

# Autoreferat

Opis osiągnięć i dorobku naukowego

dr Julia Durzyńska

Zakład Wirusologii Molekularnej, Wydział Biologii,

Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Poznań czerwiec 2015

## **1. Imię i nazwisko: Julia Durzyńska**

## **2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe**

- Czerwiec 2000 – uzyskanie magisterium z biotechnologii, Uniwersytet A. Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii,
- Lipiec 2004 - uzyskanie tytułu doktora nauk biologicznych ze specjalnością biologia molekularna, Uniwersytet w Nantes/Uniwersytet A. Mickiewicza w Poznaniu (*these en co-tutelle*, praca doktorska i obrona w języku francuskim, następnie „nostryfikacja” na UAM), Tytuł rozprawy doktorskiej: „Badanie oddziaływań receptorów GPCR syntezowanych w komórkach nabłonkowych języka ludzkiego z cząstkami wirusopodobnymi wirusa brodawczaka HPV-11-L1”

## **3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu**

- 2000 – 2004, doktorantka Wydziału Biologii UAM w Poznaniu oraz Uniwersytetu w Nantes (Francja),
- 2004 – 2006, praca na pół etatu w Laboratorium GMO na stanowisku asystenta, Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Poznaniu,
- 2005 - obecnie, adiunkt w Zakładzie Wirusologii Molekularnej, Wydział Biologii UAM w Poznaniu,
- 2011 – 2013, stypendium/kontrakt na Uniwersytecie Pensylwania, Department of Cell Biology and Anatomy, Philadelphia, USA.

### **3.1. Staże i stypendia naukowe**

- Stypendium Erasmus-Socrates na Uniwersytecie Paris VII (Denis Diderot), Wydział Biochemii – 1999,
- Stypendium podyplomowe Rządu Francuskiego w “Institut National de la Recherche Agronomique” (INRA-LEIMA), Nantes, France, 2001,
- Stypendium doktorskie Rządu Francuskiego (3 x 6 m-cy), Uniwersytet w Nantes, 2001-2004,
- 2011 – 2013, staż post-doktorski na Uniwersytecie Pensylwania, Department of Cell Biology and Anatomy, Philadelphia, USA.

4. **Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytlu w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.):**

Prace stanowiące osiągnięcie naukowe pod tytułem: **"Wpływ insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) na przebieg zakażeń wirusem brodawczaka u człowieka"**

1. **Durzyńska J**, Pacholska-Bogalska J, Kaczmarek M, Hanć T, Durda M, Skrzypczak M, Goździcka-Józefiak A. HPV genotypes in the oral cavity/oropharynx of children and adolescents: cross-sectional survey in Poland. Eur J Pediatr. 2011 Jun;170(6):757-61. **IF = 1.98, MNiSW 30 pkt.**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na zorganizowaniu całej pracy doświadczalnej (zakup odczynników i materiałów), przeprowadzeniu części oznaczeń PCR w kierunku obecności DNA wirusa brodawczaka ludzkiego, zebraniu i opracowaniu wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Swój udział oceniam na 50 %.

2. **Durzyńska J**, Philippou A, Brisson BK, Nguyen-McCarty M, Barton ER. The pro-forms of insulin-like growth factor I (IGF-I) are predominant in skeletal muscle and alter IGF-I receptor activation. Endocrinology. 2013 Mar;154(3):1215-24. **IF = 4,7; MNiSW = 35 pkt**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na przeprowadzeniu większej części doświadczeń (ekspresja izoform IGF, KIRA assays, Western blotting, ocena ilościowa IGF), zebraniu i opracowaniu wyników oraz partycypowałam w pisaniu manuskryptu. Swój udział oceniam na 50 %.

3. **Durzyńska J**, Wardziński A, Koczorowska M, Goździcka-Józefiak A, Barton ER. Human Eb peptide: not just a by-product of pre-pro-IGF1b processing? Horm Metab Res. 2013 Jun;45(6):415-22. **IF = 2.15; MNiSW = 20 pkt**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji pracy oraz zorganizowaniu części doświadczalnej (zakup odczynników i materiałów), przeprowadzeniu większej części eksperymentów, zebraniu i opracowaniu wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Swój udział procentowy oceniam na 65 %.

4. **Durzyńska J**, Barton E. IGF expression in HPV-related and HPV-unrelated human cancer cells. *Oncol Rep.* 2014 Sep;32(3):893-900. **IF = 2,2; MNiSW = 20 pkt**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na zorganizowaniu całej pracy doświadczalnej, przeprowadzeniu wszystkich eksperymentów, zebraniu i opracowaniu wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Swój udział procentowy oceniam na 90%.

5. **Durzyńska J**. IGF axis and other factors in HPV-related and HPV-unrelated carcinogenesis (Review), *Oncol Rep.* 2014 Dec, 32(6):2295-2306. **IF = 2.2, MNiSW 20 pkt.**

Swój wkład w powstanie tej publikacji oceniam na 100%.



**Sumaryczny impact factor powyższych prac: 13.25 oraz 125 pkt MNiSW.**

**a) omówienie celu naukowego/artystycznego w/w prac i osiągniętych wyników.**

Jednotematyczny cykl prac zatytułowany "**Wpływ insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) na przebieg zakażeń wirusem brodawczaka u człowieka**" obejmuje badania epidemiologiczne zakażeń wirusami brodawczaka u ludzi, jak również badania czynników komórkowych współdziałających w zakażeniach HPV (ang. Human Papilloma Virus).

