokwasowe wzbogacone w leucynę. Region ten jest miejscem istotnym z punktu widzenia oddziaływań DCN z innymi białkami. Jest też miejscem proteolitycznej aktywności metaloproteinaz, głównie MMP-2, -3 i -7. Wykazano, że w warunkach patologicznych enzymatyczna degradacja DCN może skutkować uwalnianiem biologicznie aktywnych, dimerycznych form TGF- β związanych z DCN. Uważa się bowiem, że DCN mając zdolność tworzenia kompleksów z TGF- β stanowi rodzaj zewnątrzkomórkowego rezerwuaru tego czynnika. Żeby odpowiedzieć na pytanie, czy DCN może mieć bezpośredni związek z aktywnością TGF- β w procesie patologicznego rozrostu tkanki, badano poziom DCN w relacji do ekspresji genów kodujących różne izoformy TGF- β i aktywacji MMP-2 w płaskonabłonkowym raku przełyku (ESCC; esophageal squamous cell carcinoma). Wyniki przedstawione zostały w pracy pt. "EXPRESSION OF DECORIN IN ESOPHAGEAL CANCER IN RELATION TO THE EXPRESSION OF THREE ISOFORMS OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA (TGF-beta1, -beta2, AND -beta3) AND MATRIX METALLOPROTEINASE-2 ACTIVITY" Cancer Invest. 2009 May;27(4):443-52, Augoff K. i wsp.. ESCC uważany jest za jeden z najbardziej złośliwych nowotworów przewodu pokarmowego. Stosunkowo późne symptomy choroby i szybkie przerzutowanie sprawiają, że ponad 50% przypadków ESCC w momencie diagnozowania to zmiany nieoperacyjne. Jednocześnie brak skutecznej terapii zastępczej powoduje, że tak ważne jest poznanie mechanizmu, który decyduje o wysokiej inwazyjności tego typu nowotworu. Porównanie tkanek rakowych z tkankami prawidłowymi wykazało, że statystycznie istotnie większy poziom aktywacji MMP-2 jest charakterystyczny dla patologicznych procesów rozrostu komórek nabłonka przełyku. W tkankach rakowych obserwowano jednocześnie zmniejszony poziom ekspresji DCN oraz nieznaczne zwiększenie ekspresji wszystkich izoform TGF- β . Obserwowane różnice nie były jednak istotne ze statystycznego punktu widzenia. Chociaż wykazano obecność w lizatach tkankowych kompleksu DCN-TGF- β 1, to zmiany w poziomie syntezy obu tych czynników nie korelowały ze sobą. Na tej podstawie można więc sądzić, że system uwalniania TGF- β z kompleksu z DCN przez metaloproteinazę nie ma istotnego znaczenia w procesie rozrostu i złośliwienia komórek nabłonka przełyku. Otwartą kwestią pozostaje rzeczywiste znaczenie MMP-2 dla rozwoju ESCC.

Inwazyjne komórki nowotworowe mają zdolność do formowania specyficznych, zależnych od kinaz Src, adhazyjnych struktur zwanych inwadopodiami. Centralną częścią tych dynamicznych błonowych wypustek jest rdzeń aktynowo-kortaktynowy otoczony białkami adhezyjnymi i regulatorowymi oraz różnego typu proteazami, których obecność determinuje komunikację z przestrzenią pozakomórkową i kontroluje procesy degradacji i reorganizacji ECM. Większość związanych z inwadopodiami enzymów proteolitycznych to białka transmembranowe. Należą do nich przede wszystkim metaloproteinazy typu błonowego, jak MT1-MMP, i dwupeptydylowe peptydazy z rodziny proteaz serynowych, w tym białko aktywujące fibroblasty alpha (FAP- α ; fibroblast activation protein alpha) i peptydaza dipeptydylowa IV (DPPIV; dipeptidyl peptidase IV). Niektóre proteazy, jak MMP-2 i MMP-9, to

enzymy pośrednio związane z błoną komórkową. MMP-2 może wiązać się do MT1-MMP pozostającej w kompleksie z tkankowym inhibitorem metaloproteiny 2 (TIMP 2; tissue inhibitor of metalloproteinase 2) lub/i do integryn, takich jak $\alpha\beta3$ i $\alpha3\beta1$. Skupianie proteaz na powierzchni błony komórkowej w obrębie struktur adhezyjnych intensyfikuje miejscowo aktywność lityczną, czyniąc z nich narzędzie torujące komórkom nowotworowym drogę do inwazji i metastazy, a więc decyduje o stopniu ich agresywności.

