

Autoreferat

dr Kamila Ewa Kitowska



Zakład Enzymologii i Onkologii Molekularnej
Instytut Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2023

Spis treści

1. Imię i nazwisko	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego stanowiącego cykl 4 powiązanych tematycznie publikacji.....	4
4.2. Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego	4
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	6
4.4. Opis pozostałego dorobku i osiągnięć naukowych.....	16
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej	19
5.1. Staże zagraniczne	19
5.2. Wykaz i opis publikacji powstałych w wyniku pracy w więcej niż jednej uczelni instytucji naukowej	19
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	25
6.1. Przedmioty nauczane w ramach pensum dydaktycznego.....	25
6.2. Opieka nad dyplomantami oraz kształcenie kadr	25
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej	27
7.1. Udział w projektach i grantach badawczych	27
7.2. Nagrody i wyróżnienia	28
7.3. Odbyte szkolenia	28
8. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopiśmie międzynarodowych	29
9. Analiza bibliometryczna	29
10. Bibliografia.....	29

1. Imię i nazwisko

Kamila Ewa Kitowska, <https://orcid.org/0000-0003-4299-7809>

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- **stopień doktora** nadany przez Justus Liebig University of Giessen, Faculties of Veterinary Medicine and Medicine, Niemcy (2007.12.11). Tytuł rozprawy doktorskiej: „Arginine metabolism in experimental and idiopathic pulmonary fibrosis”, promotor pracy prof. Oliver Eickelberg
- **kurs doktorski** Molecular Biology and Medicine of the Lung (MBML) International Graduate Programme, Justus Liebig University of Giessen, Niemcy (2004-2007)
- **stopień magistra biotechnologii** nadany przez Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (2003.09.30), tytuł pracy magisterskiej: „Wpływ czynników fizyko-chemicznych na kumulację aminokwasowych pochodnych protoporfirynowych w ludzkich komórkach nowotworowych linii HeLa”

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

- 10.2016 – obecnie** **adiunkt badawczo-dydaktyczny**, Zakład Enzymologii i Onkologii Molekularnej, Instytut Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej GUMed, Gdański Uniwersytet Medyczny.
- 11.2014 - 10.2016** **adiunkt badawczy**, Zakład Enzymologii i Onkologii Molekularnej, Instytut Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej GUMed, Gdański Uniwersytet Medyczny.
- 12.2007 - 11.2014** **starszy specjalista/embriolog**, Klinika Leczenia Niepłodności Invicta sp z o.o., Gdańsk.

- 06.2007 - 12.2007** **pracownik naukowy/post-doc**, Justus Liebig University of Giessen, Niemcy.
- 04.2004 - 05.2007** **doktorant** Molecular Biology and Medicine of the Lung (MBML) International Graduate Programme, Faculties of Veterinary Medicine and Medicine, Justus Liebig University of Giessen, Niemcy.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego stanowiącego cykl 4 powiązanych tematycznie publikacji

„Analiza roli sygnalizacji receptorów dla czynników wzrostu fibroblastów (FGFR) w progresji nowotworowej oraz opis molekularnego mechanizmu oporności na terapię anti-FGFR”

4.2. Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

Podstawę osiągnięcia habilitacyjnego stanowi cykl 4 powiązanych tematycznie publikacji dotyczących znaczenia sygnalizacji zależnej od receptorów dla czynników wzrostu fibroblastów (FGFR) dla procesów transformacji nowotworowej, progresji choroby oraz odpowiedzi komórek nowotworowych na terapię celowane, a także identyfikacji mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za powstanie oporności na terapię anti-FGFR. Publikacje tworzące cykl są pracami oryginalnymi, opublikowane zostały w latach 2021-2023 i są wynikiem prac badawczych realizowanych w Zakładzie Enzymologii i Onkologii Molekularnej, Instytut Biotechnologii Medycznej i Onkologii Doświadczalnej GUMed, Gdański Uniwersytet Medyczny. Sumaryczna wartość współczynnika **IF** prac składających się na to osiągnięcie wynosi **22,504**.

1. *FGFR2 controls growth, adhesion and migration of nontumorigenic human mammary epithelial cells by regulation of integrin β 1 degradation.*

Mieczkowski K, Popeda M, Lesniak D, Sadej R, **Kitowska K**[§].
J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2023 May 16;28(1):9.

IF₂₀₂₂ 2,5

[§] autor korespondencyjny

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał współudziale w sformułowaniu koncepcji badań. Byłam odpowiedzialna za wybór metodyki oraz zaplanowanie doświadczeń wchodzących w skład publikacji, przeprowadziłam część analiz Western blot. Brałam udział w pisaniu manuskryptu, tworzeniu figur, korekcie i składaniu manuskryptu. Brałam udział w przygotowywaniu odpowiedzi do recenzentów, korektach manuskryptu w trakcie recenzji. W pracy pełniłam rolę autora korespondencyjnego.

2. *FGF7/FGFR2→JunB signalling counteracts the effect of progesterone in luminal breast cancer.*

Mieczkowski K *, **Kitowska K***, Braun M, Galikowska-Bogut B, Piasecka D, Gorska-Arcisz M, Zaczek AJ, Nejc D , Kordek R, Romanska HM, Sadej R.

Mol Oncol. 2022 Aug;16(15):2823-2842.

* autorstwo równorzędne

IF 6,6

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wyborze metodyki badań, wyprowadzeniu wariantów linii komórkowej T47D z wyciszoną ekspresją FGFR2. Przeprowadziłam eksperymenty obejmujące: hodowle komórek 3D w Matrigelu, badanie sygnalizacji komórkowej. Byłam odpowiedzialna za analizę aktywności transkrypcyjnej ER z użyciem Human Estrogen Receptor Signaling RT² Profiler PCR Array oraz ocenę wpływu inhibicji GSK3 β na aktywność JunB. Opracowałam figury dotyczące wykonanych przeze mnie eksperymentów. Uczestniczyłam w planowaniu i interpretacji eksperymentów. Brałam udział w powstawaniu manuskryptu. Wykonywałam korektę wstępnej wersji manuskryptu oraz wersji ostatecznej złożonej do czasopisma. Brałam udział w przygotowywaniu odpowiedzi do recenzentów.

3. *p38 mediates resistance to FGFR inhibition in non-small cell lung cancer.*

Zarczynska I, Gorska-Arcisz M, Cortez AJ, Kujawa KA, Wilk AM, Skladanowski AC, Stanczak A, Skupinska M, Wieczorek M, Lisowska KM, Sadej R, **Kitowska K**[§].

Cells. 2021 Nov 30;10(12):3363.

IF 7,666

[§] autor korespondencyjny

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej i koncepcji badań. Byłam odpowiedzialna za wybór metodyki oraz zaplanowanie doświadczeń wchodzących w skład publikacji. Wyprowadzałam warianty linii komórkowych NCI-H1581 i NCI-H1703 odporne na inhibitory FGFR, przeprowadzałam testy proliferacyjne, analizy Western blot oraz eksperymenty obejmujące hodowle komórek 3D w Matrigelu.

Uczestniczyłam w opracowywaniu i interpretacji wyników. Byłam odpowiedzialna za dobór literatury, pisanie manuskryptu i jego korektę oraz składanie manuskryptu do czasopisma. Brałam udział w przygotowywaniu odpowiedzi do recenzentów. W pracy pełniłam rolę autora korespondencyjnego.

4. *MET-Pyk2 axis mediates acquired resistance to FGFR inhibition in cancer cells.*

Kitowska K[§], Gorska-Arcisz M, Antoun D, Zarczynska I, Czaplinska D, Szczepaniak A, Składanowski AC, Wieczorek M, Stanczak A, Skupinska M, Sadej R.

Front Oncol. 2021 Apr 7;11:633410

IF 5,738

[§] autor korespondencyjny

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w sformułowaniu hipotezy badawczej, zaplanowaniu i wyborze metodyki badań, wyprowadzeniu wariantów linii komórkowych NCI-H1581 i NCI-H1703 opornych na inhibitory FGFR. Wykonałam również testy proliferacyjne, eksperymenty obejmujące hodowle 3D w Matrigelu oraz analizy Western blot. Byłam również odpowiedzialna za wyprowadzenie linii NCI-H1703 oraz SNU-16 z nadekspresją MET, wykonałam testy migracyjne. Uczestniczyłam w opracowywaniu i interpretacji wyników, tworzeniu figur. Byłam odpowiedzialna za dobór literatury, pisanie manuskryptu i jego korektę oraz składanie manuskryptu do czasopisma. Brałam udział w przygotowywaniu odpowiedzi do recenzentów. W pracy pełniłam rolę autora korespondencyjnego.

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Celem prowadzonych badań była analiza wpływu sygnalizacji zależnej od receptorów dla czynników wzrostu fibroblastów (FGFR) na procesy inicjacji oraz progresji nowotworowej, a także identyfikacja mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za powstanie oporności na terapię anty-FGFR. Poniżej przedstawiono szczegółowe cele poszczególnych publikacji wchodzących w skład osiągnięcia:

- 1) Ocena funkcji sygnalizacji FGFR2 w inicjacji transformacji nowotworowej nabłonkowych komórek gruczołu piersiowego, z uwzględnieniem wpływu aktywności FGFR2 na poziom ekspresji integryn ([publikacja 1](#)).
- 2) Analiza wpływu sygnalizacji FGF7/FGFR2 na aktywność receptorów dla hormonów steroidowych w komórkach luminalnego raka piersi i ich odpowiedź na terapię anty-ER, z uwzględnieniem: i) badania mechanizmu molekularnego wyjaśniającego FGFR2-zależną

regulację aktywności transkrypcyjnej ER, ii) analiz klinicznych oceniających znaczenie rokownicze FGFR2 u pacjentek z luminalnym rakiem piersi ([publikacja 2](#)).

3) Ocena wrażliwości komórek niedrobnokomórkowego raka płuca, raka żołądka i raka pęcherza na nowy pan-FGFR inhibitor - CPL304110 (Celon Pharma S.A.) oraz opis molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za powstanie oporności na ten inhibitor ([publikacja 3 i 4](#)).