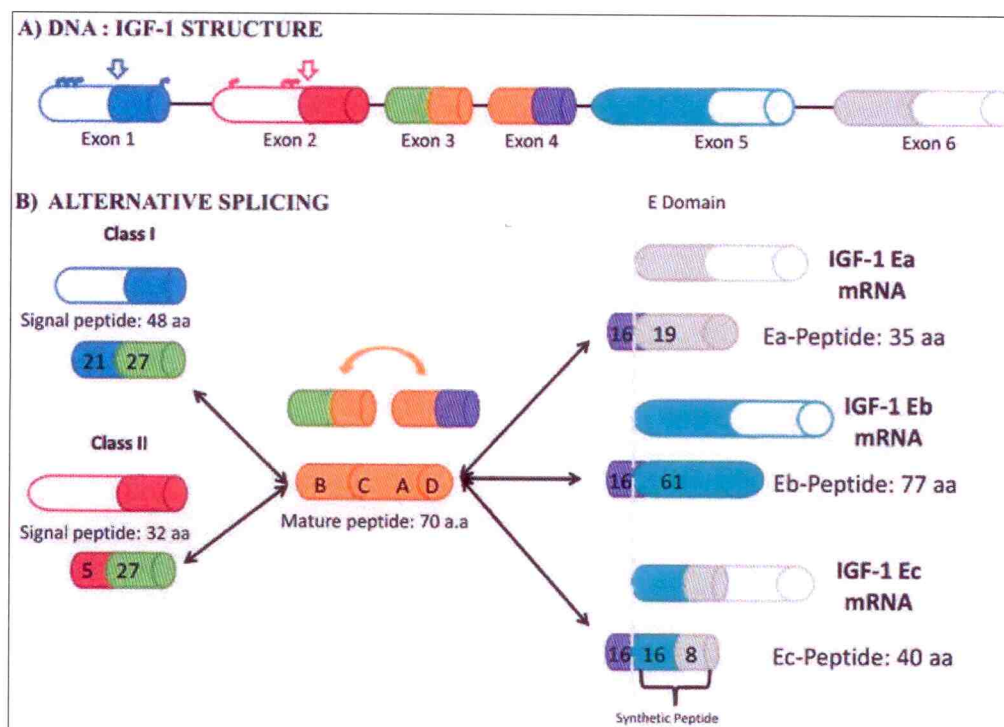
Wirusy te podzielono na dwie grupy: wirusy niskiego (np. HPV-6, HPV-11) i wysokiego ryzyka (np. HPV-16 oraz HPV-18) w zależności od ich potencjału onkogenego; zakażają one głównie komórki nabłonkowe i błon śluzowych. Wśród wirusów PV wyróżniamy ponad 100 typów powodujących zakażenia u ludzi (Bernard, 2005). Wirusy HPV mają genom zbudowany z dsDNA o długości około 8 kbp, w którym znajdują się trzy regiony: region kontrolny LCR (ang. non-coding long control region), region kodujący wczesny (E) oraz kodujący późny (L). Genom wirusowy zawiera sześć genów wczesnych (E1, E2, E4, E5, E6, E7) oraz dwa późne (L1 and L2). Transkrypcja genów wczesnych i późnych znajduje się pod kontrolą promotorów i czynników transkrypcyjnych, których elementy wiążące znajdują się w regionie LCR. Wirusowe białka powstają w wyniku translacji policistronowego mRNA z nachodzącymi na siebie ramkami odczytu (Jo and Kim, 2005). O właściwościach onkogennych wirusów HPV decydują przede wszystkim dwa główne onkogeny HPV E6 i E7, których nadekspresja rozpoczyna i następnie podtrzymuje proces transformacji nowotworowej będący zjawiskiem wieloetapowym i wieloczynnikowym

(Berrett, 1993; Durzyńska, 2014). Należy zatem pamiętać, że w procesie rozwoju nowotworów zależnych od HPV mają też znaczenie czynniki wzrostowe ze szczególną rolą składników osi somatotropowej, które w niektórych przypadkach niezależnie od zakażeń wirusami onkogennymi mogą być zaangażowane w transformację nowotworową komórek i rozwój raka (Pollak, 2008). Na proces nowotworzenia ma również wpływ szereg innych czynników takich jak hormony płciowe i ich receptory, zmiany w DNA mitochondrialnym, działanie kwasów retinowego oraz foliowego, czynniki behawioralne takie jak dieta, spożywanie alkoholu i palenie papierosów, ilość partnerów seksualnych, wielorództwo i wiele innych (Gariglio *et al.*, 2009). Oś somatotropowa, której jednym z głównych składników jest insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1), reguluje m.in. wzrost komórek, tkanek i całych organizmów. IGF-1 produkowany jest głównie w wątrobie oraz w mniejszym stopniu w innych tkankach np. mięśniach (Pollak *et al.*, 2004, Barton 2006). IGF-1 działa na komórki za pośrednictwem swoistego receptora IGF-1R. Składniki osi somatotropowej oraz onkogeny wirusa HPV stały się dogodnym celem terapii przeciwnowotworowej polegającej m.in. na obniżeniu ekspresji receptora dla IGF-1 (IGF-1R), interferencji RNA oraz zastosowaniu szczepionek skierowanych przeciw HPV. Wszystkie te zagadnienia omówiłam w artykule przeglądowym zatytułowanym „IGF axis and other factors in HPV-related and HPV-unrelated carcinogenesis (Review)” (Durzyńska, 2014), w którym podsumowałam dzisiejszy stan wiedzy na temat terapii przeciwnowotworowych i podkreśliłam, że mimo wielkiego postępu w badaniach raka szyjki macicy i innych nowotworów zależnych od HPV potrzebne są dodatkowe analizy umożliwiające komercjalizację wyżej wspomnianych terapii i ich szeroką dostępność dla pacjentów.

Biorąc pod uwagę częstość występowania zakażeń HPV i ich współdziałanie w rozwoju raka szyjki macicy i innych nowotworów np. głowy i szyi (zur Hausen, 2009) opracowanie skutecznych szczepionek profilaktycznych skierowanych przeciw HPV (np. Gardasil) stało się szczególnie istotne podczas wdrażania wielu programów profilaktycznych na świecie (Brotherton *et al.*, 2011). Szczepionki te zalecane są dziewczętom w okresie dojrzewania, a w niektórych krajach rozwiniętych również chłopcom (Reiter *et al.* 2013). W Unii Europejskiej Polska jest w grupie krajów, gdzie niewiele wiadomo na temat nosicielstwa tych wirusów wśród dzieci i młodzieży, które tym szczepieniom powinny podlegać. Z tego względu w ramach projektu Adopolnor współfinansowanego ze środków EEA Grants i Norway Grants wraz kilkoma zespołami badawczymi z poznańskich uniwersytetów (szczegóły dostępne na stronie <http://www.adopolnor.pl/>) przeprowadziliśmy szeroko

zakrojone badania epidemiologiczne wśród dzieci i młodzieży z Wielkopolski (4150 osób) w wieku od 10-18 lat w kierunku obecności wirusów brodawczaka. Materiałem do badań był całkowity DNA wyizolowany z komórek nabłonkowych jamy ustnej, które pobrano w wymazach. W całkowitym DNA identyfikowano DNA HPV stosując metodę MY-PCR, umożliwiającą detekcję wielu typów wirusów HPV przy pomocy starterów zdegenerowanych, (Qu *et al.*, 1997) uzyskano produkty amplifikacji, które następnie poddano sekwencjonowaniu. Poszukiwaliśmy również różnych czynników sprzyjających zakażeniom HPV takich jak status społeczno-ekonomiczny, miejsce zamieszkania, wiek, płeć, czynniki ryzyka takie jak palenie tytoniu, zachowania seksualne czy też spożywanie alkoholu. Wykazaliśmy, że w badanej grupie 45 osób było nosicielami wirusów brodawczaka (około 1% wszystkich badanych). Zaobserwowano nieznaczną kumulację zakażeń HPV w kilku szkołach regionu, natomiast inne wymienione wyżej zmienne pozostały bez korelacji. Wykryto cztery główne typy HPV11 (38/45), HPV6 (3/45), HPV12 (3/45), HPV57 (1/45). Wykazaliśmy w naszych badaniach, że nosicielstwo laryngologicznych typów wirusów HPV jest stosunkowo niskie wśród młodzieży wielkopolskiej, a nieobecność wirusów HPV wysokiego ryzyka może być związane z niskim wiekiem badanej grupy, w której w większości przypadku nie doszło do inicjacji seksualnej. Nasze badania nad obecnością wirusów HPV u ludzi były jednymi z najszerzej zakrojonych badań epidemiologicznych w Polsce (Durzyńska *et al.*, 2011).