Próbie scharakteryzowania roli wybranych systemów proteolitycznych związanych z błoną w rozwoju ESCC prezentuje praca pt. "UPREGULATED EXPRESSION AND ACTIVATION OF MEMBRANE-ASSOCIATED PROTEASES IN ESOPHAGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA (ESCC)." *Oncol Rep.* 2014 Jun;31(6):2820-6, Augoff K. i wsp. Profil enzymatyczny, obejmujący trzy metaloproteiny (MMP-2, MMP-9 i MT1-MMP) oraz dwie proteazy serynowe (FAP- α i DPPIV), w tkankach nowotworowych sparowanych z tkankami wolnymi od zmian, pochodzącymi z brzegów resekcji, został wyznaczony w oparciu o analizę western blot (WB), reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction) i zymografię substratową. W ESCC ekspresja i/lub aktywacja wszystkich badanych enzymów była istotnie zaburzona. Zmiany w ekspresji FAP- α i DPPIV były ze sobą ściśle skorelowane. Dodatnią korelację znaleziono również pomiędzy obiema proteazami serynowymi i aktywnością MMP-2 i MMP-9. Wydaje się więc, że związane z błoną systemy proteolityczne są ściśle powiązane z rozwojem płaskonabłonkowego raka przełyku i kolektywnie biorą udział w degradacji ECM wspierając proces inwazji i przerzutowania. Potrzebne są jednak dalsze badania, które pozwolą zrozumieć mechanizmy uruchamiające i kontrolujące zjawisko wzmożonej aktywności proteolitycznej w obrębie struktur adhezyjnych, szczególnie inwadopodiów. Co ciekawe, we wszystkich badanych tkankach, mikroskopowo ocenionych jako prawidłowe, pochodzących z marginesu resekcji zmian nowotworowych, obserwowano obecność mRNA dla FAP- α . Do tej pory powszechnie uważa się, że gen FAP nie ulega ekspresji w komórkach prawidłowych dojrzałych tkanek. Ten wynik może więc świadczyć o tym, że zmiany stromalne towarzyszące tak wysoce złośliwym nowotworom, jak ESCC sięgają do tkanek okalających guz znacznie głębiej niż na odległość 6-10 cm od jego granicy, którą uznaje się za bezpieczny margines resekcyjny. Może to tym samym potwierdzać szczególną rolę FAP- α w przygotowywaniu mikrośrodowiska do inwazji nowotworowej.

Układ komórek w przestrzeni jest determinowany przez różnego typu mechanizmy adhezyjne włączone zarówno w bezpośrednie interakcje pomiędzy komórkami jak i między komórkami, a elementami strukturalnymi ECM. Stanowią więc również integralną część procesów nowotworzenia. Mechanizmy te działają w oparciu o komórkowe cząsteczki adhezyjne (cell-adhesion molecules; CAMs). Ich główną grupę tworzą receptory integrynowe. Zdolność integryn do bezpośredniego wiązania ligandów zewnątrzkomórkowych z jednej strony i oddziaływanie z cytoszkieletem z drugiej, czyni z nich ważnych pośredników w przepływie informacji przez błonę komórkową. Ponieważ przekazywanie sygnału przy udziale integryn może odbywać się w obie strony, pośredniczą one zarówno w odpowiedzi komórkowej wywołanej stymulacją czynnikami zewnątrzkomórkowymi (outside-in), jak i w przekazie sygnałów

komórkowych do ECM (inside-out). Mają tym samym bezpośredni wpływ na podstawowe zachowania komórek, a jednocześnie pośredniczą w kształtowaniu mikrośrodowiska. Dlatego konsekwencją zaburzeń jakościowych lub/i ilościowych integryn może być utrata kontroli nad podziałem komórek, ich różnicowaniem, czy migracją, ale też nad organizacją struktur macierzy zewnątrzkomórkowej. Receptory integrynowe funkcjonują jako heterodimery zbudowane z podjednostek α i β , z których znanych jest odpowiednio 18 i 8 typów. Skład podjednostkowy określa specyficzność integryn w stosunku do poszczególnych ligandów i siłę wiązania, ma więc decydujący wpływ na wybór ścieżki sygnałowej, która ma ulec aktywacji.

MikroRNA (microRNA; miRNA) są endogennymi, około 23-nukleotydowymi, niekodującymi białek łańcuchami kwasu rybonukleinowego (RNA), transkrybowanymi z wielu różnych loci w genomie. Ich sekwencja może być fragmentarycznie komplementarna do jednej lub kilku cząsteczek matrycowego RNA (messenger RNA; mRNA). MikroRNA wiążąc mRNA mają wpływ na regulację ekspresji genów. Biorą udział w blokowaniu translacji, deadenytacji, czy degradacji mRNA. Uważa się, że translacja około 30% komórkowego mRNA może być regulowana przez cząsteczki miRNA, których do tej pory opisano ponad tysiąc. Regulacja ta opiera się o wysoce konserwatywne motywy, sekwencje definiowane jako "seed", w całości lub częściowo komplementarne do obszarów nietranslacyjnych w regionach 3' (UTR) docelowych genów, w tym genów istotnych z punktu widzenia transformacji nowotworowej. Wśród ostatnio wykrytych i scharakteryzowanych cząsteczek miRNA jest miR-31, uważany za jednego z głównych regulatorów ekspresji takich genów jak *RHOA*, *WAVE3*, czy kodującego $\alpha 5$ podjednostkę integryny genu *ITGA5*, których białkowe produkty odgrywają ważną rolę w procesie różnicowania komórek, inwazji i metastazy nowotworowej. W pracy pt. "miR-31 IS A BROAD REGULATOR OF $\beta 1$ -INTEGRIN EXPRESSION AND FUNCTION IN CANCER CELLS", Mol Cancer Res. 2011 Nov;9(11):1500-8, Augoff K. i wsp., wykazano, poprzez analizę *in silico*, że w regionach 3'UTR genów kodujących inne podjednostki integrynowe, mianowicie $\alpha 2$ i αV oraz $\beta 3$, również znajdują się motywy w pełni lub częściowo komplementarne z sekwencją "seed" w obrębie miR-31. Wykorzystując transfekowane komórki linii MDA-MB-231, stabilnie ekspresjonujące miR-31, znaleziono ścisłą zależność pomiędzy ekspresją miR-31 i wszystkimi wskazanymi podjednostkami integrynowymi, zarówno na poziomie mRNA, jak i białkowym. Wynikiem zwiększonej ekspresji miR-31 w komórkach MDA-MB-231 było nie tylko zmniejszenie, o około 50% w porównaniu do komórek transfekowanych kontrolnym wektorem, ilości wszystkich czterech podjednostek ($\alpha 2$, $\alpha 5$, αV i $\beta 3$) na powierzchni błony komórkowej ale też prawie dwukrotne zmniejszenie ekspresji *ITGB1*, genu kodującego podjednostkę $\beta 1$, pomimo że *ITGB1* nie zawiera sekwencji komplementarnej do miR-31. Efekt hamowania w stosunku do podjednostek integrynowych wywołany ekspresją miR-31 obserwowano we wszystkich użytych molekularnych i komórkowych testach, włączając ilościowy RT-PCR (qRT-PCR), WB, system reporterowy lucyferazy, czy cytometrię przepływową. Biologiczną konsekwencją zmniejszonego poziomu integryn była zaburzona odpowiedź komórkowa na obecność różnego typu ligandów, związana z ograniczoną