Wstęp

Receptory dla czynników wzrostu fibroblastów (*ang. fibroblast growth factor receptor*, FGFR) to rodzina tyrozynowych kinaz receptorowych obejmująca cztery transbłonowe białka (FGFR1-FGFR4). Receptory te kodowane są przez cztery różne geny zlokalizowane odpowiednio na chromosomie 8p11.23, 10q26.13, 4p16.3, 5q35.2. W przypadku FGFR1-3 alternatywny splicing prowadzi do powstania w pełni funkcjonalnych izoform IIIb i IIIc ¹. W odróżnieniu od pozostałych receptorów, FGFR4 ma tylko jedną izoformę, homologiczną do izoformy IIIc receptorów FGFR1-3. Co ważne, poszczególne izoformy receptorów mają różne powinowactwo do ligandów – czynników wzrostu fibroblastów (*ang. fibroblast growth factor*, FGF), a także wykazują ekspresję tkankowo-specyficzną. W strukturze FGFR wyróżnić można element wspólny tj. zewnątrzkomórkową domenę złożoną z trzech immunoglobulinowych pętli (D1-D3), z których D1 odpowiedzialna jest za autoinhibicję, D2 i D3 odpowiadają za wiązanie ligandów, dodatkowo D3 warunkuje specyficzność receptorów wobec ligandów. Oprócz wspomnianej części zewnątrzkomórkowej, w strukturze receptorów wyróżnia się również domenę przezbłonową oraz dwie domeny wewnątrzkomórkowe o aktywności kinazy tyrozynowej ².

Ligandy dla FGFR są liczną rodziną glikoprotein, które mogą wykazywać działanie parakryne i autokryne (FGF1-10, 16-18, 20) lub endokryne (FGF19, 21, 23). FGF o działaniu para-/autokrynnym do wiązania z receptorem wymaga kofaktora, jakim jest proteoglikan siarczanu heparyny. FGF endokryne, by związać się z receptorem, wymagają natomiast obecności białka Klotho na powierzchni komórek ³. Po związaniu liganda do domeny zewnątrzkomórkowej FGFR dochodzi do jego dimeryzacji, co prowadzi do transfosforylacji wewnątrzkomórkowych domen kinazowych, będących miejscem dokowania białek adaptorowych FRS2 (*ang. fibroblast growth factor receptor substrate 2*) i PLC- γ (*ang. phospholipase C γ*), pośredniczących w przekazywaniu sygnału w szeregu szlaków sygnalizacyjnych. Fosforylacja związanego z receptorem białka FRS2 umożliwia rekrutację kolejnych białek w tym GRB2, SOS, GAB1, które pośredniczą w aktywacji ścieżek sygnalizacyjnych takich jak: Ras/Raf/MAPK, PI3K/Akt. PLC- γ aktywuje natomiast białkową

kinazę C (PKC). Dodatkowo FGFR-zależna sygnalizacja może prowadzić do aktywacji wielu innych białek, m.in. STATs (*ang. signal transduction and activation of transcription factors*), p38 MAPK, JNK (*ang. Jun N-terminal kinase*) czy RSK2 (*ang. ribosomal protein S6 kinase*). Poprzez uruchomienie tak wielu kaskad sygnalizacyjnych aktywny FGFR bierze udział w regulacji szeregu fizjologicznych procesów takich jak proliferacja, różnicowanie, metabolizm, przeżycie, migracja, inwazja i apoptoza. Deregulacja FGFR-zależnej sygnalizacji w komórkach i narządach może przyczyniać się do powstawania wad rozwojowych, metabolicznych, a także do inicjacji transformacji nowotworowej. Badania na modelach *in vitro* i *in vivo* wykazały, że zarówno *FGF* jak i *FGFR* mogą zachowywać się jak onkogeny ⁴. Niewłaściwa regulacja aktywności FGFR została wykryta w wielu typach nowotworów. U jej podstaw mogą leżeć zmiany w obrębie genu dla *FGFR* takie jak amplifikacje genu, mutacje punktowe czy translokacje warunkujące powstanie genów fuzyjnych kodujących białka chimeryczne z domeną kinazy FGFR. Poprzez nieprawidłową regulację transkrypcji może również dochodzić do nadekspresji FGFR ⁵. Wszystkie te zmiany prowadzą do powstania receptorów konstytutywnie aktywnych lub takich, których aktywność nie jest zależna od obecności liganda.

W pracy tej poświęcono uwagę czterem typom nabłonkowych nowotworów, w inicjacji i progresji których istotną rolę odgrywa FGFR-zależna sygnalizacja, są nimi: luminalny (ER+) rak piersi, płaskonabłonkowy rak płuca, rak pęcherza moczowego i rak żołądka.

Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem wśród kobiet na świecie, w obrębie którego największą grupę stanowi luminalny rak piersi, wykazujący ekspresję receptora estrogenowego (ER) i receptora progesteronowego (PR). Pomimo istotnych postępów w leczeniu wynikających z wprowadzenia terapii celowanych anty-ER, istnieje grupa chorych, która nie odpowiada na leczenie lub po pewnym czasie rozwija oporność na stosowaną terapię. Szereg badań wskazuje, że sygnalizacja inicjowana przez aktywne receptory z rodziny FGFR może mieć istotne znaczenie dla transformacji nowotworowej w obrębie gruczołu piersiowego. Co więcej sygnalizacja FGF7/FGFR2 może regulować aktywność receptorów ER i PR, prowadząc do ich fosforylacji a następnie degradacji, co w efekcie zmniejsza skuteczność terapii anty-ER (tamoksyfen) wobec komórek luminalnego raka piersi ^{6,7}.

W przypadku innych nowotworów takich jak niedrobnokomórkowy rak płuca, rak pęcherza czy rak żołądka również obserwuje się deregulację sygnalizacji FGF/FGFR, wynikającą z obecności takich zmian jak amplifikacja *FGFR1*, mutacje punktowe w *FGFR2*, mutacje missensowne i rearanżacje w *FGFR3*. Szereg badań wskazuje, że FGFR może być celem terapii molekularnych w leczeniu wymienionych nowotworów. By przeciwdziałać efektom wywołanym przez nieprawidłowo działającą ścieżkę sygnalizacyjną FGFR, na dużą

skale prowadzone są badania mające na celu wprowadzenie skutecznych terapii celujących w aktywność tego receptora. Największą grupę potencjalnych terapeutyków anty-FGFR przebadaną do tej pory stanowią drobnocząsteczkowe inhibitory (*ang. tyrosine kinase inhibitor*, TKI), których działanie może być w mniejszym lub większym stopniu selektywne. Inhibitory FGFR I generacji wykazywały małą selektywność, ponieważ przyłączały się do miejsca wiązania się ATP, które wykazuje wysoką homologię z domenami innych receptorów, np.: VEGFR (*ang. vascular endothelial growth factor receptor*), PDGFR (*ang. platelet-derived growth factor receptor*), FLT-3 (*ang. fms-like tyrosine kinase 3*), c-Kit and BCR-ABL⁸. W efekcie działania nieselektywnych TKI dochodzić może do blokowania wielu szlaków sygnalizacyjnych, co indukuje szereg niepożądanych efektów ubocznych. Inhibitory FGFR II generacji działają poprzez wiązanie się do domeny kinazy tyrozynowej FGFR. Są to związki o znacznie wyższej sile działania, lepszej selektywności, mniej toksyczne, a co za tym idzie bardziej bezpieczne dla pacjentów. W grupie inhibitorów FGFR II generacji są trzy związki zaakceptowane przez FDA (*ang. Food and Drug Administration*): erdafitinib zatwierdzony w roku 2019 do leczenia pacjentów z miejscowo-zaawansowanym lub przerzutowym rakiem układu moczowego, w którym wykazano rearanżacje w obrębie *FGFR2/FGFR3*⁹, penigatinib zatwierdzony w 2020 dla pacjentów z wcześniej leczonym z nieresekcyjnym miejscowo-zaawansowanym lub przerzutowym rakiem dróg żółciowych, w którym wykazano rearanżacje lub fuzje w obrębie *FGFR2*¹⁰, oraz infigratinib zatwierdzony w 2021 do leczenia pacjentów z rakiem dróg żółciowych wykazującym fuzje w *FGFR2*¹¹. Od roku 2016 byłam zaangażowana we współpracę z firmą farmaceutyczną, Celon Pharma S.A., której celem były badania nad nowym kowalencyjnym inhibitorem pan-FGFR, CPL304110, przeznaczonym dla pacjentów z zaawansowanymi nowotworami litymi. Obecnie, CPL304110 wchodzi w II fazę badań klinicznych (NCT04149691). Projekt ten był współfinansowany przez NCBiR w ramach programu STRATEGMED II.

Omówienie wyników badań:

Jak wspomniano FGF/FGFR-zależna sygnalizacja bierze udział w regulacji wielu fizjologicznych procesów, m.in. odgrywa rolę w rozwoju i funkcjonowaniu gruczołu piersiowego. W badaniach na modelu mysim z warunkowym knock-out'em *FGFR2* wykazano znaczenie tego receptora w procesie tworzenia i rozgałęziania przewodów mlecznych¹². Receptory FGFR wchodzi w interakcję z integrzynami, białkami receptorowymi odpowiedzialnymi za regulację adhezji i migracji. We wcześniejszych badaniach wykazaliśmy, że *FGFR2* może aktywować RSK2, kinazę regulującą funkcje integrzyn¹³, co może skutkować zmianami w potencjale migracyjnym nabłonkowych komórek gruczołu piersiowego¹⁴.