W równoległe prowadzonych badaniach nad czynnikami sprzyjającymi zakażeniom HPV swoją uwagę skierowałam na IGF-1. Przesłanką do podjęcia tego typu badań były wyniki wcześniej prowadzonych w ZWM badań wskazujące na obecność IGF-1 w jądrze komórek neoplastycznych i nowotworowych HPV pozytywnych (Józefiak *et al.*, 2008). Wynik ten był kontrowersyjny i dlatego podjęłam próbę wyjaśnienia tego zjawiska w dalszych badaniach. Gen IGF-1 zlokalizowany jest na 12 chromosomie i zbudowany jest z sześciu egzonów, których alternatywne składowanie prowadzi do powstania 2 klas produktów w zależności od działającego promotora (P1 lub P2). W tych dwóch klasach produktów znajdują się następnie trzy typy izoform (A, B oraz C)(Barton, 2006). Zatem oprócz dojrzałej formy IGF-1 w organizmie człowieka występują również liczne jego izoformy będące produktem alternatywnego składowania transkryptów: pre-pro-IGF-1A, pre-pro-IGF-1B i pre-pro-IGF-1C (Rycina 1).



**Rycina 1. Struktura genu *IGF-1* i produkty alternatywnego składania transkryptów *IGF-1*** (Vassilakos *et al.* 2014).

Gen *IGF-1* zbudowany jest z sześciu egzonów. Egzony 1 oraz 2 kodują peptyd sygnałowy odpowiedzialny ze wydzielania pre-pro-*IGF-1* poza komórkę. Egzon 3 oraz 4 kodują dojrzałą formę *IGF-1*, natomiast fragmenty egzonów 4, 5 oraz 6-ego kodują C-końcowe peptydy E (Ea, Eb oraz Ec). Aby mógł powstać dojrzały *IGF-1* peptydy E muszą zostać proteolitycznie odcięte z pro-form *IGF-1*.

Przedrostek pre- oznacza obecność sekwencji sygnałowej, umożliwiającej sekrecję białka z komórki, a przedrostek pro- oznacza obecność E peptydu. Pro-*IGF-1A*, pro-*IGF-1B* oraz pro-*IGF-1C*, zbudowane są zatem z części dojrzałej *IGF-1* oraz C-końcowego rozszerzenia (E peptydu), który po odcięciu proteolitycznym może też działać niezależnie od *IGF-1* (Barton 2006) (Rycina 1). Kilka fizjologicznych funkcji przypisano już E-peptydom powstałym na skutek obróbki pre-pro-formy *IGF-1* (Brisson and Barton, 2012; Kandalla *et al.*, 2011; Matheny *et al.*, 2010), jednakże pełny zakres ich aktywności biologicznej nie jest jeszcze w pełni poznany. W krwiobiegu dojrzały *IGF-1* związany jest z białkami wiążącymi *IGF-1* (*IGF-BPs*) i po uwolnieniu z kompleksu *IGF:IGF-BP* aktywuje receptor (*IGF-1R*) znajdujący się na powierzchni komórki docelowej, który dalej przekazuje sygnał szlakami wewnątrzkomórkowymi, co prowadzi do ekspresji genów regulujących m.in. proliferację komórkową i apoptozę. Jedynie forma *IGF-1B*, występująca tylko u ludzi (Wallis, 2009), zawiera sygnał lokalizacji jądrowej (NLS). Z tego względu postanowiłam zbadać ją szczegółowiej pod kątem bioaktywności, wewnątrzkomórkowego transportu i docelowej

lokalizacji w komórkach nowotworowych HeLa transformowanych wirusem HPV-18 (*cervix adenocarcinoma* - gruczolakorak) i U2-OS nietransformowanych HPV (linia komórkowa *osteosarcoma* - kostniakomięsak). Sekwencję kodującą domenę Eb (hEb), która powstaje po odcięciu dojrzałej formy IGF od pro-IGF-1b, poddałam ligacji z sekwencjami kodującymi białka fluorescencyjne (GFP oraz RFP) w wektorach ekspresyjnych. Transfekowałam tymi konstruktami genetycznymi dwa wyżej wymienione typy komórek i wykazałam obecność ludzkiego peptydu Eb w ich jądrach komórkowych. Na tym etapie badań trudno określić, czy obecność wirusa HPV może wzmacniać kierowanie białka IGF-1B do jądra komórkowego. Wiadomo natomiast, że zmutowanie sygnału NLS poprzez mutagenezę ukierunkowaną, którą przeprowadziłam nie znosi całkowicie lokalizacji jądrowej peptydu hEb. Muszą zatem istnieć jeszcze inne mechanizmy, podobnie jak w przypadku peptydu C pochodzącego z pro-insuliny, który kierowany jest do jądra komórkowego, choć nie ma NLS. Test BrdU ELISA wykazał, że indeks proliferacji komórek zawierających ludzki peptyd Eb wzrósł o 28%. Dla porównania ten sam test wykonany na komórkach HeLa traktowanych zewnątrzkomórkowo syntetycznym peptydem Eb wykazał wzrost indeksu proliferacyjnego (od 41 do 58% odpowiednio dla stężeń 10 – 100 nM). Dodatkowo przeprowadziłam test migracji, w którym badano stabilne linie komórkowe U2-OS syntezujące białko fuzyjne zbudowane z peptydu Eb oraz białka RFP lub produkujące samo białko RFP, które stosowałam jako kontrolę ujemną. Również w tym przypadku zaobserwowałam wzrost indeksu migracji o 38.3% w porównaniu z kontrolą (tylko ekspresja białka fluorescencji). Wzrost indeksu proliferacji i wzrost mobilności komórek syntezujących Eb sugerują, że ludzki peptyd Eb może pełnić dodatkowe funkcje w komórkach, a nie jest tylko produktem ubocznym obróbki białka pre-pro-IGF1b i posiada zatem immanentną aktywność biologiczną (Durzyńska *et al.*, *Horm Met Res*, 2013).

W kolejnym cyklu badań, stanowiącym kontynuację tematu, przeanalizowałam ekspresję izoform IGF-1 na poziomie transkryptu i białka w komórkach nowotworowych HeLa (zależnych od HPV) oraz U2-OS, HepG2 and K562 (niezależnych od HPV). Przeprowadziłam ilościowy PCR ze starterami specyficznymi rozpoznającymi różne warianty splicingowe *IGF-1* oraz immunoblotting frakcji jądrowych i cytoplazmatycznych z przeciwciałami skierowanymi przeciw E peptydom: Eb oraz Ea. Całkowity względny poziom transkryptów dla IGF-1 w badanych liniach komórkowych różnił się istotnie między sobą i był około 80 razy wyższy w komórkach K562 ( $130,2 \pm 31.2$ ) niż w komórkach U2-OS ( $1.7 \pm 1.1$ ), co wykazano po przeprowadzeniu reakcji qPCR z  $\beta$ -aktyną jako genem referencyjnym.