zdolnością do przylegania i rozprzestrzeniania się komórek na powierzchni. Praca ta potwierdziła ważną rolę miR-31 w kontroli funkcji genów, których białkowe produkty są głównymi udziałowcami komórkowych procesów adhezyjnych, a tym samym wykazała znaczenie miR-31 w hamowaniu inwazji i metastazy nowotworowej. Pokazany kompleksowy efekt działania czyni miR-31 nowym, ważnym czynnikiem do potencjalnego wykorzystania w terapii nowotworowej szczególnie, że zaburzona ekspresja miR-31 jest zjawiskiem obserwowanym w różnych nowotworach. Z tego też powodu wydało się ważne poznanie mechanizmu kontroli ekspresji miR-31. Odpowiedź na pytanie, w jaki sposób utrata miR-31 wiąże się z aktywacją genów promujących przejście komórki nowotworowej do formy zdolnej do przerzutowania, stało się celem projektu, którego wyniki zawarto w pracy pt. "miR-31 AND ITS HOST GENE LncRNA LOC554202 ARE REGULATED BY PROMOTER HYPERMETHYLATION IN TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER", Mol Cancer. 2012 Jan 30;11(1):5, Augoff K. i wsp. Wykorzystując metodę reakcji łańcuchowej polimerazy wrażliwej na metylację (methylation-specific PCR; MS-PCR) i sekwencjonowanie DNA zmodyfikowanego dwusiarczanem sodowym wykazano, że wyciszenie miR-31, które jest obserwowane w nabłonkowych komórkach nowotworowych typu bazalnego, linii wyprowadzonych z potrójnie negatywnych raków sutka (triple-negative breast cancer; TNBC), ściśle wiąże się z hipermetylacją wysepek CpG promotora LOC554202. Nowotwory typu TNBC uchodzą za wyjątkowo agresywne z wysoką skłonnością do nawrotów. Charakteryzuje je brak ekspresji genów kodujących receptory takich hormonów jak alpha estrogen (ER- α) i progesteron (PR) oraz receptora naskórkowego czynnika wzrostu 2 (human epidermal growth factor receptor 2; HER2). Sekwencję nukleotydową miR-31 zlokalizowano w intronie LOC554202, w sekwencji długiego niekodującego (lnc) RNA z czego wynika, że jego transkrypcyjna aktywność pozostaje pod bezpośrednią kontrolą genu LOC554202. Istotny wzrost ekspresji, zarówno miR-31 jak i LOC554202, wywołany traktowaniem komórek TNBC tylko czynnikiem demetylującym lub z dodatkiem czynnika deacetylującego wyraźnie wskazuje na to, że jednym z głównych mechanizmów regulujących ekspresję obu tych genów jest epigenetyczna modyfikacja. Praca ta, co watto podkreślić, jest pierwszym raportem przedstawiającym hipermetylację promotora jako główny mechanizm kontrolujący poziom ekspresji miR31, czynnika ściśle związanego ze stopniem agresywności komórek nowotworowych. Być może ten fakt będzie mógł być skutecznie wykorzystany w diagnostyce nowotworowej pod kątem oceny stopnia agresywności oraz prognozowania przebiegu leczenia.

Reasumując, w oparciu o zaprezentowane powyżej prace, za najważniejsze osiągnięcia uznaję:

- Wykazanie istotnego związku drogi sygnałowej EGF/EGF-R z rozwojem łagodnych guzkwatych zmian w obrębie rozciągnięta dłoni ze wskazaniem jej szczególnego znaczenia w aktywowaniu stromalnych fibroblastów.

- Wykazanie, że istotny wzrost w aktywacji MMP-2, obserwowany w początkowym etapie tworzenia guzków proliferacyjnych, może wskazywać na zasadność wykorzystania inhibitorów MMP-2 w terapii wczesnej włókniakowatości dłoni.
- Potwierdzenie udziału dekoryny w różnicowaniu polipów, ze wskazaniem na możliwość wykorzystania jej w terapii gruczolaków i gruczolakoraków, jako czynnika odbudowującego homeostazę i chroniącego przed nadmierną aktywnością proliferacyjną komórek nabłonka jelita grubego.
- Wykazanie, że płaskonabłonkowy rak przełyku charakteryzuje się wysoką aktywnością MMP-2, która jednak nie przekłada się bezpośrednio na poziom uwalnianego TGF- β z kompleksu z dekoryną w procesie nowotworzenia.
- Wykazanie, że wysoki stopień agresywności płaskonabłonkowych raków przełyku może mieć bezpośredni związek z wysoką ekspresją i aktywacją proteaz związanych z błoną komórkową. Zwrócono też uwagę na obecność transkryptów FAP- α w histologicznie prawidłowych tkankach, pochodzących z marginesu resekcji świadczących, że zmiany mikrośrodowiska umożliwiające inwazję nowotworową mogą sięgać w przypadku ESCC znacznie odleglejszych od guza rejonów, niż dotychczas sądzono.
- Odnalezienie w regionach 3'UTR genów kodujących podjednostki integrynowe $\alpha 2$, αV i $\beta 3$ motywów w pełni lub częściowo komplementarnych z sekwencją "seed" w obrębie miR-31 oraz wykazanie zależności bezpośredniej między ekspresją miR-31 i wszystkimi tymi trzema podjednostkami i pośredniej, jak w przypadku podjednostki $\beta 1$, zarówno na poziomie mRNA jak i białkowym
- Zlokalizowanie miR-31 w intronie genu LOC554202, w sekwencji długiego niekodującego (lnc) RNA i wykazanie, że głównym mechanizmem obniżającym poziom ekspresji miR31 w potrójnie negatywnych komórkach raka sutka jest hipermetylacja promotora genu LOC554202.

D. omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:

Ważną część dorobku naukowego stanowią publikacje naukowe będące wynikiem współpracy z Zakładem Cytobiochemii Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, pod kierownictwem prof. Aleksandra F. Sikorskiego. Prace te dotyczą tworzenia, organizacji i stabilizacji komórkowych mikrodomen błonowych, definiowanych jako "tratwy" błonowe, ich roli zarówno w prawidłowym jak i patologicznym funkcjonowaniu komórek, a także udziału S-palmitoilacji jako jednej z form potranslacyjnej modyfikacji białek w regulacji tych procesów.

Praca pt: "*Palmitoylation of MPP1/p55 is crucial for lateral membrane organization in erythroid cells.*", Łach A, Grzybek M, Heger E, Korycka J, Wolny M, Kubiak J, Kolondra A, Bogusławska DM, **Augoff K**, Majkowski M, Podkalicka J, Kaczor J, Stefanko A, Kuliczkowski K, Sikorski AF., J Biol Chem. 2012 Jun 1;287(23):18974-84, jest pracą oryginalną, w której

wykazano, że brak palmitoilacji błonowego białka palmitoilowanego 1 (p55/MPP1), ważnego składnika kompleksu wiążącego szkielet z białkami integralnymi błony komórkowej, prowadzi do upośledzenia formowania "błonowych tratw spoczynkowych", a w konsekwencji do nowo opisanej anemii hemolitycznej u pacjentów z defektem aktywności palmitoilotransferazy DHHC17, i zaproponowano mechanizm kontroli lateralnej organizacji błony erytrocytarnej z udziałem p55/MPP1.

Praca pt.: "*The role of MPP1/p55 and its palmitoylation in resting state raft organization in HEL cells*", Biernatowska A, Podkalicka J, Majkowski M, Hryniewicz-Jankowska A, **Augoff K**, Kozak K, Korzeniewski J, Sikorski AF., *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833(8):1876-84, jest wynikiem kontynuacji badań nad wpływem białka p55/MPP1 na organizację błony komórek erytroidalnych, w których wykazano, że hamowanie palmitoilacji p55/MPP1 lub wyciszenie ekspresji genu *MPP1* prowadzi do istotnych zaburzeń w ilości, jakości i funkcjonowaniu "tratw" błonowych. Dokonano tego poprzez analizę ilościową frakcji błon nierozpuszczalnych w detergentach (DRM), analizę płynności błony w technice FLIM (obrazowania czasów życia fluorescencji) z wykorzystaniem sondy di-4 oraz analizę zaburzeń funkcji przekazywania sygnałów w komórkach HEL ze stabilnie wyciszona ekspresja genu *MPP1*.

Praca pt. "*Human DHHC proteins: A spotlight on the hidden player of palmitoylation*." Korycka J, Łach A, Heger E, Bogusławska DM, Wolny M, Toporkiewicz M, **Augoff K**, Korzeniewski J, Sikorski AF. *Eur.J.Cell Biol*. 2012;91(2):107-117, jest pracą poglądową, w której usystematyzowano wiedzę i podsumowano znaczenie ostatnich odkryć dokonanych w zakresie białek rodziny DHHC, palmitoilotransferaz, katalizujących reakcje przyłączenia kwasu palmitynowego do reszt aminokwasowych, ich budowy, funkcji i specyficznej roli w prawidłowym funkcjonowaniu komórek, a także ich związek z niektórymi procesami patologicznymi, wskazując na możliwość wykorzystania tej grupy białek do diagnostyki lub/i jako cel terapeutyczny. Pracę cytowano już 14 razy.

Praca pt.: "*Membrane rafts as a novel target in cancer therapy*", Hryniewicz-Jankowska A, **Augoff K**, Biernatowska A, Podkalicka J, Sikorski AF. *Biochim. Biophys. Acta* 2014; 1845:155–165, jest pracą poglądową, w której zebrano i usystematyzowano najnowsze informacje na temat zależności pomiędzy prawidłową organizacją "tratw" błonowych i aktywacją/hamowaniem niektórych dróg sygnałowych, ważnych z punktu widzenia różnicowania, apoptozy i migracji komórek, oraz udziału czynników destabilizujących "tratwy" w patologicznych procesach rozrostowych, ich wpływu na inwazyjny i metastatyczny potencjał komórek nowotworowych i potencjalnej roli tego rodzaju czynników, szczególnie statyn, w terapii nowotworowej.