W związku z powyższym, w **publikacji 1** zadaliśmy sobie pytanie czy sygnalizacja FGFR2 bierze udział w procesach inicjacji transformacji nowotworowej. Do badań wykorzystaliśmy nieinwazyjną linię komórek gruczołu piersiowego, HB2, oraz jej wariant z wyciszoną ekspresją *FGFR2*, HB2 *FGFR2*(-). Zaobserwowaliśmy, że stabilne wyciszenie ekspresji *FGFR2* nie wpłynęło na zmiany w poziomie proliferacji komórek HB2, natomiast przyczyniło się do zmian morfologicznych kolonii tworzonych w warunkach 3D w Matrygelu (model błony podstawnej) i kolagenie I (najpowszechniejsze białko stromy w gruczole piersiowym). Komórki z wyciszoną ekspresją *FGFR2* tworzyły rozgałęzione kolonie. Dodatkowo poprzez analizę Western blot wykazaliśmy w tych komórkach obniżony poziom ekspresji integryn $\alpha 2$, $\alpha 5$ i $\beta 1$, co sugerowało zmiany w sposobie komunikacji komórek z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej. Analiza funkcyjna roli FGFR2 w zależnych od integryn procesach adhezji i migracji dowiodła, że komórki z wyciszoną ekspresją *FGFR2* miały znacznie niższe zdolności adhezyjne do kolagenu I, fibronektyny i Matrygelu. Komórki te wykazywały również zmiany w organizacji cytoszkieletu, co przekłada się na ich obniżony potencjał migracyjny. Wykazaliśmy również, że FGFR2 w komórkach HB2 może brać udział w regulacji proteasomalnej degradacji integryny $\beta 1$, przyczyniając się w ten sposób do zaburzeń interakcji między komórką a białkami macierzy zewnątrzkomórkowej, charakterystycznych dla pierwszych etapów inicjacji transformacji nowotworowej. Przeprowadziliśmy także analizę ekspresji *FGFR2* i *ITGB1* w dwóch niezależnych bazach danych, umożliwiających porównanie danych transkryptomicznych z normalnych oraz zmienionych nowotworowo tkanek gruczołu piersiowego. Analiza *in silico*, porównująca ekspresję *FGFR2* u osób z niskim (n=101) i wysokim (n=25) ryzykiem rozwoju raka piersi (zdefiniowanym za pomocą skali Gaila, próg ryzyka na poziomi 1,67%), ujawniła tendencję do obniżonej ekspresji *FGFR2* u pacjentek z wyższym ryzykiem rozwoju raka piersi. W grupie tej wykazano również negatywną korelację między ekspresją genów związanych z sygnalizacją FGFR2 a ekspresją genów powiązanych z regulacją integryn, adhezją/migracją komórek oraz składem i organizacją macierzy zewnątrzkomórkowej. Reasumując, przedstawione w **publikacji 1** wyniki badań molekularnych uzupełnionych o analizy *in silico* mogą sugerować, że FGFR2 poprzez regulację poziomu integryny $\beta 1$ może mieć związek z wczesnymi etapami onkogenezy w gruczole piersiowym.

W związku z tym, że sygnalizacja FGFR może mieć wpływ nie tylko na inicjację transformacji nowotworowej, ale także na progresję raka, kolejnym celem osiągnięcia naukowego była analiza wpływu sygnalizacji FGF7/FGFR2 na aktywność receptorów dla hormonów steroidowych w komórkach luminalnego A raka piersi. W badaniach ujętych w **publikacji 2** skupiliśmy się na luminalnym A raku piersi, który stanowi 60-70% wszystkich

nowotworów piersi i wykazuje ekspresję receptorów ER i PR, od aktywności których uzależniony jest wzrost komórek nowotworowych. Standardowe leczenie tego podtypu raka polega na blokowaniu aktywności ER (terapię anti-ER, np.: tamoksyfen, fulwestrant). Pomimo wysokiej skuteczności, duża grupa pacjentek nie odpowiada na takie leczenie lub w trakcie trwania terapii rozwija na nią oporność. Podwyższoną ekspresję i/lub amplifikację *FGFR2* obserwuje się u 5-10% chorych na raka piersi¹⁵. Dodatkowo fakt, że obecność polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w intronie 2 *FGFR2* powiązana jest z wyższym ryzykiem rozwoju ER(+) raka piersi¹⁶, sugeruje że *FGFR2* jest czynnikiem onkogennym, wyłaniającym się jako potencjalny cel terapii. Badania kliniczne drobnocząsteczkowych inhibitorów ukierunkowanych na *FGFR* wykazały jednak niespójne wyniki, odpowiedź na inhibitory *FGFR* pozostawała zmienna, niejednokrotnie niewystarczająca. Z jednej strony wskazuje to na konieczność pracy nad kolejnymi bardziej efektywnymi inhibitorami *FGFR*, z drugiej sugeruje, że onkogenny potencjał *FGFR2* zależny jest od wielu dodatkowych czynników, np.: obecności innych towarzyszących onkogenów¹⁷. To zależne od kontekstu znaczenie *FGFR2* potwierdzają nasze poprzednie badania prowadzone we współpracy z Zakładem Patologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Otrzymane wyniki doświadczeń *in vitro* sugerują, że aktywny *FGFR2* promuje wzrost i migrację komórek ER(+) raka piersi i przeciwdziała efektom terapii anti-ER^{6,7}. Z drugiej strony analizy kliniczne wskazują, że wysoka ekspresja *FGFR2* powiązana jest ze złym rokowaniem u pacjentek z ER(+)/PR(-) rakiem piersi, natomiast z dobrym rokowaniem u pacjentek z ER(+)/PR(+) rakiem piersi¹⁸. Uwidacznia to niezwykle złożoną i trudną do wyjaśnienia rolę sygnalizacji *FGFR* w progresji nowotworowej. W mysim modelu ER(+) raka piersi wykorzystującym pochodzące od pacjentów ksenografty wykazano, że w obecności swoistych ligandów, tj. progesteronu (P4) i estrogenu (E2), PR wchodzi w bezpośrednią interakcję z ER i zmienia miejsca jego wiązania w chromatynie, co powoduje aktywację ekspresji genów związanych z dobrym rokowaniem¹⁹. Aktywność ER i PR może być modulowana przez czynniki pochodzące z mikrośrodowiska. W naszych wcześniejszych publikacjach dowiedliśmy, że sygnalizacja *FGF7/FGFR2* może niezależnie regulować ufosforylowanie/aktywność obu receptorów dla hormonów steroidowych. W związku z tym w **publikacji 2** wykonaliśmy szereg badań molekularnych i analiz klinicznych, oceniających wpływ *FGFR2* na zależność ER/PR w progresji raka piersi i odpowiedź na terapię anti-ER. Wykazaliśmy, że hamowanie wzrostu komórek luminalnego raka piersi przez P4 jest zniesione przez sygnalizację *FGF7/FGFR2*, dodatkowo aktywny *FGFR2* znosi antyproliferacyjne działanie tamoksyfenu. Ponadto, *FGF7/FGFR2* indukował wzrost ufosofrylowania ER (S167) i PR (S297), a także promował wzrost ilości kompleksów tworzonych przez ER i PR. W ten sposób sygnalizacja *FGFR2* modulowała regulowaną przez P4 transkrypcyjną aktywność ER.

Obserwowane przez nas efekty biologiczne i molekularne sugerują, że FGF7 i P4 są wzajemnymi antagonistami w regulacji aktywności ER.

Analizy wykonane na dwóch niezależnych bazach danych pacjentek z ER(+)/PR(+) rakiem piersi (n = 825 METABRIC dataset, n = 338 TCGA/non-METABRIC dataset) wykazały, że wysoka ekspresja *FGFR2* jest dobrym czynnikiem prognostycznym tylko w grupie pacjentek pomenopauzalnych, natomiast takiej korelacji nie obserwuje się dla pacjentek przedmenopauzalnych. Oznacza to, że prognostyczne znaczenie *FGFR2* uzależnione jest od statusu menopauzalnego, a właściwa stratyfikacja pacjentek z ER(+)/PR(+) rakiem piersi może pomóc w zidentyfikowaniu chorych, dla których *FGFR2* może być złym czynnikiem prognostycznym oraz potencjalnym celem terapii. Analiza ilościowa RNA (Nanostring) wykonana na próbkach pochodzących od pacjentek z rakiem piersi, obejmująca ER-zależne geny, których ekspresja jest modulowana przez FGF7, wykazała stosunkowo silną dodatnią korelację między ekspresją *FGFR2* na poziomie białka a ekspresją *JUNB* (genu kodującego czynnik transkrypcyjny z rodziny JUN, substrat dla kinazy JNK) w grupie pacjentek przedmenopauzalnych. Dodatkowo, analizując ekspresję białka *JUNB in vitro* w obecności E2 i P4 (warunki naśladujące stan przedmenopauzalny), wykazaliśmy, że FGF7 poprzez aktywację ścieżki JNK indukuje wzrost ekspresji *JUNB*. Promowany przez FGF7 przyrost *JUNB* związany był z zależną od JNK inaktywacją kinazy GSK3 β . *JUNB* okazał się niezbędnym czynnikiem pośredniczącym w procesach indukowanych przez FGF7, w wyniku których dochodzi do zniesienia inhibicji wzrostu komórek raka piersi przez P4. Dodatkowo, analogicznie do znaczenia prognostycznego *FGFR2*, dla pacjentek z grupy pomenopauzalej obserwowaliśmy związek między wysoką ekspresją *JUNB* a dłuższym całkowitym czasem przeżycia (*ang. overall survival*, OS). W grupie pacjentek przedmenopauzalnych tendencja ta całkowicie zanikała.

Podsumowując nasze badania *in vitro* i kliniczne analizy wykonane dla ER(+)/PR(+) raka piersi możemy wnioskować, że rola *FGFR2* może zależeć od statusu menopauzalnego pacjentek, a oś sygnalizacyjna FGF7/*FGFR2*–*JunB*, wpływając na aktywność PR w komórki raka piersi, może przyczyniać się do zniesienia odpowiedzi na terapię anty-ER i progresji nowotworów przedmenopauzalnych.

W publikacjach 1 i 2 skupiliśmy się na wpływie aktywności *FGFR2* na rozwój raka gruczołu piersiowego, nasze kolejne badania miały na celu poszerzenie wiedzy dotyczącej aktywności pozostałych receptorów z rodziny *FGFR* w innych typach nowotworów. Publikacja 3 powstała w wyniku współpracy z firmą farmaceutyczną Celon Pharma S.A. oraz Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach w ramach grantu CELONKO (NCBiR, program STRATEGMED II).