Zaobserwowano ponadto, że względna ilość kopii transkryptów dla IGF-1B była najwyższa w komórkach HepG2 ( $69.9 \pm 28.6$ ) oraz K562 cells ( $28.3 \pm 6.7$ ). Ponadto w komórkach HepG2 syntezowane było więcej transkryptów *IGF-1B* niż *IGF-1A* ( $18.02 \pm 6.8$ ). Wśród badanych linii komórkowych najwyższy poziom peptydu ludzkiego Eb zaobserwowano w jądrowych frakcjach komórek K562 oraz HepG2, co wykazano poprzez western blotting. We frakcjach cytoplazmatycznych nie wykryto obecności peptydu hEb, natomiast białko pro-IGF-1A było obecne tylko w cytoplazmie. W komórkach HeLa i K562 zaobserwowano istotne różnice pomiędzy poziomem transkryptu dla IGF-1A oraz produktem białkowym. W niniejszym cyklu badań po raz pierwszy wykazaliśmy obecność pełnej długości ludzkiego peptydu Eb (~9kD) w jądrach komórek nowotworowych bez użycia znaczników fluorescencyjnych dysponując swoistym przeciwciałem poliklonalnym wyprodukowanym specjalnie do realizacji celów niniejszych badań. Ponieważ względnie niski poziom transkryptu dla IGF-1A oraz wysoki poziom białka pro-IGF-1A jest możliwym scenariuszem, który zaobserwowano w komórkach HeLa, wysnuliśmy hipotezę, że transkrypty te mogą ulegać obróbce translacyjnej z wyższą wydajnością i że produkt białkowy (pro-forma IGF-1) może być stabilizowany w sposób pośredni lub bezpośredni przez onkogeny E6 lub/i E7 wirusa HPV-18 w komórkach HeLa. Wyniki tych badań zostały opublikowane w *Oncology Reports* (Durzyńska & Barton, 2014). Na pytanie czy onkoproteiny wirusa HPV mogą stabilizować białko pro-IGF-1A i sprawiać, że komórki HeLa tak szybko się dzielą staram się znaleźć odpowiedź podczas aktualnie prowadzonych prac badawczych polegających na wyciszeniu genów E6/E7 poprzez zastosowanie siRNA/shRNA oraz na wprowadzeniu lentiwirusa zawierającego geny HPV16-E6/E7 do komórek pierwotnych i pomiarze ekspresji różnych form IGF-1 oraz pozostałych elementów osi somatotropowej w ramach grantu NCN, którego jestem kierownikiem (nr N N401 555400, lata 2011-2016).

Mimo wielu przeprowadzonych badań nad pro-formami IGF, pełne spectrum ich aktywności nie jest w pełni poznane. Z doświadczeń przeze mnie przeprowadzonych w Filadelfii w laboratorium prof. Elisabeth Barton na Uniwersytecie Pensylwania wynika, że pro-forma IGF-1A występuje w większym stężeniu w komórkach mięśniowych u myszy niż forma dojrzała IGF. Wykazałam również, że pro-IGF-1A ma większy potencjał aktywowania receptora IGF-R niż dojrzały IGF-1, natomiast glikozylacja pro-IGF-1A istotnie obniża aktywację receptora IGF-1R. W celu wykazania tej zróżnicowanej aktywności wykorzystałam odpowiednie konstrukty genetyczne i transfekcję przejściową komórek 3T3, w których

wyprodukowałam różne formy IGF-1A. Z każdą z syntezowanych form IGF-1 (dojrzałą, pro-formą IGF-1A oraz pro-formą glikozylowaną IGF-1A) obecną w komórkowym medium hodowlanym przeprowadzono test aktywacji receptora IGF-R zlokalizowanego w genetycznie modyfikowanych komórkach 3T3 (komórki P6) (Pietrkowski *et al.*, 1992), które zawierają znaczne ilości ludzkiej wersji tego receptora na swojej powierzchni (KIRA assay – kinase receptor activation assay). Wyniki tych badań zostały opublikowane na łamach prestiżowego czasopisma Amerykańskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (Durzyńska *et al.*, 2013). Należy zauważyć, że myszy pro-IGF-1A jest tożsamy z ludzkim pro-IGF-1A (w przeciwieństwie do ludzkiej formy pro-IGF-1B, która u myszy nie występuje); różnią się one tylko 4 aminokwasami w obrębie E peptydu. Do wykrycia ludzkiego pro-IGF-1A można używać tego samego przeciwciała, które zaprojektowano do detekcji mysiego przeciwciała skierowanego przeciw pro-IGF-1A (Durzyńska & Barton; 2014). Wydaje się bardzo prawdopodobne, że w lokalnych tkankach i krwiobiegu znajduje się więcej form IGF, w tym pro-IGF-1A. Przez długi czas nie istniała metoda immuno-detekcji umożliwiająca rozróżnienie wielu form białka IGF, mierzono zatem całkowite jego stężenie w testach ELISA posługując się przeciwciałem rozpoznającym tylko dojrzałą część IGF-1. W kontekście procesów wzrostowych, regeneracyjnych, jak również rozwoju nowotworów (w tym również spowodowanych zakażeniami HPV) bardzo ważne jest rozróżnienie, która forma IGF wykazuje większą aktywność i na jakim etapie ścieżki sygnalizacyjnej i w jakim stężeniu ona występuje. Poza wszelką wątpliwość wiadomo dziś, że IGF-1R może być kierowany do jądra, gdzie jego obecność prognozuje gorsze rokowania w rozwoju niektórych typów raka nerki. Wykazano, że obie jego podjednostki  $\alpha$  i  $\beta$  mogą się tam znajdować (Aleksic *et al.*, 2010). Do jądra komórkowego kierowana jest również izoforma IGF-1B (Tan *et al.*, 2002, Józefiak *et al.*, 2008, Durzyńska *et al.*, 2013, Durzyńska & Barton, 2014). Dokładne poznanie sposobu działania izoformy IGF-1B w jądrze komórkowym (jąderku) wymaga dalszych badań. Pro-IGF-1A może silniej stymulować komórki zakażone HPV do wzrostu działając poprzez receptor IGF-1R, a pro-IGF-1B (lub tylko odcięty proteolitycznie peptyd Eb) może sprawować swoją aktywność biologiczną wewnątrz komórek nabłonkowych. Forma IGF-1A wydaje się również ciekawym kandydatem jako środek terapeutyczny dla osób z upośledzonym funkcjonowaniem mięśni, gdyż efektywniej może pobudzać receptor IGF-1R niż dojrzały IGF-1. Zaobserwowaliśmy podczas wstępnych badań w Filadelfii, że mysie mięśnie motoryczne, do których wprowadziliśmy zrekombinowanego adenowirusa z sekwencją pro-IGF-1A uzyskują większą masę niż te, w których syntezowany jest dojrzały

IGF w podobnych stężeniach nano-molowych (dane nieopublikowane). Badania te są dalej prowadzone w laboratorium amerykańskim.