Praca pt. "*Expression, purification and functional characterization of recombinant human acyl-CoA-binding protein (ACBP) from erythroid cells*.", **Augoff K**, Kolondra A, Chorzalska A, Łach A, Grabowski K, Sikorski AF. *Acta Biochim Pol*. 2010;57(4):533-40, charakteryzuje

rekombinowany inhibitor wiążący diazepam (DBI), jedną z izoform ludzkiego białka wiążącego acylo-koenzym A (ACBP). Pokazuje, że fragment mRNA, identyczny z mRNA DBI, ulega ekspresji w retikulocytach oraz, że białko DBI, mając zdolność do adsorbowania związanego z błoną palmitoilo-koenzymu A i formowania z nim kompleksu, bierze udział w kontroli stężenia wolnego palmitoilo-koenzymu A wewnątrz komórki, a także, że DBI, które odpowiada za dostarczanie substratu acylotransferazom zaangażowanym w wymianę reszt kwasu palmitynowego w fosfatydylocholinie, może skutecznie ochronić inne białka przed spontaniczną palmitoilacją.

Do innych osiągnięć naukowo-badawczych można zaliczyć prace stanowiące kontynuację tematów rozpoczętych przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych, wykonywanych w ramach badań własnych uczelni w Klinice Chirurgii Przewodu Pokarmowego i Chirurgii Ogólnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Prace te dotyczą łagodnych i nowotworowych schorzeń przewodu pokarmowego.

Praca pt.: *“Przydatność oznaczania dehydrogenazy mleczanowej w rozpoznawaniu chorób nowotworowych.”* **Augoff K**, Krzysztof Grabowski K., Pol.Merkur.Lek. 2004 T.17 nr 102; s.644-647, jest pracą poglądową, w której scharakteryzowano właściwości fizyko-chemiczne dehydrogenazy mleczanowej oraz podsumowano dostępną wiedzę w zakresie możliwości wykorzystania oznaczania aktywności tego enzymu w diagnostyce i prognozowaniu chorób nowotworowych.

Prace pt.: *“Aktualne poglądy na patogenezę raka żołądka.”* **Augoff K**, Taboła R, Grabowski K., Pol. Arch. Med. Wewn. 2005;114(5):1103-1110, i *“Wczesny rak żołądka - współczesne poglądy na zakres resekcji i zasięg limfadenektomii.”*, Taboła R, Grabowski K, **Augoff K**, Szlachowski P., Gastroenterol.Pol. 2005;12(6):511-515, stanowią dwuczęściowy cykl publikacji poglądowych, w których podjęto próbę usystematyzowania wiedzy na temat molekularnych uwarunkowań raka żołądka w odniesieniu do predyspozycji rodzinnych, zaburzeń genetycznych i molekularnych wyznaczników inwazji i metastazji w histologicznie różnych typach nowotworów żołądka, a także przedstawiono aktualne poglądy na zakres resekcji i poziom limfadenektomii w leczeniu chirurgicznym wczesnego raka żołądka..

Praca pt. *“Analysis of Vasoactive Intestinal Polypeptide Receptors (VIP-R) expression on the mRNA level by RT-PCR in esophageal achalasia.”*, **Augoff K**, Lewandowski A, Bok E, Hryniewicz-Jankowska A, Taboła R, Gastroenterologia Pol. 2003;10(1):17-21, jest pracą oryginalną, w której wykazano brak ekspresji genu kodującego receptor wazoaktywnego polipeptydu jelitowego (VIP-R), białka biorącego bezpośredni udział w hamowaniu aktywności mięśni gładkich, w mięśniówce wpustu u 30% pacjentów cierpiących z powodu achalazji przełyku, sugerując udział tego czynnika w etiologii przynajmniej 1/3 przypadków kurczu wpustu.

Praca pt.: *“Achalasia--balloon dilation or surgery?”*, Taboła R, Grabowski K, Lewandowski A, **Augoff K**, Markocka-Maczka K. Med Sci Monit. 2013 Dec 2;19:1089-94, jest

pracą z zakresu badań klinicznych, w której analizowano wyniki stosowania dwóch głównych metod leczenia kurczu wpustu, miotomii chirurgicznej i poszerzenia pneumatycznego, w odniesieniu do liczby powikłań, subiektywnej oceny dysfagii, punktowanej wg Eckardta oraz nawrotów pełnych objawów choroby, wskazując na nieznacznie lepsze rezultaty po zastosowaniu miotomii, głównie ze względu na mniejszą ilość re-interwencji po tego typu zabiegach.

Owoce długoletniej współpracy z Kliniką Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, są nie tylko prace włączone w jednotematyczny cykl publikacji pod wspólnym tytułem, ale również dwie inne.

W pracy pt.: "*Lactate dehydrogenase isoenzymes in Dupuytren's contracture.*", Ratajczak K, **Augoff K**, Gosk J, Taboła R, Rutowski R., Adv. Clin. Exp. Med., 2007;16(2):205-211, wykazano, że patologiczne tkanki objęte przykurczem charakteryzuje istotny wzrost aktywności całkowitej LDH, a także istotnie wyższy poziom izoenzymów LD5 i LD4 w porównaniu do tkanek prawidłowych, co może sugerować udział dehydrogenazy mleczanowej w rozwoju przykurczu dłoni na skutek niedoboru tlenu. Natomiast w pracy pt.: "*Expression of MMP-2, TIMP-2, TGF- β 1, and decorin in Dupuytren's contracture.*" Ratajczak-Wielgomas K, Gosk J, Rabczyński J, **Augoff K**, Podhorska-Okolów M, Gamian A, Rutowski R. Connect Tissue Res. 2012;53(6):469-77, wykazano związek TGF- β i dekoryny z patologicznymi procesami w rozciągniętej dłoni u pacjentów z przykurczem Dupuytrona.