Projekt obejmował przedkliniczną fazę badań pan-inhibitora FGFR, CPL304110, który mógłby mieć zastosowanie u pacjentów z nowotworami nabłonkowymi wykazującymi aberracje w FGFR. Badania nad skutecznością CPL304110 i mechanizmami rozwoju oporności na ten inhibitor wykonywaliśmy w pierwszej kolejności na liniach komórkowych niedrobnokomórkowego raka płuca. Zalicza się do niego raki płaskonabłonkowe, w obrębie których 10-20% przypadków wykazuje amplifikację *FGFR1*. Sugeruje to, że FGFR1 może być czynnikiem onkogennym i potencjalnym celem terapeutycznym. Przeprowadzone przez nas testy proliferacyjne ujawniły, że z pośród przebadanych linii komórkowych niedrobnokomórkowego, płaskonabłonkowego raka płuca, NCI-H1581 i NCI-H1703 wykazały największą wrażliwość na testowany inhibitor ($IC_{50} < 1 \mu M$). Dodatkowo tę obserwację potwierdziły analizy wzrostu w warunkach 3D w Matrigelu oraz testy klonogenne. Odpowiedź na CPL304110 skorelowana była z poziomem ekspresji FGFR1-4. Linie komórkowe NCI-H1581 i NCI-H1703 wykazywały wyższy poziom białek receptorowych w porównaniu do linii niewrażliwych na badany inhibitor (DMS114, NCI-H2170, NCI-H520). Co istotne, analiza porównawcza hybrydyzacji genomu w oparciu o macierze (*ang. array based-comparative genome hybridisation, aCGH*) ujawniła znaczną zmienność liczby kopii (*ang. copy number variation, CNV*) DNA w obu liniach komórkowych wrażliwych na CPL304110, jednak wzór tej zmienności był odrębny dla każdej z nich. Rozwój oporności na stosowany terapeutyk jest nieuniknionym problemem klinicznym. Dlatego celem naszych badań było poszukiwanie mechanizmu oporności na inhibitor FGFR. Analiza poziomu ekspresji i ufosforylowania FGFR oraz jego białek efektorowych w liniach komórkowych z wyprowadzoną opornością na CPL304110 ujawniła obniżony poziom ufosforylowania/aktywacji FGFR, FRS2- α , PLC- γ z jednoczesnym wzrostem poziomu ekspresji i ufosforylowania kinazy p38. Za pomocą analiz sekwencjonowania RNA wyselekcjonowaliśmy panel 54 genów związanych z sygnalizacją kinazy p38, wspólnych dla obu linii komórkowych, które wykazywały ten sam wzór ekspresji związany z nabyciem przez komórki oporności na inhibitor FGFR. Wyszliśmy więc hipotezę, że p38 może być zaangażowane w proces powstawania oporności na CPL304110. Wykazaliśmy, że zahamowanie aktywności p38 uwrażliwia komórki na inhibitor FGFR. Z drugiej strony nadekspresja p38 w komórkach, które początkowo wykazywały wrażliwość na CPL304110, prowadziła do powstania w nich oporności na badany inhibitor.

Podsumowując, pomimo różnic genomowych i transkrypcyjnych, komórki raka płuca mogą wykształcać podobny mechanizm oporności na CPL304110, w który zaangażowana jest kinaza p38. Wydaje się, że hamowanie aktywności p38 może stanowić potencjalne podejście terapeutyczne, umożliwiające obejście procesów odpowiedzialnych za rozwój oporności na inhibitor FGFR w raku płuca.

Publikacja 4 prezentuje wyniki badań, będące kontynuacją prac przedklinicznych dotyczących zastosowania nowego inhibitora FGFR, CPL304110, w nowotworach litych. Celem naszych badań było zdefiniowanie molekularnego mechanizmu oporności na inhibitor FGFR w różnych typach nowotworów. W tym celu wykonaliśmy analizę wrażliwości na CPL304110 w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca, raka żołądka i raka pęcherza moczowego. Z linii komórkowych wrażliwych na CPL304110 pochodzących z powyższych nowotworów wyprowadziliśmy warianty odporne na inhibitor, w których zgodnie z wynikami przedstawionymi w **publikacji 3** dochodziło do wyciszenia ścieżki sygnalizacyjnej FGFR, obniżenia ufosforylowania FGFR, FRS2- α , PLC- γ . Co istotne, w wariantach opornych na CPL304110 dochodziło również do wzrostu ekspresji i ufosforylowania receptora MET (*ang. hepatocyte growth factor receptor*). Receptor ten ma aktywność kinazy tyrozynowej i obecny jest w komórkach nabłonkowych wielu organów. Wykazaliśmy, że aktywacja MET za pomocą liganda, HGF (*ang. hepatocyte growth factor*), przyczynia się do zniesienia antyproliferacyjnego działania CPL304110. Natomiast, zahamowanie aktywności MET, za pomocą specyficznego inhibitora (capmatinib) przywracało wrażliwość na CPL304110 w wariantach opornych. Wyniki te potwierdziliśmy wykazując, że nadekspresja MET prowadzi, do zniesienia wrażliwości na CPL304110. Ujawniliśmy również, że komórki odporne na CPL304110 wykazywały znacznie wyższy potencjał migracyjny z jednoczesną wyższą aktywnością białka Pyk2 (niereceptorowa kinaza tyrozynowa). W przypadku linii komórkowych opornych na CPL304110 zahamowanie aktywności białka Pyk2 nie tylko obniżało migrację komórek, ale także przyczyniało się do ponownego ich uwrażliwienia na inhibitor FGFR.

Podsumowując wykazaliśmy, że aktywacja kinazy Pyk2, w której pośredniczy receptor MET, przyczynia się do oporności na nowy inhibitor FGFR, CPL304110. Co istotne, mechanizm ten wydaje się być wspólny dla niedrobnokomórkowego raka płuca, raka żołądka i raka pęcherza moczowego co sugeruje, że celowanie w oś sygnalizacyjną MET-Pyk2 mogłoby być kolejną strategią terapeutyczną stosowaną do przewycięzania oporności na CPL304110. Z informacji od lidera projektu (Celon Pharma S.A.) wiemy, że koniec I fazy badań klinicznych CPL304110 przewidziany jest na grudzień 2023. Natomiast realizacja badań fazy IIA oraz IIB u pacjentów z nowotworami litymi FGFR-zależnymi oraz weryfikacja biomarkerów do stratyfikacji pacjentów na materiale klinicznym ma być ukończona do 31.12.2027. Wyniki przedstawione w **publikacji 3 i 4** mają duże znaczenie dla właściwej stratyfikacji leczonych pacjentów. Analiza wybranych szlaków sygnalizacyjnych, umożliwiłaby identyfikację grupy pacjentów o większym prawdopodobieństwie rozwoju

oporności na leczenie anty-FGFR, u których zastosowanie terapii skojarzonych byłoby potencjalnie skuteczniejsze.

Podsumowanie i wnioski

Na podstawie analiz molekularnych i funkcjonalnych w połączeniu z badaniami *in silico* zawartymi w **publikacji 1** można wnioskować, że zmiany w ekspresji/aktywności FGFR2 mogą być związane z wczesnymi procesami prowadzącymi do transformacji onkogennej w gruczole piersiowym. Wykazaliśmy, że zależność między FGFR2 a integryną $\beta 1$ odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu komunikacji między komórką a macierzą zewnątrzkomórkową. Zaburzenie tej współzależności w komórkach nabłonkowych gruczołu piersiowego może być kluczowym czynnikiem warunkującym inicjację onkogenezy.

Ponadto, wyniki zawarte w **publikacji 2** potwierdzają znaczenie aktywnej ścieżki sygnalizacyjnej FGFR2 również dla progresji luminalnego (ER+) raka piersi. Wykazaliśmy w naszych badaniach, że znaczenie aktywnego FGFR2 w luminalnym (ER+) raku piersi może być zależne od kontekstu, a wartość prognostyczna FGFR2 uzależniona jest od statusu menopauzalnego pacjentek. Udowodniliśmy, że oś sygnalizacyjna FGF7/FGFR2-JUNB, znosząc efekty progesteronu, reguluje aktywność transkrypcyjną ER, co przekłada się na indukcję wzrostu komórek raka piersi i zniesienie ich wrażliwości na tamoksyfen. Poprzez uzyskane wyniki możliwe jest wskazanie podgrupy pacjentek z luminalnym (ER+) rakiem piersi, które mogłyby odnieść korzyści z zastosowania terapii anty-ER skojarzonej z terapią celującą w aktywność FGFR.

W **publikacji 3** wykazaliśmy, że w przypadku linii komórkowych niedrobnokomórkowego raka płuca z amplifikacją *FGFR1*, zastosowanie nowego inhibitora pan-FGFR, CPL304110, może przyczynić się do znaczącej inhibicji wzrostu tych komórek. Pomimo początkowych różnic genomicznych i transkrypcyjnych w liniach komórkowych wykazujących wrażliwość na CPL304110, mechanizm powstawania oporności na inhibitor opiera się na aktywności kinazy p38. Zatem działanie terapeutyczne ukierunkowane na aktywność p38 i FGFR może potencjalnie zwiększyć skuteczność leczenia. Na podstawie rozszerzonej analizy wrażliwości na CPL304110 w **publikacji 4** wykazaliśmy, że nowy inhibitor pan-FGFR, wykazuje antyproliferacyjne działanie na szereg linii nowotworowych wywodzących się z raka płuca, żołądka i pęcherza moczowego, w których deregulacja sygnalizacji FGFR przyczynia się do progresji nowotworowej. Rozwój oporności na CPL304110 w tych liniach związany był z aktywacją alternatywnej osi sygnalizacyjnej MET-Pyk2, co przyczyniało się do wzmożonej proliferacji i zwiększonego potencjału migracyjnego

komórek. Wyniki te sugerują wspólny mechanizm rozwoju oporności na inhibicję FGFR w różnych nowotworach.

4.4. Opis pozostałego dorobku i osiągnięć naukowych

Pozostałą część dorobku stanowi 5 publikacji, korespondujących tematycznie z dziełem habilitacyjnym, opisujących wpływ mikrośrodowiska guza na regulację receptorów dla hormonów steroidowych w komórkach raka piersi oraz ich odpowiedź na terapię. 4 publikacje są pracami oryginalnymi, a 1 pracą przeglądową. Artykuły opublikowane zostały w latach 2016-2021, ich sumaryczny współczynnik **IF** wynosi **21,536**.