**Jako główną wartość mojego osiągnięcia naukowego chciałabym wskazać uzyskanie i udostępnienie danych epidemiologicznych dotyczących nosicielstwa laryngologicznych typów HPV wśród reprezentatywnej grupy dzieci i młodzieży Wielkopolski. Dane te mogą znaleźć zastosowanie w regionalnych programach szczepień przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego. Z kolei moje badania nad rolą IGF-1 w zakażeniach HPV wykazały, że IGF-1 jest jednym z czynników sprzyjających w procesie zakażenia wirusami brodawczaka, szczególnie w późnych etapach transformacji neoplastycznej i nowotworowej. Nie tylko dojrzała forma białka IGF-1 posiada aktywność w procesach komórkowych. Produkty alternatywnego składania pre-mRNA-IGF-1 mogą również pełnić szereg dodatkowych funkcji. Wykazałam, że obecność onkoprotein wirusowych E6 i E7 może mieć wpływ na stężenie izoformy IGF-1A, która najefektywniej aktywuje receptor IGF-1R. Izofорма ta najsilniej indukuje procesy proliferacyjne/wzrostowe komórek nowotworowych zależnych od HPV. Potwierdziłam, że forma pro-IGF-1B oraz peptyd Eb wykazują jądrową lokalizację i aktywność biologiczną w komórkach nowotworowych zależnych i niezależnych od HPV.**

## **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych (artystycznych)**

### **A. Dane bibliometryczne**

Jestem autorem lub współautorem **28 publikacji naukowych** w tym **16 oryginalnych** prac twórczych, natomiast pozostałe prace to prace przeglądowe oraz rozdziały w monografiach lub podręcznikach. Łączna punktacja MNiSW wszystkich prac wynosi **385 pkt** (razem z rozdziałami w podręcznikach wskazanymi w części dydaktycznej). Jestem również autorem lub współautorem **18 doniesień prezentowanych** na konferencjach krajowych i międzynarodowych,

Sumaryczny współczynnik oddziaływania „*impact factor*” **moich publikacji naukowych** z listy Journal Citation Reports (JCR) wynosi **około 32 punkty**.

**Liczba cytowań wg Web of Science – 56, Scopus – 64, Google Scholar – 90.**

**Indeks Hirscha opublikowanych prac według Web of Science – 4, Scopus – 5, Google Scholar 6.**

## **B. Tematyka pozostałych prac badawczych**

### **- opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora:**

Na początku drogi naukowej, na dość wczesnym etapie studiów uniwersyteckich, zainteresowałam się polimorfizmem enzymów detoksykujących drugiej fazy metabolizmu i skorelowanym z nim poziomem adduktów DNA u dzieci z silnie zanieczyszczonego Górnego Śląska. Temat ten jako późniejszą pracę magisterską realizowałam w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu pod kierunkiem profesora Krzysztofa Szyftera poza moją macierzystą uczelnią UAM (lata 1997-2000). Badania te były następnie kontynuowane przez wiele lat przez wielkopolsko-śląską grupę badawczą, a wyniki niedawno zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *Mutagenesis* (Mielżyńska-Svach *et al.*, 2013). Opiekunem mojej pracy magisterskiej ze strony macierzystego UAM była prof. Anna Goździcka-Józefiak z Zakładu Wirusologii Molekularnej, która ze względu na moją bardzo dobrą znajomość języka francuskiego zaproponowała polsko-francuski projekt pracy doktorskiej. We Francji z afiliacją Uniwersytetu w Nantes pod kierunkiem prof. Tomasza Haertle pracowałam nad receptorami typu olfaktorycznego (olfactory-like receptors - OLRs), ulegającymi ekspresji w języku. Stosując startery zdegenerowane poddałam amplifikacji ludzki cDNA i uzyskane produkty PCR wklonowałam do odpowiednich wektorów. Sekwencjonowanie insertów potwierdziło występowanie kilku OLRs w nabłonku języka opisanych wcześniej w literaturze (Gaudin *et al.*, 2001) oraz kilku innych, których ekspresja wcześniej nie została opisana w tej lokalizacji. Dodatkowo scharakteryzowałam polimorfizm pojedynczych nukleotydów dla tych receptorów (Durzyński *et al.*, BBRC, 2005). Następnie postanowiłam sprawdzić, czy typy „laryngologiczne” HPV, do których należą m.in. HPV-6 i HPV-11, mogą oddziaływać z tymi receptorami jako potencjalnymi czynnikami komórkowymi sprzyjającymi zakażeniom wirusem brodawczaka ludzkiego. Wirusy te wykazują szczególny tropizm do komórek nabłonkowych górnych dróg oddechowych i jamy ustnej, dlatego w ramach polskiej części projektu doktorskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Anny Goździckiej-Józefiak poszukiwałam ko-receptorów dla wirusa HPV-11. W tym celu wyprodukowałam cząstki wirusopodobne (virus-like particles – VLPs) zbudowane z głównego białka kapsydu wirusa HPV11 w komórkach owadzie używając systemu bakulowirusowego oraz poddałam ekspresji w komórkach ludzkich HEK293 receptory typu

olfaktorycznego (m.in. wcześniej scharakteryzowany we francuskim laboratorium JCG5). Stosując podwójne znakowanie immunochemiczne receptora oraz cząstek wirusopodobnych HPV11-L1 wykazałam ich kolokalizację technikami mikroskopii fluorescencyjnej. Wynik ten sugerował, że receptory typu olfaktorycznego występujące w nabłonku języka mogą stanowić swoiste ko-receptory lub receptory drugorzędowe dla „laryngologicznego” wirusa HPV-11 obok opisanych już wcześniej integryn i siarczynu heparyny (Durzyński *et al.*, J Med Virol, 2007; Abban & Meneses, 2010).

Polsko-francuskie badania podstawowe wymagały również współpracy z poznańskimi laryngologami. Z dr hab. Jarosławem Szydłowskim z Instytutu Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu prowadziłam badania przesiewowe w kierunku obecności wirusów HPV u pacjentów ze schorzeniami laryngologicznymi. DNA wyizolowany z fragmentów tkanek stanowiących materiał resztkowy po mikrochirurgicznym usunięciu brodawczaków z krtani posłużył jako matryca w reakcji MY-PCR (Tucker *et al.*, 1993; Qu *et al.*, 1997). Wykazaliśmy obecność sekwencji DNA wirusów HPV typu 6 i/lub 11 w 98%-100% badanych przypadków. W żadnej spośród badanych prób nie stwierdziliśmy występowania materiału genetycznego wirusów o wysokim potencjale onkogennym (Szydłowski *et al.*, 2004).