Praca pt.: "*Serum sulfatase activity is more elevated in colonic adenomas than cancers.*" Matusiewicz M, Krzystek-Korpacka M, Diakowska D, Grabowski K, **Augoff K**, Blachut K, Paradowski L, Kustrzeba-Wojcicka I, Piast M, Banas T. Int J Colorectal Dis. 2008 Apr;23(4):383-7, będąca wynikiem współpracy z Katedrą Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, prezentuje udział sulfataz, enzymów związanych z reorganizacją i aktywacją białek macierzy zewnątrzkomórkowej, we wczesnej transformacji nowotworowej w nabłonku jelita grubego i sugeruje, że analiza aktywności tych enzymów w surowicy może być wykorzystana w diagnostyce raka jelita grubego.

Kolejne osiągnięcia naukowe, prezentowane w formie publikacji naukowych, są wynikiem stażu naukowego w Cleveland Clinic Lerner Research Institute i współpracy z Roswell Park Cancer Institute.

Praca pt.: "*miRNA-548c: a specific signature in circulating PBMCs from dilated cardiomyopathy patients.*" Gupta MK, Halley C, Duan ZH, Lappe J, Viterna J, Jana S, **Augoff K**, Mohan ML, Vasudevan NT, Na J, Sossey-Alaoui K, Liu X, Liu CG, Tang WH, Naga Prasad SV. J Mol Cell Cardiol. 2013 Sep;62:131-41, prezentuje unikalny obraz mikro-RNA w mononuklearnych komórkach krwi obwodowej (PBMC), który charakteryzuje się zmniejszoną ekspresją krótkich cząsteczek RNA należących do rodziny miRNA-548, wskazując je jako potencjalny czynnik predysponujący do zaburzeń funkcjonalnych mięśnia sercowego.

Praca pt.: "Increased expression levels of WAVE3 are associated with the progression and metastasis of triple negative breast cancer." Kulkarni S, **Augoff K**, Rivera L, McCue B, Khoury T, Groman A, Zhang L, Tian L, Sossey-Alaoui K. PLoS One. 2012;7(8):e42895, jest pracą oryginalną, która opisuje białko WAVE3, stanowiące istotny element kontroli dynamiki szkieletu aktywnego, jako kluczowy regulator migracji i inwazji komórek nowotworowych w raku sutka, szczególnie jego wysoce agresywnego typu, TNBC, proponując WAVE3 jako nowy marker zwiększonego ryzyka przerzutowania i złych rokowań w przypadku chorych z TNBC.

Pełny dorobek naukowy obejmuje:

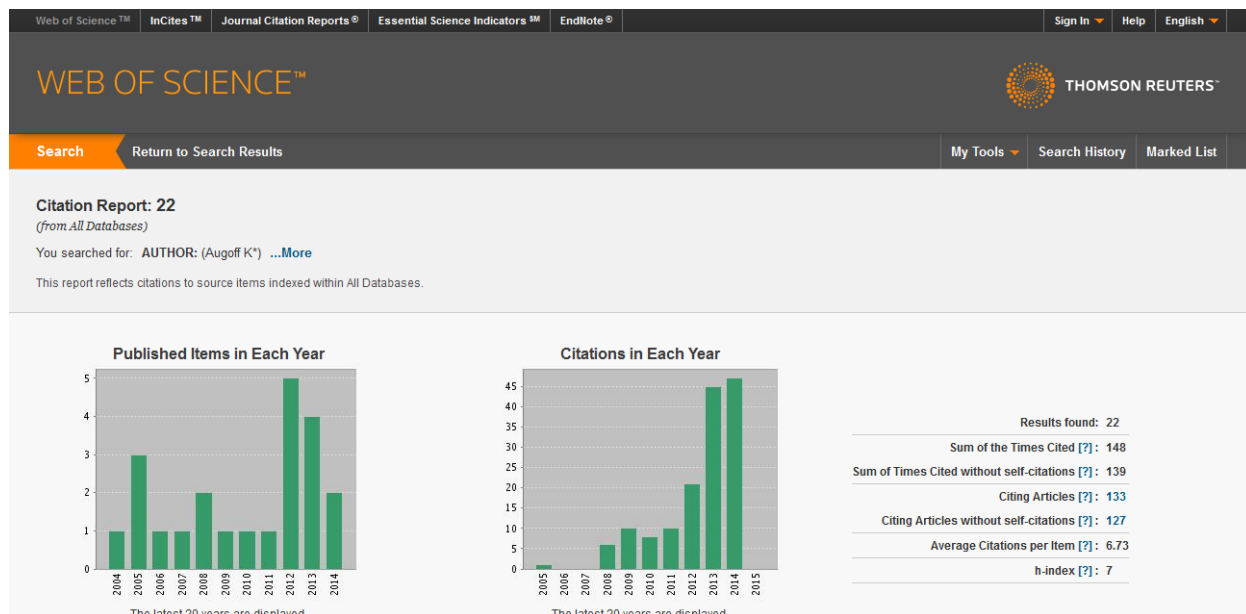
DOROBEK NAUKOWY SPRZED UZYSKANIA STOPNIA DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH	<i>n</i>	Współczynnik wpływu <i>IF</i>	Punktacja MNiSW
PUBLIKACJE NAUKOWE	10	-	40
Prace oryginalne	10	-	40
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor	5		
• współautor	5		
Prace poglądowe			
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor	-	-	-
• współautor			
DONIESIENIA KONFERENCYJNE	7	-	-
międzynarodowe	-		
krajowe	7		