Wykaz prac

1. *Progesterone impairs Herceptin effect on breast cancer cells.*

Kitowska K[§], Kowalska A, Mieszkowska M, Piasecka D, Skladanowski AC, Romanska HM, Sadej R. *Oncol Lett.* 2018 Feb;15(2):1817-1822.

IF 1,871

[§] autor korespondencyjny

2. *Fibroblast growth factor signalling induces loss of progesterone receptor in breast cancer cells.*

Piasecka D, **Kitowska K**, Czaplinska D, Mieczkowski K, Mieszkowska M, Turczyk L, Skladanowski AC, Zaczek AJ, Biernat W, Kordek R, Romanska HM, Sadej R.

Oncotarget. 2016 Dec 27;7(52):86011-86025.

IF 5,168

3. *FGFR2-driven signaling counteracts tamoxifen effect on ERα-positive breast cancer cells.*

Turczyk L, **Kitowska K**, Mieszkowska M, Mieczkowski K, Czaplinska D, Piasecka D, Kordek R, Skladanowski AC, Potemski P, Romanska HM, Sadej R.

Neoplasia. 2017 Oct;19(10):791-804.

IF 4,994

4. *FGFs/FGFRs-dependent signalling in regulation of steroid hormone receptors - implications for therapy of luminal breast cancer.*

Piasecka D, Braun M, **Kitowska K**, Mieczkowski K, Kordek R, Sadej R, Romanska H.

J Exp Clin Cancer Res. 2019 May 29;38(1):230.

IF 7,068

5. *Simplified theta-defensin [Ser3,7,12,16] RTD-2 analog is involved in proteasomal degradation pathway in breast cancer.*

Pianka J, Gruba N, **Kitowska K**, Mieczkowski K, Wysocka M, Sadej R, Lesner A.

Anticancer Res. 2021 Nov;41(11):5415-5423.

IF 2,435

Opis prac

W ramach rozpoczętego w 2014 roku zatrudnienia na stanowisku „postdoc” w Zakładzie Enzymologii i Onkologii Molekularnej MWB UG-GUMed w projekcie MOBI4Health - The FP7 project CENTRE OF MOLECULAR BIOTECHNOLOGY FOR HEALTHY LIFE rozpoczęłam badania nad wpływem mikrośrodowiska guza na rozwój raka piersi i jego odpowiedź na terapie celowane. W wyniku tych badań powstała publikacja:

Progesterone impairs Herceptin effect on breast cancer cells. **Kitowska K[§]**, Kowalska A, Mieszkowska M, Piasecka D, Skladanowski AC, Romanska HM, Sadej R.”. *Oncol Lett.* 2018 Feb;15(2):1817-1822.

Wykazaliśmy w niej, że progesteron może znacząco wpływać na obniżenie antyproliferacyjnego działania herceptyny (rekombinowanego humanizowanego przeciwciała monoklonalnego łączącego się z receptorem ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2, HER2) w komórkach raka piersi z nadekspresją HER2. W obecności progesteronu dochodziło do zniesienia indukowanego przez herceptynę zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G0/G1. Obserwowaliśmy również podwyższenie poziomu kinazy cyklino-zależnej 2 (CDK2) i obniżenie poziomu białka p27- inhibitora kinaz cyklino-zależnych. Wyniki te wskazują, że obecność hormonów steroidowych w mikrośrodowisku może przyczynić się do zmniejszenia wrażliwości komórek raka piersi na terapie celowane z użyciem przeciwciał anti-HER2.

W 2016 roku zostałam zatrudniona w Zakładzie Enzymologii i Onkologii Molekularnej MWB UG-GUMed na etacie adiunkta badawczo-dydaktycznego i kontynuowałam badania nad wpływem mikrośrodowiska na progresję raka piersi. W badaniach prowadzonych na luminalnym (ER+) raku piersi wykazaliśmy, że ścieżka sygnalizacyjna FGF7/FGFR2 wpływa na wzrost ufosforylowania receptora PR, zwiększając jego aktywność i obieg w komórkach raka piersi. Poprzez regulację aktywności PR, FGF7/FGFR2 może indukować zmianę fenotypu komórek nowotworowych na bardziej agresywny i przyczyniać się do progresji choroby. Dodatkowo aktywacja FGFR2 prowadzi do wzrostu ufosforylowania, ubikwitynacji ER, a następnie jego degradacji, co w efekcie może przyczyniać się do powstawania oporności na terapie anti-ER. Wyniki te zostały zawarte w publikacjach:

Fibroblast growth factor signalling induces loss of progesterone receptor in breast cancer cells. Piasecka D, **Kitowska K**, Czaplińska D, Mieczkowski K, Mieszkowska M, Turczyk L, Skladanowski AC, Zaczek AJ, Biernat W, Kordek R, Romanska HM, Sadej R. *Oncotarget.* 2016 Dec 27;7(52):86011-86025.

FGFR2-driven signaling counteracts tamoxifen effect on ERα-Positive breast cancer cells. Turczyk L, **Kitowska K**, Mieszkowska M, Mieczkowski K, Czaplińska D, Piasecka D,

Kordek R, Skladanowski AC, Potemski P, Romanska HM, Sadej R. *Neoplasia*. 2017 Oct;19(10):791-804.

Wyniki zawarte w powyższych pracach pokazują, że proces ubikwitynacji ER i PR w odpowiedzi na sygnał z mikrośrodowiska guza, może mieć kluczowe znaczenie w biologii obu receptorów, rozwoju nowotworu oraz odpowiedzi na terapię anty-ER. Ligazy ubikwityny E3 są kluczowymi enzymami w procesie ubikwitynacji. Poprzez specyficzne rozpoznanie substratu i transfer ubikwityny, mogą one decydować o losach określonych białek kierując je np.: na drogę proteasomalnej degradacji jak w przypadku ER i PR. W 2019 roku otrzymałam finansowanie w ramach konkursu **Narodowego Centrum Nauki MINIATURA** na realizację działania naukowego zatytułowanego „*Wpływ ligaz ubikwityny E3 na progresję luminalnego raka gruczołu piersiowego*”. W związku z tym, że sygnalizacja FGFR2-zależna moduluje aktywność i degradację ER i PR, postawiliśmy hipotezę, iż FGFR2 może regulować funkcje ligaz ubikwityny E3, przyczyniając się w ten sposób do progresji luminalnego (ER+) raka piersi. W ramach kontynuacji badań nad wpływem FGFR-zależnej sygnalizacji na regulację funkcji receptorów dla hormonów steroidowych we współpracy z zespołem prof. Hanny Romańskiej z Katedry Patologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi opublikowaliśmy pracę przeglądową:

FGFs/FGFRs-dependent signalling in regulation of steroid hormone receptors - implications for therapy of luminal breast cancer. Piasecka D, Braun M, **Kitowska K**, Mieczkowski K, Kordek R, Sadej R, Romanska H. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019 May 29;38(1):230.

Jednocześnie we współpracy z zespołem profesora dr hab. Adama Lesnera z Pracowni Analityki i Nanodiagnostyki Biochemicznej, Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego prowadziłam badania dotyczące przeciwnowotworowego działania θ -defensyn. Defensyny są grupą endogennych peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Działają one niszcząco na wirusy, a ich aktywność wobec bakterii czy grzybów, objawia się poprzez wbudowywanie w błonę komórkową i tworzenie w niej porów, co prowadzi do śmierci komórki. Defensyny stanowią element układu odporności zarówno wrodzonej jak i nabytej. Mogą być syntetyzowane przez neutrofile, makrofagi, komórki tuczne, trombocyty, limfocyty T CD8⁺ i komórki NK, a także komórki nabłonkowe przewodu pokarmowego, układu moczowo-płciowego czy keratynocyty. Co istotne, te kationowe peptydy mogą wykazywać cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych. W liniach komórkowych luminalnego (ER+) oraz trójjemnego raka piersi wykazaliśmy antyproliferacyjne działanie biologicznie aktywnych [Ser^{3,7,12,16}]-RTD-2 analogów θ -defensyn. Dodatkowo obserwowaliśmy, że związki te wchodziły w interakcję z białkami zaangażowanymi w mechanizmy proteasomalnej degradacji białek. Może to

sugerować, że mechanizm antyproliferacyjnego działania θ -defensyn opiera się na regulacji systemu ubikwityna-proteasom. Wyniki tych badań zostały opublikowane w poniższej pracy:

Simplified theta-defensin [Ser3,7,12,16] RTD-2 analog is involved in proteasomal degradation pathway in breast cancer". Pianka J, Gruba N, **Kitowska K**, Mieczkowski K, Wysocka M, Sądej R, Lesner A. *Anticancer Res.* 2021 Nov;41(11):5415-5423.

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

5.1. Staże zagraniczne

03.2003-08.2003 staż w ramach programu Socrates-Erasmus, Laboratorio di Biologia Molecolare e Cellulare – Dip. Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Perugia, Włochy. Realizacja badania w ramach projektu zatytułowanego: „The study of the novel gene 9/2 involved in liver regeneration” pod kierownictwem **prof. Giuseppe Servillo**.

04.2004-05.2007 kurs doktorski w ramach programu: “PhD Programme of the Faculties of Veterinary Medicine and Medicine – Molecular Biology and Medicine of the Lung (MBML)”, Justus Liebig University of Giessen, (Fachbereich Medizin), Niemcy. Projekt doktorski pt.: “Arginine metabolism in experimental and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)” realizowany pod kierownictwem **prof. dr Olivera Eickelberga**.

06.2007–12.2007 staż podoktorski, pracownik naukowy/postdoc Justus Liebig University of Giessen, Niemcy.

5.2. Wykaz i opis publikacji powstałych w wyniku pracy w więcej niż jednej uczelni i instytucji naukowej

Poniższe prace powstały w ramach odbytych staży zagranicznych oraz zatrudnienia poza Gdańskim Uniwersytetem Medycznym. Wszystkie publikacje są pracami oryginalnymi i zostały opublikowane w latach 2006-2011, ich sumaryczny współczynnik **IF** wynosi **17,296**.