Jako uzupełnienie współpracy prowadzonej z dr hab. Szydłowskim podjęliśmy również współpracę z prof. dr hab. Bogdanem Rydzewskim z Oddziału Otolaryngologicznego Szpitala im. F. Raszei w Poznaniu i przeprowadziliśmy identyfikację ludzkich wirusów brodawczaka w stanach zapalnych i nowotworach uszu. Przewlekły stan zapalny ucha, podtrzymywany przez infekcję wirusową, może doprowadzić do nieodwracalnych zmian w obrębie nabłonka i zapoczątkować kancerogenezę, co zostało już wykazane wcześniej (Jin *et al.*, 1997). Z powyższych powodów nasze badania objęły chorych z populacji polskiej, u których stwierdzono kliniczne objawy przewlekłego ziarninowego lub perlakowego zapalenia ucha środkowego oraz chorych z nowotworami złośliwymi ucha środkowego i/lub przewodu słuchowego zewnętrznego. W badanych przypadkach (53 pacjentów) stwierdzono obecność sekwencji HPV w 26 przypadkach (49,0%). DNA wirusów onkogennych HPV typu 16 lub 18 zawierało 12 prób (22,4%), natomiast 14 (25,9%) typu 6 lub 11. Wyniki badań potwierdziły występowanie wirusów brodawczaka ludzkiego typu 16 lub 18 o wysokim potencjale onkogennym we wszystkich skrawkach pooperacyjnych z rozpoznaniem nowotworu złośliwego (tj. w 6 przypadkach-100%). Według danych literaturowych wirusy opryszczki (HSV, herpes simplex virus) i cytomegalii (CMV, cytomegalovirus) wykryto w niewielkim

odsetku badanych prób (3,8%). Uznaliśmy, że wirusy te prawdopodobnie nie odgrywają ważnej roli w etiopatogenezie przewlekłego zapalenia ani też nowotworów ucha środkowego i nie analizowaliśmy ich obecności w poszczególnych podgrupach chorych (Rydzewski *et al.*, 2007). Z kolei badania w kierunku obecności wirusów z grupy herpes (opryszczki i cytomegalii) prowadziliśmy w ramach grantu ADOPOLNOR w tej samej grupie dzieci i młodzieży opisanej już wcześniej. W tym celu opracowałam metodę detekcji PCR-multiplex umożliwiającą jednoczesne oznaczenie DNA wirusów HSV-1, HSV-2 oraz CMV. W badanej grupie wykryliśmy obecność wirusa CMV u 34 osób (0,82 %), HSV-1 u 9 osób (0,21%) oraz HSV-2 u 36 osób (0,87%). Łącznie nosicielstwo wirusów HPV, CMV, HSV-1 oraz HSV-2 w badanej grupie wynosiło 3% (Durzyńska *et al.*, J Med. Virol 2011; Durzyńska *et al.*, 2011, w "Health and well-being in adolescence", Wydawnictwo Bogucki Część I, pod redakcją Marii Kaczmarek 2011).

Po doktoracie zainteresowałam się również innymi aspektami biologii wirusów HPV, mianowicie odpowiedzią immunologiczną u osób z nawracającą brodawczakowatością dróg oddechowych (RRP). W ramach projektu badawczego MNiSW, którego byłam kierownikiem w latach 2006-2008 i kontynuacji badań prowadzonych z dr hab. Jarosławem Szydłowskim poszukiwałam korelacji między poziomem przeciwciał surowiczych przeciw HPV, a ilością przebytych interwencji chirurgicznych u pacjentów z RRP. Stosując zrekombinowane główne białko kapsydu wirusa HPV11-L1, które wyprodukowałam w komórkach *E. coli*, przeprowadziłam serię testów immunoenzymatycznych ELISA potwierdzających, że im większa ilość operacji i wyższa częstotliwość uwalniania wirusa do krwiobiegu, tym wyższy poziom przeciwciał skierowanych przeciw wirusowi HPV11-L1. Tym samym opracowałam test immunoenzymatyczny umożliwiający łatwą detekcję surowiczych przeciwciał anty HPV11-L1 (Durzyńska *et al.*, Viral Immunology, 2010). Test ten ma ważne znaczenie dla monitorowania zakażeń HPV w trakcie leczenia, jak również może być stosowany przy sprawdzaniu skuteczności szczepień przeciw HPV (weryfikacja poziomu przeciwciał).

Wśród pierwszych zagadnień, wokół których ogniskowały się moje zainteresowania w ramach prowadzonych badań osi somatotropowej, należy wymienić zmienność regionu promotorowego genu *IGF-1* w kontekście różnych wad rozwojowych i wybranych chorób oraz poszukiwanie przyczyn zaburzeń wzrastania, które są uwarunkowane wieloczynnikowo i często o nieznanym do końca podłożu. Istnieją jednak takie sytuacje, kiedy niedobory IGF-1, choć prowadzą do zaburzeń wzrastania u ludzi, stanowią doskonałą obronę przed rozwojem nowotworu. Niedobór wzrostu jest jednym z najczęstszych powodów wizyt dzieci w

poradniach endokrynologicznych. Jednym z czynników biorących udział w przekazie sygnału wzrostowego, który niekiedy odpowiada za etiologię niedoboru wzrostu, jest insulinopodobny czynnik wzrostu i jego receptor. Celem naszych badań była analiza sekwencji kodujących domenę zewnątrzkomórkową (wiązaną liganda) i wewnątrzkomórkową receptora (aktywność kinazy) dla IGF-I (IGF-1R) w genomie dzieci z niedoborami wzrostu z prawidłowym lub nieznacznie obniżonym poziomem surowiczego IGF-I. Materiałem badawczym był DNA izolowany z komórek krwi obwodowej 50 dzieci niskorosłych. Fragmenty genu kodującego receptor IGF-I powielone w reakcji PCR analizowano stosując technikę PCR, SSCP i sekwencjonowanie. W badanej sekwencji nie stwierdzono zmian. W analizowanej grupie dzieci można wykluczyć mutacje receptora IGF-1 jako przyczynę niskorosłości. Wykazaliśmy, że należy kontynuować badania w celu określenia przyczyn zaburzeń wzrastania w białkach osi somatotropowej i/lub szlaku sygnałowego (Kędzia *et al.*, *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism*, 2013). Brałam również udział w wprowadzaniu terapeutycznego programu zdrowotnego leczenia dzieci z ciężkim pierwotnym niedoborem IGF-1 (w Polsce od 2009 r.). Programem tym objęto trzech pierwszych polskich pacjentów zakwalifikowanych do leczenia rhIGF-1 (ang. *recombinant human insulin-like growth factor I*). Zastosowanie rekombinowanego ludzkiego IGF-1 w leczeniu niskorosłości powodowanej pierwotnym niedoborem IGF-1 wpływa znacząco na poprawę tempa wzrastania. W czasie 2-letniej obserwacji nie odnotowano poważnych skutków ubocznych terapii (Petriczko *et al.*, *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism*, 2011).