DOROBEK NAUKOWY PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH	<i>n</i>	Współczynnik wpływu <i>IF</i>	Punktacja MNiSW
PUBLIKACJE NAUKOWE	24	54.667	529
Prace oryginalne*	19	43.870	444
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor	11		
• współautor	8		
Prace poglądowe	5	10.797	85
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor	2		
• współautor	3		
Prace wskazane jako znaczące osiągnięcie	8	18.969	160
<i>zgodnie z art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.)</i>			
• autor korespondencyjny i/lub pierwszy autor	8		
• współautor	-		
DONIESIENIA KONFERENCYJNE	8	-	-
międzynarodowe	6		
krajowe	2		

* w tym prace wskazane jako znaczące osiągnięcie

RAPORT CYTOWAŃ WG DANYCH WEB OF SCIENCE
z dnia 20 października 2014

Liczba cytowań	148
Liczba cytowań bez autocytaowań	139
Indeks Hirscha	7



V. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej

a) Uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych:

- Uczestnictwo w półrocznym projekcie współfinansowanym przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego: "Program rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu", w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Priorytet: IV. Szkolnictwo wyższe i nauka, Działanie: 4.1. Wzmocnienie i rozwój potencjału dydaktycznego uczelni - szkolenia dla kadry akademickiej, na podstawie decyzji nr 1-S/PD-SZ-6/2010

b) Udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych:

- XII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. Łódź, 9-11 czerwca 2006 [Katarzyna Augoff, Krzysztof Grabowski, Leszek Czaplą, Renata Taboła.: Aktywność kolagenaz typu IV (MMP-2 i MMP-9) w nowotworach przełyku / Activity of type IV collagenases (MMP-2 and P-9) in esophageal cancer. Gastroenterol.Pol. 2006 T.13 supl.1; s.32 poz.18.]

- XIII International Congress of Histochemistry and Cytochemistry "Imaging of cell dynamics". Gdańsk, 23rd-27th August 2008 [Augoff K, Grabowski K, Rabczyński J, Kolondra A, Taboła R, Sikorski AF.: Expression of decorin in esophageal cancer in relation to expression of three isoforms of transforming growth factor-beta (TGF- β 1, - β 2 and - β 3) and matrix metalloproteinase-2 activity, Folia Histochem.Cytobiol. 2008 Vol.46 suppl.2; s.S97 poz.P3.41]
- XIII International Congress of Histochemistry and Cytochemistry "Imaging of cell dynamics". Gdańsk, 23rd-27th August 2008 [Augoff K, Rabczyński J, Taboła R, Czapla L, Ratajczak K, Grabowski K.: Immunohistochemical studies of decorin expression in polyps and carcinomas of the colon. Folia Histochem.Cytobiol. 2008 Vol.46 suppl.2; s.S96 poz.P3.42]
- American Association for Cancer Research (AACR) 102nd Annual Meeting 2011-- April 2-6, 2011; Orlando, Florida [Augoff K, Zhang L, Rivera L, Khoury T, Tian L, Groman A, Watroba N, Plow EF, Kulkarni S, and Sossey-Alaoui K.: Increased expression levels of WAVE3 are associated with breast cancer progression and metastasis. Cancer Research: April 15, 2011; Volume 71, Issue 8, Supplement 1]
- American Association for Cancer Research (AACR) 103rd Annual Meeting 2012— March 31 - April 4, 2012; Chicago, Illinois [Augoff K, McCue B, Plow EF, Sossey-Alaoui K. Abstract A3: miR-31 and its host gene lncRNA LOC554202 are regulated by promoter hypermethylation in triple-negative breast cancer. Cancer Res January 8, 2012 72:A3]
- American Association for Cancer Research (AACR) 104th Annual Meeting 2013-- April 6-10, 2013; Washington, DC [Augoff K, Hryniewicz-Jankowska A, Taboła R, Czapla L, Szelachowski P, Grabowski K, Sikorski AF.: Up-regulated expression and activation of invadopodia-associated proteases in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), Cancer Res. 2013 Vol.73 no.8 suppl.1; poz.5056.]

c) Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych:

- American Association for Cancer Research (AACR), ID 246952
- The Invadosome Consortium (IvC), <http://www.invadosomes.org/members.htm>

d) Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki:

- Zajęcia seminaryjne dla studentów IV-go roku English Division Faculty of Medicine Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2010 i 2012
- Wykład gościnny pt. "*Dehydrogenaza mleczanowa: jej znaczenie w diagnostyce, prognozowaniu i leczeniu chorób nowotworowych*" w cyklu wykładów „Nieznane oblicza

biochemii i biotechnologii”, organizowanych przez Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego w 2013/2014 roku