Wykaz prac

1. *Quantitative assessment of arginine methylation in free versus protein-incorporated amino acids in vitro and in vivo using protein hydrolysis and high-performance liquid chromatography.*

Bulau P, Zakrzewicz D, **Kitowska K**, Wardega B, Kreuder J, Eickelberg O.
Biotechniques. 2006 Mar;40(3):305-10.
IF 2,462

2. *Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: role of protein arginine methyltransferases.*

Yildirim AO, Bulau P, Zakrzewicz D, **Kitowska KE**, Weissmann N, Grimminger F, Morty RE, Eickelberg O.
Am J Respir Cell Mol Biol. 2006 Oct;35(4):436-43.
IF 4,593

3. *Analysis of methylarginine metabolism in the cardiovascular system identifies the lung as a major source of ADMA.*

Bulau P, Zakrzewicz D, **Kitowska K**, Leiper J, Gunther A, Grimminger F, Eickelberg O.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Jan;292(1):L18-24.
IF 4,214

4. *Functional role and species-specific contribution of arginases in pulmonary fibrosis.*

Kitowska K, Zakrzewicz D, Königshoff M, Chrobak I, Grimminger F, Seeger W, Bulau P, Eickelberg O.
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2008 Jan;294(1):L34-45.
IF 3,924

5. *Comparison of whole genome amplification and nested-PCR methods for preimplantation genetic diagnosis for BRCA1 gene mutation on unfertilized oocytes-a pilot study.*

Michalska D, Jaguszewska K, Liss J, **Kitowska K**, Mirecka A, Łukaszuk K.
Hered Cancer Clin Pract. 2013 Aug 13;11(1):10.
IF 2,103

6. *Preimplantation genetic diagnosis of hearing loss with 35delG mutation in GJB2 gene - preliminary report.*

Liss J, Mirecka A, **Kitowska K**, Łukaszuk K.
Otolaryngol Pol. 2011 Nov-Dec;65(6):443-6.

Opis prac

- Działalność naukową rozpoczęłam podczas mojego projektu magisterskiego realizowanego w Katedrze Biotechnologii Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (MWB UG-GUMed) pod opieką **prof. dr hab. Anny J. Podhajskiej**. Projekt zatytułowany był „Wpływ czynników fizyko-chemicznych na kumulację aminokwasowych pochodnych protoporfiryny w ludzkich komórkach nowotworowych linii HeLa”. Po zakończeniu badań związanych z pracą magisterską, przed jej obroną odbyłam półroczny staż w ramach programu Socrates-Erasmus w **Laboratorio di Biologia Molecolare e Cellulare – Dip. Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Perugia (Włochy)**. Pod kierownictwem **prof. Giuseppe Servillo** realizowałam badania w ramach projektu zatytułowanego: „The study of the novel gene 9/2 involved in liver regeneration”. Po powrocie z Włoch, 30 września 2003 obroniłam pracę magisterską i rozpoczęłam staż w ramach badań realizowanych przez **Klinikę Chorób Zakaźnych GUMed i MWB UG-GUMed** pod kierownictwem **prof. dr hab. Krzysztofa P. Bielawskiego**. Badania te polegały na analizie mutacji w genie *HFE* (*ang. homeostatic iron regulator*), które są odpowiedzialne za rozwój dziedzicznej hemochromatozy. Wyniki badań zostały zaprezentowane na konferencji IV CONGRESS of Polish Society of Hepatology, Ożarów, Polska, 14-15.05.2004.

- W kwietniu 2004 roku rozpoczęłam stacjonarne Studia Doktoranckie w ramach “PhD Programme of the Faculties of Veterinary Medicine and Medicine – Molecular Biology and Medicine of the Lung (MBML)”, **Justus Liebig University of Giessen, (Fachbereich Medizin), Niemcy**. Moja rozprawa doktorska zatytułowana była “*Arginine metabolism in experimental and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)*”, a badania w niej zawarte prowadzone były pod kierownictwem **prof. dr Olivera Eickelberga**. Ich przedmiotem była ocena czy zmiany w metabolizmie argininy mają wpływ na powstanie i rozwój idiopatycznego zwłóknienia płuc. Badania prowadziłam zarówno na mysim modelu zwłóknienia płuc indukowanego bleomycyną jak i na materiale ludzkim, pochodzącym od pacjentów z IPF. W badaniach *in vivo* wykazałam, że transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ (*ang. transforming growth factor, TGF- $\beta 1$*) indukował wzrost ekspresji enzymów odpowiedzialnych z metabolizm argininy – arginazy 1 (ARG1) i arginazy 2 (ARG2). Oba enzymy biorą udział w przemianie argininy m.in. do proliny stanowiącej substrat do syntezy kolagenu, którego zwiększoną produkcję i nagromadzenie obserwuje się w IPF. Podwyższona ekspresja ARG1 i ARG2 korelowała ze spadkiem poziomu wolnej argininy w płucach. Analiza immunohistochemiczna tkanek mysich wykazała, że oba enzymy lokalizowały się głównie w zmianach zwłóknieniowych. Co istotne inhibicja aktywności ARG1 i ARG2 wpłynęła na zahamowanie syntezy kolagenu, indukowanej przez TGF- $\beta 1$ w mysich i ludzkich fibroblastach. W ludzkich tkankach płuc uzyskanych od pacjentów z IPF nie zaobserwowałam jednak zmian w poziomie

ekspresji ARG1 i ARG2, co tłumaczyć można faktem, iż model myszy umożliwia badanie zwłóknienia jedynie w początkowym stadium choroby, w którym prawdopodobnie dużą rolę odgrywają procesy zapalne. Stadium to w zasadzie nie jest wykrywalne u ludzi, gdyż chorobę tę zwykle diagnozuje się na późnym etapie zaawansowania, dlatego nie można wykluczyć, że enzymy odpowiedzialne za metabolizm argininy są zaangażowane w proces inicjacji choroby. Pracę doktorską obroniłam w grudniu 2007. Po jej złożeniu rozpoczęłam półroczny staż podoktorski w **Justus Liebig University of Giessen, (Fachbereich Medizin), Niemcy**. Kontynuowałam badania nad mechanizmami zaangażowanymi w procesy inicjacji i rozwoju idiopatycznego zwłóknienia płuc oraz nadciśnienia płucnego. Byłam również zaangażowana w realizację badań dotyczących znaczenia metylacji argininy w procesach przebudowy naczyń płucnych i śródmiąższu płuc w chorobach takich jak przewlekła obturacyjna choroba płuc (*ang. chronic obstructive pulmonary disease, COPD*), nadciśnienie płucne, astma i ogólnoustrojowe choroby układu krążenia. Modyfikacja potranslacyjna jaką jest metylacja argininy w białkach komórek eukariotycznych przeprowadzana jest przez metylotransferazy białkowej argininy (*ang. protein arginine methyltransferases, PRMTs*), a jej biologiczny wpływ na rozwój wymienionych powyżej chorób nie był do końca wyjaśniony. Wiadome jest, że metylacja argininy w białkach docelowych odgrywa rolę w regulacji transportu i wiązania RNA, kontroli transkrypcji, naprawie DNA, lokalizacji komórkowej białek, transdukcji sygnału i obiegu receptorów błonowych. Zwiększona metylacja białek przez PRMT może również znacząco przyczynić się do poziomu wolnych metyloarginin [monometyloarginina (NMMA), asymetryczna dimetyloarginina (ADMA), symetryczna dimetyloarginina (SDMA)], powstających w wyniku degradacji białek. Co istotne ADMA jest inhibitorem kompetycyjnym wszystkich izoform syntazy tlenku azotu (NOS), przez co przyczyniać się może do modulacji biologicznego działania NO, zwłaszcza w układzie sercowo-naczyniowym. Podwyższony poziom ADMA w osoczu może stanowić marker dysfunkcji śródbłonna i chorób sercowo-naczyniowych. Nasze badania umożliwiły wprowadzenie nowej metody analizy ilościowej wolnych oraz zawartych w białkach metyloarginin obecnych w lizatach komórkowych oraz tkankowych. Wykazaliśmy również, że ekspresja enzymów PRMT (odpowiedzialnych za asymetryczną metylację arginin) skorelowana jest ze zwiększoną metylacją białek w płucach. Dodatkowo hipoksja okazała się czynnikiem istotnie wpływającym na ekspresję PRMT i stężenie ADMA w płucach, a zmiany strukturalne i funkcjonalne spowodowane niedotlenieniem mogą być powiązane z metabolizmem ADMA. Rezultatem badań prowadzonych w ramach mojego doktoratu oraz projektów realizowanych podczas podoktorskiego stażu były poniższe publikacje:

Quantitative assessment of arginine methylation in free versus protein-incorporated amino acids in vitro and in vivo using protein hydrolysis and high-performance liquid chromatography. Bulau P, Zakrzewicz D, **Kitowska K**, Wardega B, Kreuder J, Eickelberg O. *Biotechniques*. 2006 Mar;40(3):305-10.

IF 2,462

Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: role of protein arginine methyltransferases. Yildirim AO, Bulau P, Zakrzewicz D, **Kitowska KE**, Weissmann N, Grimminger F, Morty RE, Eickelberg O.

Am J Respir Cell Mol Biol. 2006 Oct;35(4):436-43.

IF 4,593

Analysis of methylarginine metabolism in the cardiovascular system identifies the lung as a major source of ADMA. Bulau P, Zakrzewicz D, **Kitowska K**, Leiper J, Gunther A, Grimminger F, Eickelberg O.

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Jan;292(1):L18-24.

IF 4,214

Functional role and species-specific contribution of arginases in pulmonary fibrosis. **Kitowska K**, Zakrzewicz D, Königshoff M, Chrobak I, Grimminger F, Seeger W, Bulau P, Eickelberg O.

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2008 Jan;294(1):L34-45.