Gen *IGF-1* ma dwa promotory P1 oraz P2 (na Rycinie 1 zaznaczone są pustymi strzałkami nad egzonem 1 oraz 2). Główny region regulatorowy zaczyna się 1630 par zasad przed miejscem startu transkrypcji i sięga do regionu 5'UTR w egzonie 1. Polimorfizmy zlokalizowane w tej części genu mają istotny wpływ na poziom ekspresji IGF-1 i ich występowanie może korelować z różnymi chorobami naczyniowo-sercowymi, cukrzycą typu 2-ego oraz pewnymi typami raka. W innych badaniach prowadzonych z grupą kardiologów zaobserwowaliśmy istotny wzrost stężenia surowiczego IGF-1 u pacjentów z trójnaczyńową chorobą wieńcową i wysokie wartości z skali Gensiniego w porównaniu z osobami bez zwężeń w tętnicach wieńcowych i z wynikiem zero w skali Gensiniego. Łącznie badaniu poddano 101 pacjentów, którzy zgłosili się na rutynową angiografię wieńcową. Stosując wyżej opisane metody PCR oraz SSCP znaleźliśmy pięć różnych polimorfizmów w rejonie regulatorowym promotora P1 genu *IGF-1* (RS35767, RS5742612, RS228837, RS11829693, RS17879774), jednak nie zaobserwowaliśmy żadnych statystycznie istotnych zależności



między polimorfizmem pojedynczych nukleotydów (SNP) i arteriosklerozą wieńcową oraz wysokim stężeniem obwodowego IGF-1. Nie znaleźliśmy również takich zależności w odniesieniu do sekwencji genu dla receptora IGF-1, który został przebadany w taki sam sposób jak u dzieci niskorosłych. Wynika z tego, że efekt podwyższonego surowiczego IGF-1 u pacjentów z problemami wieńcowymi był niezależny od polimorfizmów promotora P1 genu *IGF-1* oraz sekwencji kodujących receptor IGF-1R (Burchardt *et al.*, Protein Journal, 2010).

Z kolei w ramach projektu ADOPOLNOR wybraliśmy 84 osoby z wadami rozwojowymi (naczyniowo-sercowymi, wrodzonymi wadami serca, chorobami przewlekłymi i układu moczowego, z cukrzycą, zaburzeniami tarczycy) i porównaliśmy z grupą 100 osób, u których tych wad nie stwierdzono. Podobnie jak w wyżej opisanych badaniach wyizolowano DNA z komórek nabłonkowych jamy ustnej i metodą PCR, SSCP przeanalizowano region promotora P1 dla genu *IGF-1* oraz specjalnie zaprojektowaną metodą PCR zbadano ilość powtórzeń CA. W regionie zlokalizowanym -476 oraz -148 bp nie zaobserwowano żadnych statystycznie istotnych różnic sekwencji między grupami badanymi a grupą kontrolną. Natomiast stwierdzono istotnie statystyczną różnicę dla częstości występowania polimorfizmu -383 C/T między badanymi grupami a grupą kontrolną ( $p < 0.001$ ). Wykazano, że w obrębie tego polimorfizmu znajduje się miejsce wiązania czynnika transkrypcyjnego Sp1 i zmiana cytozyny w tyminę znosi to wiązanie (Li *et al.*, 2004). Zmiana C/T wpływa zatem na tkankowo-specyficzną zmianę poziomu ekspresji IGF-1, co z kolei może mieć wpływ na sprawność funkcjonowania osi somatotropowej u osób z określoną wadą rozwojową. Zaobserwowano również statystycznie istotną różnicę między grupą kontrolną oraz grupą z wrodzonymi wadami serca w zakresie częstotliwości występowania powtórzeń (CA)<sub>19</sub> oraz (CA)<sub>21</sub> (Pacholska-Bogalska *et al.*, w „Health and well-being in adolescence”. Wydawnictwo Bogucki Część I, pod redakcją Marii Kaczmarek 2011). Spostrzeżenia poczynione w ramach badań ADOPOLNOR nad polimorfizmem regionu promotorowego genu IGF-1 w różnych wadach rozwojowych, w tym wadach serca otwierają przestrzeń do dalszych badań klinicznych na większej grupie osób/pacjentów, gdyż w badaniach dzieci wielkopolskich niektóre z wcześniej wymienionych kategorii schorzeń były bardzo nieliczne reprezentowane (np. wrodzone wady serca n=5, zaburzenia układu moczowego n=3).

### Lista publikacji poza głównym osiągnięciem naukowym:

1. Mielżyńska-Svach D, Błaszczyk E, Butkiewicz D, **Durzyńska J**, Rydzanicz M. Mutagenesis. Influence of genetic polymorphisms on biomarkers of exposure and effects in children living in Upper Silesia. 2013 Sep;28(5):591-9. IF = 3.5; MNiSW = 35 pkt

Wykonałam pomiar adduktów DNA w analizowanej grupie oraz pomagałam w redagowaniu części manuskryptu. Swój udział oceniam na 20 %.

2. **Durzyński L**, Gaudin JC, Myga M, Szydłowski J, Goździcka-Józefiak A, Haertlé T. Olfactory-like receptor cDNAs are present in human lingual cDNA libraries. Biochem Biophys Res Commun. 2005 Jul 22;333(1):264-72. IF = 2.65 (2008), MNiSW = 20 pkt

Wykonałam większą część pracy doświadczalnej, zebrałam i opracowałam wyniki, napisałam manuskrypt. Swój udział oceniam na 65 %.

3. **Durzyńska J**, Pacholska-Bogalska J, Kaczmarek M, Hanć T, Durda M, Skrzypczak M, Goździcka-Józefiak A. Multiplex PCR for identification of herpes virus infections in adolescents. J Med Virol. 2011 Feb;83(2):267-71. IF = 2.8 (w 2011 r), MNiSW = 20 pkt

Wykonałam większą część pracy doświadczalnej, zebrałam i opracowałam wyniki, napisałam manuskrypt. Swój udział oceniam na 60 %.

4. **Durzyńska J**, Błażejewska P, Szydłowski J, Goździcka-Józefiak A. Detection of anti-HPV11-L1 antibodies in immune sera from patients suffering from recurrent respiratory papillomatosis using ELISA. Viral Immunol 2010 Aug;23(4):415-23. IF 1.6, MNiSW = 15 pkt

Wykonałam większą część pracy doświadczalnej, zebrałam i opracowałam wyniki, napisałam manuskrypt. Swój udział oceniam na 70 %.

5. Burchardt P, Goździcka-Jozefiak A, Zurawski J, Nowak W, **Durzyńska J**, Link R, Grotowski T, Siminiak T. Are elevated levels of IGF-1 caused by coronary arteriosclerosis?: Molecular and clinical analysis. Protein J. 2010 Nov;29(8):538-44. IF = 1.0, MNiSW = 15 pkt

Wykonałam część pracy doświadczalnej. Swój udział oceniam na 15 %.

6. Kędzia A, **Durzyńska J**, Gabryelczyk B, Petriczko E, Goździcka-Józefiak A. An analysis of IGF-1 receptor coding sequence in the genome of children with growth disorders. *Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism* 2013, 19, 3, 96-99, MNiSW = 7 pkt.

Zaprojektowałam i wykonałam część pracy doświadczalnej, zebrałam i opracowałam wyniki, miałam znaczny udział w powstaniu manuskryptu. Swoj udział oceniam na 30 %.

7. Petriczko E Wikiera B, Horodnicka-Józwa A, Marcinkiewicz K, Szmit-Domagalska J, Kędzia A, **Durzyńska J**, Broniarczyk J, Gabryelczyk B, Noczyńska A, Walczak M. A two year observation of the process of applying recombinant IGF-1 to treat short stature in children with primary IGF-1 deficiency - case reports of 3 patients. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2011;17(4):233-8. MNiSW = 7 pkt

Wykonałam część pracy doświadczalnej. Swoj udział oceniam na 10 %.