- e) Opieka naukowa nad studentami i doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego:
- Współopieka merytoryczna i praktyczna nad pracą dokorską pt. “Rola żelatynazy A (MMP-2), tkankowego inhibitora metaloproteinazy-TIMP2 oraz układu dekoryna-TGFβ1 w patogenezie choroby Dupuytrena”, mgr inż. Katarzyny Ratajczak, obronionej w 2010 roku przed Radą Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytetu Medycznego) we Wrocławiu.
 - Nadzór merytoryczny i praktyczny nad pracą magisterską pt. “Analiza lokowania proteaz związanych z inwadopodiami w tratwach błonowych komórek rakowych traktowanych TNF-α”, studentki studiów stacjonarnych II stopnia o kierunku biotechnologia na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, Dominiki Wołczyk (w toku) - współopiekun naukowy w ramach współpracy.
- f) Współpraca z instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi w kraju i za granicą:
- Zakład Cytobiochemii Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego - stała współpraca naukowa (2002-obecnie)
 - Katedra i Klinika Chirurgii Urazowej i Chirurgii Ręki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
 - Katedra i Zakład Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
 - Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
 - Klinika Chirurgii Małoinwazyjnej i Proktologicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
- g) Recenzowanie manuskryptów w czasopismach międzynarodowych lub krajowych:
- Postępy Biochemii – jeden recenzowany manuskrypt w 2006r.
 - Cellular and Molecular Biology Letters, IF [2013] = 1.782 – pięć recenzowanych manuskryptów, po jednym w latach 2008, 2009 oraz 2013 i dwa w 2014r.
 - PLOS ONE, IF [2013] =3.534 – jeden recenzowany manuskrypt w 2014r.
 - British Journal of Cancer, IF [2013] =4.817 – jeden recenzowany manuskrypt w 2014

h) Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach:

- Wewnętrzny projekt badawczy nr ST-1258 pt: "Ekspresja dekoryny oraz jej związek z transformującym czynnikiem wzrostu (TGF- β) i białkiem p21 w chorobie nowotworowej przełyku.", 2005-2006 - główny wykonawca projektu
- Wewnętrzny projekt badawczy nr ST-1256 pt: "Ekspresja dekoryny i białka p21 w polipach przewodu pokarmowego.", 2005-2007 - główny wykonawca projektu
- Wewnętrzny projekt badawczy nr ST-401 pt: "Badania nad rolą systemu proteolitycznego związanego z kortaktyną w rozwoju płaskonabłonkowego raka przełyku." , 2009-2012 - kierownik projektu
- Wewnętrzny projekt badawczy nr ST-879 pt: "Analiza ekspresji FAP-alpha w FFEP tkankach z płaskonabłonkowym rakiem przełyku.", 2014-2016 - kierownik projektu

i) Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną:

- Nagrody indywidualne i/lub zespołowe Dziekana Wydziału Lekarskiego i Kształcenia Podyplomowego Akademii Medycznej we Wrocławiu w latach 1999, 2000, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009 i 2013

j) Główny obszar zainteresowań:

- rola mikrośrodowiska we wzroście, inwazji i metastazie nowotworu
- tworzenie inwadopodiów i ich związek z agresywnością komórek nowotworowych
- udział błonowych enzymów proteolitycznych z rodziny metaloproteinaz i dipeptydylaz w procesach nowotworzenia i przerzutowania

k) List polecający:



10/14/2014

Prof. dr hab. Aleksander F. Sikorski

ul. Fryderyka Joliot-Curie 14a

50-383 Wrocław

List polecający

Pani dr Katarzyna Augoff jest absolwentką Uniwersytetu Wrocławskiego, kierunku biotechnologia. Podczas studiów poznaliśmy Ja jako bardzo dobrą eksperymentatorkę (pracę dyplomową wykonywała w tym samym zespole). Następnie w roku 2003 miałem przyjemność recenzować pracę doktorską Pani Katarzyny Augoff. Już wtedy można było zaobserwować dużą samodzielność i świetną orientację w zagadnieniach dotyczących biochemii i biologii komórki, szczególnie, aspektów związanych z biologią komórek nowotworowych.

Po uzyskaniu doktoratu Pani dr Augoff nawiązała ściślejszą współpracę z naszym zespołem, czego rezultatem było kilka prac opublikowanych w latach 2003-2014.

Pani dr Katarzyna Augoff jest uczoną, która nie szczędzi wysiłku na pracę naukową, poświęcając jej wiele czasu daleko przekraczając obowiązkowe godziny pracy.

Jej dorobek naukowy po uzyskaniu doktoratu składa się z prac prowadzonych przez nią zupełnie samodzielnie (większość prac) korzystając z współprac polegających w dużej mierze na zapewnieniu materiału klinicznego, ewentualnie udostępnieniu warsztatu doświadczalnego. Te prace pojawiały się systematycznie na przestrzeni około 10 lat i są odzwierciedleniem wielkiej, samodzielnej pracy w bardzo skromnych (oby nie powiedzieć bardzo słabych) warunkach, jeśli chodzi o zaplecze aparaturowe i zaopatrzenie w odczynniki i materiały. Ta grupa prac, choć opublikowana we względnie słabszych, ale nie słabych czasopiśmie, gdyż większość z nich charakteryzuje I.F. około 2 jest moim zdaniem, szczególnie cenna, gdyż jest całkowicie owocem inwencji twórczej Pani Doktor.

Druga grupa prac, to owoc pracy w dobrych zespołach, dobrze lub bardzo dobrze wyposażonych laboratoriach o międzynarodowej renomie. Tu widzimy, na co stać tę nieprzeciętną badaczkę. Widzimy prace współautorskie opublikowane w czasopiśmie z wysokiej półki: wielokrotnie już cytowane. Nie wchodząc w meritum, bo to stanie się przedmiotem oceny recenzentów, podam tylko przykład, że w czasie 18 miesięcznego pobytu w laboratorium Dr Plow'a w Cleveland Clinic stała się współautorką 5 prac, w tym w 2 jest pierwszą współautorką. W tamtych zespołach na pozycję pierwszego współautora trzeba mocno pracować zarówno eksperymentalnie, jak i przede wszystkim wykazać się znacznym wkładem intelektualnym.

Konkludując powyższe, popieram starania Pani dr Katarzyny Augoff o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego. Uważam, że spełnia Ona wszystkie wymogi stawiane Kandydatom do tego stopnia.

28-10-2014

Katarzyna Augoff