IF 3,924

- Po zakończeniu stażu podoktorskiego rozpoczęłam pracę w laboratorium biologii molekularnej w Klinice Leczenia Niepłodności INVICTA sp z o.o. w Gdańsku, a od 2008 roku objęłam stanowisko embriologa w laboratorium *in vitro* w tej samej klinice. Moim zadaniem było wprowadzanie nowych metod do diagnostyki preimplantacyjnej, której celem było diagnozowanie chorób rzadkich. Jestem autorem i twórcą metody diagnozowania preimplantacyjnego w kierunku Zespołu Omenna - choroby wywołanej mutacjami w obrębie genów *RAG1* lub *RAG2*. W rezultacie badań prowadzonych z moim udziałem w ramach projektów naukowych w laboratorium *in vitro* w Klinice Leczenia Niepłodności INVICTA powstały poniższe publikacje:

Comparison of whole genome amplification and nested-PCR methods for preimplantation genetic diagnosis for BRCA1 gene mutation on unfertilized oocytes-a pilot study. Michalska D, Jaguszewska K, Liss J, **Kitowska K**, Mirecka A, Łukaszuk K.

Hered Cancer Clin Pract. 2013 Aug 13;11(1):10.

IF = 2,103

Preimplantation genetic diagnosis of hearing loss with 35delG mutation in GJB2 gene - preliminary report. Liss J, Mirecka A, **Kitowska K**, Łukaszuk K.

Otolaryngol Pol. 2011 Nov-Dec;65(6):443-6.

- Aktualnie oprócz zatrudnienia jako adiunkt badawczo-dydaktyczny w Zakładzie Enzymologii i Onkologii Molekularnej GUMed zaangażowana jestem również w badania

prowadzone we współpracy z zespołem **prof. dr hab. Janusza Raka** z Katedry Chemii Fizycznej Uniwersytetu Gdańskiego i zespołem **dr hab. Jacka Piosika, prof. UG** z Pracowni Biofizyki Instytutu Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego. Celem tej współpracy jest ocena przeciwnowotworowego potencjału nośników polietylenowych zawierających dokсорubicynę i oktapeptyd będący substratem dla metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej. Tego typu nośniki sprzężone z chemioterapeutyką potencjalnie mogą wykazywać specyficzność wobec komórek nowotworowych ze zwiększoną ekspresją metaloproteinaz, co daje takim konstruktom znaczną przewagę nad tradycyjną nieselektywną chemioterapią. Współpraca zaowocowała publikacją będącą aktualnie w recenzji:

PEG-pep-DOX conjugate sensitive to matrix metalloproteinases for doxorubicin delivery.
Butowska K, Kozak W, Kogut M, **Kitowska K**, Pietralik-Molińska Z, Moliński A, Kozak M, Czub J, Sądej R, Rak J, Piosik J.

- Podczas badań nad rozwojem inhibitora pan-FGFR, CPL304110, rozpoczęłam współpracę z **prof. dr hab. Katarzyną Lisowską** i **dr Alexandrem Cortezem** z Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów (Narodowy Instytut Onkologii, Gliwice). Wyniki prac zostały zawarte we wcześniej opisanych publikacjach Kitowska et al., 2021 i Zarczyńska et al., 2021, a współpraca kontynuowana jest w ramach projektu, w którym badamy mechanizm oporności komórek trójjemnego raka piersi na terapie celowane (anty-CDK4/6, anty-FGFR).
- Jestem również zaangażowana we współpracę z **prof. dr hab. Sylwią Rodziewicz-Motowidło** z Katedry Chemii Biomedycznej Wydziału Chemicznego Uniwersytetu Gdańskiego, w ramach której realizujemy badania aktywności przeciwnowotworowej nanoleków o strukturze fibrylli kolagenowych związanych z trastuzumabem i dokсорubicyną, wobec komórek HER2+ raka piersi.
- W związku z tym, że projekty, w realizację których jestem zaangażowana, oprócz badań *in vitro* wymagają doświadczeń na modelach zwierzęcych oraz w materiale klinicznym, jestem w stałej współpracy z Trójmiejską Akademicką Zwierzętarnią Doświadczalną GUMed pod kierownictwem **lek. wet. Grażyna Peszyńska-Sularz**, z **dr hab. Hanną Romańską-Knight, prof. UMed**, **prof. dr hab. Radzisławem Kordkiem** i **dr Marcinem Braunem** z Zakładu Patologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz z **dr Martą Popędą** z Zakładu Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

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

6.1. Przedmioty nauczone w ramach pensum dydaktycznego

- *Biochemia* – ćwiczenia (II rok I stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Chemia związków naturalnych - aspekty toksyczności* - wykłady (II rok I stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Sygnalizacja komórkowa - aspekty medyczne* - ćwiczenia (I rok II stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Pracownia indywidualna (rotacyjna)* – ćwiczenia (II rok I stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Biotechnologia w medycynie - wybrane zagadnienia toksykologii substancji naturalnych i etnofarmakologii* - wykłady (III rok I stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Biomolekuły, synteza i właściwości* - ćwiczenia (I rok I stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Biomolekuły - funkcje biologiczne* - ćwiczenia (I rok I stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).
- *Seminarium - publikacje doświadczalne w biologii molekularnej i biotechnologii* – seminaria (I rok II stopień Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed).

Brałam udział w tworzeniu programu zajęć obowiązkowych i fakultatywnych, jestem autorem programu i skryptu do przedmiotu *Sygnalizacja komórkowa - aspekty medyczne* – ćwiczenia. Jestem również operatorem w extranecie strony dydaktycznej Zakładu Enzymologii i Onkologii Molekularnej, nadzoruję przebieg zajęć, przygotowuję i przeprowadzam egzaminy końcowe.

6.2. Opieka nad dyplomantami oraz kształcenie kadr

Sprawowałam opiekę naukową nad studentami Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed w ramach magisterskiej pracowni specjalizacyjnej jako:

- promotor prac magisterskich
 - Izabeli Żarczyńskiej: „Analiza wpływu selektywnego inhibitora FGFR na płaskonabłonkowego raka płuca” – 2018

- Barbary Galikowskiej: „FGF/FGFR–zależna regulacja formowania kompleksu ER/PR w komórkach raka piersi” – 2019
- Adriana Szczepaniaka: „Analiza mechanizmu oporności na selektywny inhibitor FGFR w płaskonabłonkowym raku płuca” – 2020
- Kamila Dąbrowskiego: „FGFR2-zależna regulacja czynników transkrypcyjnych z rodziny Jun w luminalnym raku piersi” – 2021
- Dominiki Sokołowskiej: „Znaczenie sygnalizacji receptora dla czynnika wzrostu fibroblastów w progresji podtypu LAR potrójnie ujemnego raka piersi” – 2021
- Magdaleny Chodorskiej: „Rola ścieżki FGFR2/AP-1 w progresji luminalnego raka piersi” – 2022
- Zuzanny Polakiewicz: „Zależność FGFR2/IRS-1 w progresji luminalnego raka piersi” – 2022
- Martyny Ochocińskiej: „Zależność pomiędzy ścieżką sygnalizacyjną FGF7/FGFR2 a białkiem IRS-1 w odpowiedzi na terapię anti-ER w luminalnym raku piersi” - 2023
- recenzent prac magisterskich:
 - Anny Borowskiej: „Ekspresja mutantów gain-of function czynnika B układu dopełniacza i ich zastosowanie w teście funkcjonalnym mierzącym aktywność konwertaz” – 2018
 - Katarzyny Jasielskiej: „Analiza molekularnego mechanizmu utraty receptora progesteronowego w luminalnym B raku piersi” – 2019
 - Kingi Jaskuły: „Zaprojektowanie testu wykrywającego Rituximab, umożliwiającego optymalizację leczenia Rituximabem pacjentów z chłoniakami nieziarniczymi” – 2020
 - Urszuli Dziejczak: „Rola metabolizmu adenozyliny w regulacji różnicowania i progresji w czerniaku i raku piersi” – 2021
 - Ady Kaweckiej: „Analiza funkcjonalna i wiązanie przeciwciał anti-C4d do powierzchni ludzkich komórek chłoniaka traktowanych rituximabem” – 2022
 - Mateusza Melcherta: „Immunoterapia niedrobnokomórkowych raków płuca z rearanżacją ROS1” – 2022
 - Aleksandry Leśniak: „Wpływ ścieżki sygnalizacyjnej FGF7/FGFR2 na regulację p62 w luminalnym raku piersi” – 2022
 - Felicji Gajdowskiej: „Small extracellular vesicles as a source of antigens for CD1a-mediated T cell responses”- 2023

Sprawowałam również opiekę naukową nad studentami Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed w ramach licencjackiej pracowni specjalizacyjnej jako:

- promotor prac licencjackich

- Natalii Żakowskiej: „Wpływ kinazy p38 na odpowiedź komórek płaskonabłonkowego raka płuc na selektywny inhibitor FGFR” – 2020
- Partycji Kawy: „Analiza roli ligazy ubikwityny E3 – SIAH2 w progresji luminalnego raka piersi” – 2021
- Agaty Żukowskiej: „Znaczenie sygnalizacji receptorów czynnika wzrostu fibroblastów dla odpowiedzi na leczenie inhibitorami kinaz cyklinozależnych trójjemnych raków piersi wykazujących ekspresję receptora androgenowego” – 2021
- Katarzyny Paniak: „Inhibicja FGFR jako potencjalna terapia celowana w potrójnie ujemnym raku piersi” – 2022
- Mateusza Modzelewskiego: „Wpływ FGFR2 na skład kompleksu AP1 – znaczenie w progresji luminalnego raka piersi” – 2022
- Aleksandry Żaglewskiej: „Znaczenie modyfikacji potranslacyjnych w FGFR2-zależnej stabilizacji białka JunB w komórkach luminalnych raków piersi” – 2023
- Szymona Teresika: „Analiza FGFR-zależnej regulacji ERβ w trójjemnym raku piersi” – 2023

Osiągnięcia popularyzujące naukę:

- udział w organizacji wydarzenia Noc Biologów na Uniwersytecie Gdańskim – promocja nauki wśród dzieci i młodzieży
- udział w organizacji wydarzenia Dzień Otwarty na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym – promocja nauki wśród dzieci i młodzieży
- udział w organizacji Konkursu Wiedzy Biotechnologicznej dla uczniów szkół ponadpodstawowych Województwa Pomorskiego

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej

7.1. Udział w projektach i grantach badawczych

Udział w krajowych projektach badawczych:

- Kierownik działania badawczego – Minatura, NCN (nr rej. 2019/03/X/NZ3/00524) „Wpływ ligaz ubikwityny E3 na progresję luminalnego raka gruczołu piersiowego”, 2019-2020.
- Wykonawca projektu – Opus, NCN (nr rej. 2017/27/B/NZ3/01474) „Rola FGFR2 w regulacji autofagii w raku piersi - znaczenie prognostyczne”, 2018-2023.
- Wykonawca projektu - STRATEGMED NCBiR, (nr rej CELONKO 352, 09-0837/18) „Opracowanie nowoczesnych biomarkerów oraz rozwój innowacyjnego inhibitora kinaz

FGFR stosowanego w terapii nowotworów”, projekt realizowany we współpracy z Celon Pharma S.A., Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej Curie-Państwowy Instytut Badawczy, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Wojskowy Instytut Medyczny, 2015-2022.