8. Rydzewski B, Goździcka-Józefiak A, Sokalski J, Matusiak M, **Durzyński L**. Identification of human papilloma viruses (HPV) in inflammatory states and ear neoplasms. *Otolaryngol Pol.* 2007;61(2):137-41. MNiSW = 7 pkt.

Wykonałam część pracy doświadczalnej. Swoj udział oceniam na 20 %.

9. **Durzyński L**, Gaudin JC, Breuils L, Szydłowski J, Goździcka-Józefiak A, Haertlé T. Do G protein-coupled receptors expressed in human lingual epithelium interact with HPV11? *J Med Virol.* 2007 Oct;79(10):1545-54. IF = 2.5 (w 2008), MNiSW = 20 pkt

Wykonałam większą część pracy doświadczalnej, zebrałam i opracowałam wyniki, napisałam manuskrypt. Swoj udział oceniam na 70 %

10. Szydłowski J, **Durzyński L**, Myga M, Grzegorowski M, Goździcka-Józefiak A. Human papillomavirus DNA presence of the upper respiratory tract mucosa of healthy children. *Otolaryngol Pol.* 2004;58(1):211-5. MNiSW = 7 pkt.

Wykonałam część pracy doświadczalnej. Swoj udział oceniam na 20 %.

11. **Durzyńska J.**, Pacholska-Bogalska J., Goździcka-Jozefiak A. Epidemiological study of herpesviruses type 1 (HSV1) and type 2 (HSV II), cytomegalovirus (CMV) and human papillomavirus (HPV) in adolescent population by PCR method, 164-183. W *Health and well-being in adolescence*. Wydawnictwo Bogucki Część I, pod redakcją Marii Kaczmarek 2011. 7 pkt MNiSW.

Wykonałam część pracy doświadczalnej. Napisałam rozdział do monografii. Swoj udział oceniam na 60 %.

12. Pacholska-Bogalska J., **Durzynska J.**, Gozdzicka-Jozefiak A. Analysis of a polymorphism in the regulatory region of the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) gene in children with physical development disorders and selected diseases, 186-198. W Health and well-being in adolescence. Wydawnictwo Bogucki Część I, pod redakcją Marii Kaczmarek 2011, 7 pkt MNiSW.

Wykonałam część pracy doświadczalnej. Swój udział oceniam na 30 %.

### **Literatura uzupełniająca do opisu osiągnięcia naukowego**

Abban CY, Meneses PI. Usage of heparan sulfate, integrins, and FAK in HPV16 infection. *Virology* 2010 Jul 20;403(1):1-16.

Aleksic T, Chitnis MM, Perestenko OV, et al. Type 1 IGF receptor translocates to the nucleus of human tumor cells. *Cancer Research*. 2010;70(16):6412-6419.

Barrett JC. Mechanisms of multistep carcinogenesis and carcinogen risk assessment. *Environmental Health Perspectives*. 1993;100:9-20.

Barton, E.R. (2006) The ABC's of IGF-I isoforms: Impact on muscle hypertrophy and implications for repair. *Appl Physiol, Nutrition and Metab.*, 31: 791-797.

Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol*. 2005 32 Suppl 1:S1-6.

Brisson BK, Barton ER. Insulin-like growth factor-I E-peptide activity is dependent on the IGF-I receptor. *PLoS One*. 2012;7(9):e45588.

Brotherton JM L, Fridman M, May CL, Chappell G, Saville AM, Gertig DM. Early effect of the HPV vaccination programme on cervical abnormalities in Victoria, Australia: an ecological study. *Lancet* 2011, 377: 2085–92.

Gariglio P, Gutiérrez J, Cortés E, Vázquez J. The role of retinoid deficiency and estrogens as cofactors in cervical cancer. *Arch Med Res*. 2009 40(6):449-65.

Gaudin JC, Breuils L, Haertlé T. New GPCRs from a human lingual cDNA library. *Chem Senses*. 2001 Nov;26(9):1157-66.

Jin YT, Tsai ST, Li C, Chang KC, Yan JJ, Chao WY, Eng HL, Chou TY, Wu TC, Su IJ. Prevalence of human papillomavirus in middle ear carcinoma associated with chronic otitis media. *Am J Pathol*. 1997 150(4):1327-33.

Jo H and Kim JW. Implications of HPV infection in uterine cervical cancer. *Cancer Therapy* 2005, 3, 419-434.

Józefiak A, Pacholska-Bogalska J, Myga-Nowak M, Kedzia W, Kwasniewska A, Luczak M, Kedzia H, Gozdzicka-Jozefiak A. Serum and tissue levels of insulin-like growth factor-I in women with dysplasia and HPV-positive cervical cancer. *Mol Med Rep*. 2008 1(2):231-7.

- Kandalla PK, Goldspink G, Butler-Browne G, Mouly V. Mechano Growth Factor E peptide (MGF-E), derived from an isoform of IGF-1, activates human muscle progenitor cells and induces an increase in their fusion potential at different ages. *Mech Ageing Dev.* 2011 Apr;132(4):154-62.
- Li L, He S, Sun JM, Davie JR. Gene regulation by Sp1 and Sp3. *Biochem Cell Biol.* 2004 82(4):460-71.
- Matheny RW Jr, Nindl BC, Adamo ML. Minireview: Mechano-growth factor: a putative product of IGF-I gene expression involved in tissue repair and regeneration. *Endocrinology.* 2010 Mar;151(3):865-75.
- Pietrzkowski Z, Sell C, Lammers R, Ullrich A, Baserga R. Roles of insulinlike growth factor 1 (IGF-1) and the IGF-1 receptor in epidermal growth factor-stimulated growth of 3T3 cells. *Mol Cell Biol.* 1992 12(9):3883-9.
- Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. *Nat Rev Cancer.* 2008 8(12):915-28.
- Pollak MN, Schernhammer ES, Hankinson SE. Insulin-like growth factors and neoplasia. *Nat Rev Cancer.* 2004 4(7):505-18.
- Qu W, Jiang G, Cruz Y, Chang CJ, Ho GY, Klein RS, Burk RD. PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. *J Clin Microbiol.* 1997 35(6):1304-10.
- Reiter PL, Gilkey MB, Brewer NT. HPV vaccination among adolescent males: results from the National Immunization Survey-Teen. *Vaccine.* 2013, 31(26):2816-21.
- Tan DS, Cook A and Chew SL. Nucleolar localization of an isoform of the IGF-I precursor. *BMC Cell Biol* 2002; 3: 17.
- Tucker RA, Johnson PR, Reeves WC, Icenogle JP. Using the polymerase chain reaction to genotype human papillomavirus DNAs in samples containing multiple HPVs may produce inaccurate results. *J Virol Methods.* 1993 43(3):321-33.
- Vassilakos G, Philippou A, Tsakiroglou P, Koutsilieris M. Biological activity of the e domain of the IGF-1Ec as addressed by synthetic peptides. *Hormones (Athens).* 2014 Apr-Jun;13(2):182-96.
- Wallis M. New insulin-like growth factor (IGF)-precursor sequences from mammalian genomes: the molecular evolution of IGFs and associated peptides in primates. *Growth Horm IGF Res.* 2009 Feb;19(1):12-23.
- zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology.* 2009, 384(2):260-5.