Udział w projektach międzynarodowych:

- Wykonawca projektu – European Union Seventh Framework Programme (grant agreement no 316094-MOBI4Health project) and Polish Ministry of Science and Higher Education, “Biotech solutions bringing health to living organisms and environment supported by mass spec-focused research platform” (FP7-REGPOT-2012-2013-1), projekt realizowany we współpracy z Uniwersytetem Gdańskim, 2013-2016.

7.2. Nagrody i wyróżnienia

- Zespołowa Nagroda Naukowa rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania receptora FGFR jako celu terapii i czynnika prognostycznego w raku piersi - Gdańsk, 15.12.2023
- Travel grant - EMBO Nuclear Receptors Workshop - Malta 11-16.09.2022
- Zespołowa Nagroda Naukowa rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad markerami prognostycznymi i potencjalnymi celami terapeutycznymi w raku piersi - Gdańsk, 17.12.2019
- Zespołowa Nagroda Naukowa rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad mechanizmami działania leków przeciwnowotworowych i powstawaniem oporności - Gdańsk, 18.12.2018
- Nagroda Fundacji Profesora Wacława Szybalskiego za najlepszy poster : „The role of FGFR2-regulated E3 ubiquitin ligases in progesterone receptor (PR) turnover in breast cancer cells” Kitowska K* & Mieczkowski K*, Górka M, Składanowski AC, Sądej R. * the authors equally contributed to this study - 3rd Congress of Polish Biochemistry, Cell biology, Biotechnology and Bioinformatics - BIO2018, Gdańsk, Polska, 18–21.09.2018
- Zespołowa Nagroda rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego za badania nad rolą sygnalizacji molekularnej mikrośrodowiska guza jako czynnikiem prognostycznym w nowotworze piersi - Gdańsk, 15.12.2017

7.3. Odbyte szkolenia

- Course in coordinating the whole process of clinical trial for CRAs and candidates for CRA Association for Good Clinical Practice in Poland, Kraków 8-12.09.2014
- Kurs dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń na zwierzętach oraz ich przeprowadzanie – Trójmiejska Akademijska Zwierzętarnia Doświadczalna GUMed, 2015
- Kurs doszkalający dla nauczycieli akademickich „Pedagogika dorosłych”, GUMed, 2021

- Kursy doszkalające organizowane w ramach projektu „Wielomodułowy program poprawy efektywności i jakości funkcjonowania Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego” współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020:
 - „Umiejętności posługiwania się programami statystycznymi”
 - „Praca ze studentem trudnym”
 - „Nowoczesne metody aktywizacji studentów”

8. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopiśmie międzynarodowych

Wykonywałam recenzje prac oryginalnych dla:

- Springer Nature - Journal of Physiology and Biochemistry (2022), IF 3,4
- Wiley – Chemistry and Biodiversity (2022), IF 2,9
- Wiley – Chemistry and Biodiversity (2021), IF 2,745
- Wiley – Chemistry and Biodiversity (2021), IF 2,745

oraz prac przeglądowych dla:

- MDPI – Cells (2021), IF = 7,666

9. Analiza bibliometryczna

- Prace stanowiące podstawę osiągnięcia habilitacyjnego - ciąg tematycznie powiązanych artykułów: **IF 22,504**
- Prace stanowiące pozostały dorobek naukowy:
 - korespondujący tematycznie z dziełem habilitacyjnym:
IF 21,536
 - powstały w wyniku odbytych staży zagranicznych i zatrudnieni poza GUMed:
IF 17,296

Całkowity dorobek IF 61,336

10. Bibliografia

1. Fearon, A.E., Gould, C.R., and Grose, R.P. (2013). FGFR signalling in women's cancers. *Int J Biochem Cell Biol* 45, 2832-2842. 10.1016/j.biocel.2013.09.017.
2. Zhang, X., Ibrahimi, O.A., Olsen, S.K., Umemori, H., Mohammadi, M., and Ornitz, D.M. (2006). Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *J Biol Chem* 281, 15694-15700. 10.1074/jbc.M601252200.
3. Ornitz, D.M., and Itoh, N. (2015). The Fibroblast Growth Factor signaling pathway. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 4, 215-266. 10.1002/wdev.176.
4. Jeffers, M., LaRochelle, W.J., and Lichenstein, H.S. (2002). Fibroblast growth factors in cancer: therapeutic possibilities. *Expert Opin Ther Targets* 6, 469-482. 10.1517/14728222.6.4.469.
5. Knights, V., and Cook, S.J. (2010). De-regulated FGF receptors as therapeutic targets in cancer. *Pharmacol Ther* 125, 105-117. 10.1016/j.pharmthera.2009.10.001.
6. Turczyk, L., Kitowska, K., Mieszkowska, M., Mieczkowski, K., Czaplinska, D., Piasecka, D., Kordek, R., Skladanowski, A.C., Potemski, P., Romanska, H.M., and Sadej, R. (2017). FGFR2-Driven Signaling Counteracts Tamoxifen Effect on ER α -Positive Breast Cancer Cells. *Neoplasia* 19, 791-804. 10.1016/j.neo.2017.07.006.

7. Piasecka, D., Kitowska, K., Czaplinska, D., Mieczkowski, K., Mieszowska, M., Turczyk, L., Skladanowski, A.C., Zaczek, A.J., Biernat, W., Kordek, R., et al. (2016). Fibroblast growth factor signalling induces loss of progesterone receptor in breast cancer cells. *Oncotarget* 7, 86011-86025. 10.18632/oncotarget.13322.
8. Huang, L., Jiang, S., and Shi, Y. (2020). Tyrosine kinase inhibitors for solid tumors in the past 20 years (2001-2020). *J Hematol Oncol* 13, 143. 10.1186/s13045-020-00977-0.
9. Markham, A. (2019). Erdafitinib: First Global Approval. *Drugs* 79, 1017-1021. 10.1007/s40265-019-01142-9.
10. Qu, L., Chen, X., Wei, H., Guo, M., Dai, S., Jiang, L., Li, J., Yue, S., Chen, Z., and Chen, Y. (2022). Structural insights into the potency and selectivity of covalent pan-FGFR inhibitors. *Commun Chem* 5, 5. 10.1038/s42004-021-00623-x.
11. Yu, J., Mahipal, A., and Kim, R. (2021). Targeted Therapy for Advanced or Metastatic Cholangiocarcinoma: Focus on the Clinical Potential of Infigratinib. *Onco Targets Ther* 14, 5145-5160. 10.2147/OTT.S272208.
12. Lu, P., Ewald, A.J., Martin, G.R., and Werb, Z. (2008). Genetic mosaic analysis reveals FGF receptor 2 function in terminal end buds during mammary gland branching morphogenesis. *Dev Biol* 321, 77-87. 10.1016/j.ydbio.2008.06.005.
13. Gawecka, J.E., Young-Robbins, S.S., Sulzmaier, F.J., Caliva, M.J., Heikkilä, M.M., Matter, M.L., and Ramos, J.W. (2012). RSK2 protein suppresses integrin activation and fibronectin matrix assembly and promotes cell migration. *J Biol Chem* 287, 43424-43437. 10.1074/jbc.M112.423046.
14. Czaplinska, D., Turczyk, L., Grudowska, A., Mieszowska, M., Lipinska, A.D., Skladanowski, A.C., Zaczek, A.J., Romanska, H.M., and Sadej, R. (2014). Phosphorylation of RSK2 at Tyr529 by FGFR2-p38 enhances human mammary epithelial cells migration. *Biochim Biophys Acta* 1843, 2461-2470. 10.1016/j.bbamcr.2014.06.022.
15. Adnane, J., Gaudray, P., Dionne, C.A., Crumley, G., Jaye, M., Schlessinger, J., Jeanteur, P., Birnbaum, D., and Theillet, C. (1991). BEK and FLG, two receptors to members of the FGF family, are amplified in subsets of human breast cancers. *Oncogene* 6, 659-663.
16. Easton, D.F., Pooley, K.A., Dunning, A.M., Pharoah, P.D., Thompson, D., Ballinger, D.G., Struwing, J.P., Morrison, J., Field, H., Luben, R., et al. (2007). Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 447, 1087-1093. 10.1038/nature05887.
17. Zingg, D., Bhin, J., Yemelyanenko, J., Kas, S.M., Rolfs, F., Lutz, C., Lee, J.K., Klarenbeek, S., Silverman, I.M., Annunziato, S., et al. (2022). Truncated FGFR2 is a clinically actionable oncogene in multiple cancers. *Nature* 608, 609-617. 10.1038/s41586-022-05066-5.
18. Braun, M., Piasecka, D., Tomasik, B., Mieczkowski, K., Stawiski, K., Zielinska, A., Kopczynski, J., Nejc, D., Kordek, R., Sadej, R., and Romanska, H.M. (2020). Hormonal Receptor Status Determines Prognostic Significance of FGFR2 in Invasive Breast Carcinoma. *Cancers (Basel)* 12. 10.3390/cancers12092713.
19. Mohammed, H., Russell, I.A., Stark, R., Rueda, O.M., Hickey, T.E., Tarulli, G.A., Serandour, A.A., Birrell, S.N., Bruna, A., Saadi, A., et al. (2015). Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. *Nature* 523, 313-317. 10.1038/nature14583.