

Autoreferat

Załącznik nr 3

Dr Ewa Strauss

INSTYTUT GENETYKI CZŁOWIEKA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Poznań 2018

1. Dane Wnioskodawcy

Ewa Strauss

Instytut Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

2. Posiadane dyplomy /stopnie naukowe/~~artystyczne~~ z podziałem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Rok	Dyplom/ Stopień naukowy
2014	Menadżer Projektu Badawczo-Rozwojowego Wyższa Szkoła Bankowa w Poznaniu Studia podyplomowe
2010	Doktor nauk medycznych Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk tytuł rozprawy: „Polimorfizmy genów <i>MTHFR</i> i <i>PON1</i> a występowanie miażdżycy tętnic wieńcowych i aortalno-biodrowej oraz tętniaków aorty brzusznej” Promotor pracy: prof. dr hab. Andrzej Leon Pawlak
2003	Certyfikat autoryzowanego diagnosty laboratoryjnego
1999	Magister Biotechnologii Uniwersytet im Adama Mickiewicza w Poznaniu Kierunek Biotechnologia

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych /~~artystycznych~~

Rok	Miejsce zatrudnienia i stanowisko
2014 - nadal	Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu Pracownia Badań Podstawowych i Medycyny Translacyjnej w Chorobach Naczyń Kierownik
2011 - nadal	Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk Adiunkt
1999 - 2010	Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk Biolog

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

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Heterogenność genetycznych uwarunkowań chorób układu krążenia

b) autor/autorzy, tytuł/tytuł publikacji, rok wydania nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy

Osiągnięcie naukowe, które przedkładałam ubiegając się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych składa się z **pięciu oryginalnych artykułów** opublikowanych w recenzowanych czasopismach w latach 2012-2018. Sumaryczna wartość ich współczynnika wpływu Impact Factor (IF) wg Journal Citation Reports wynosi **15,832** (**150** punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, MNiSW). Liczba cytowań wynosi: **16**

1: Strauss E, Waliszewski K, Oszkinis G, Staniszewski R. [Gene-environment interaction for the HIF1-A 1772C>T polymorphisms and cigarette smoking increase susceptibility to abdominal aortic aneurysm]. *Przegl Lek.* 2012;69(10):744-749.
Punktacja MNiSW: 5

Mój wkład w powstanie tej pracy obejmował: zdefiniowanie hipotezy badawczej, stworzenie architektury metodologicznej, prowadzenie baz danych, wykonanie badań genetycznych i analizy statystycznej, analizę i interpretację wyników, uzyskanie środków finansowych na badania, przygotowanie manuskryptu oraz koordynowanie procesu związanego z procedurą wydawniczą. Mój udział procentowy szacuję na 80%

2: Strauss E, Waliszewski K, Oszkinis G, Staniszewski R. Polymorphisms of genes involved in the hypoxia signaling pathway and the development of abdominal aortic aneurysms or large-artery atherosclerosis. *J Vasc Surg.* 2015;61(5):1105-1113.e3. doi: 10.1016/j.jvs.2014.02.007
IF: 3.454
Punktacja MNiSW: 35

Mój wkład w powstanie tej pracy obejmował: zdefiniowanie hipotezy badawczej, stworzenie architektury metodologicznej, prowadzenie baz danych, wykonanie badań genetycznych i analizy statystycznej, analizę i interpretację wyników, uzyskanie środków finansowych na badania, przygotowanie manuskryptu oraz koordynowanie procesu związanego z procedurą wydawniczą. Mój udział procentowy szacuję na 80%

3: Strauss E, Oszkinis G, Staniszewski R. SEPP1 gene variants and abdominal aortic aneurysm: gene association in relation to metabolic risk factors and peripheral arterial disease coexistence. Sci Rep. 2014; 4: 7061. doi: 10.1038/srep07061.

IF: 5.578

Punktacja MNiSW: 40

*Mój wkład w powstanie tej pracy obejmował: zdefiniowanie hipotezy badawczej, stworzenie architektury metodologicznej, prowadzenie baz danych, wykonanie badań genetycznych i analizy statystycznej, analizę i interpretację wyników, uzyskanie środków finansowych na badania, przygotowanie manuskryptu oraz koordynowanie procesu związanego z procedurą wydawniczą. Mój udział procentowy szacuję na **80%***

4. Strauss E, Tomczak J, Staniszewski R, Oszkinis G. Associations and interactions between variants in selenoprotein genes, selenoprotein levels and the development of abdominal aortic aneurysm, peripheral arterial disease, and heart failure. PLoS ONE 2018; 13(9): e0203350. doi:10.1371/journal.pone.0203350. eCollection 2018

IF: 2.766

Punktacja MNiSW: 35

*Mój wkład w powstanie tej pracy obejmował: zdefiniowanie hipotezy badawczej, stworzenie architektury metodologicznej, prowadzenie baz danych, wykonanie badań genetycznych, oznaczeń stężeń białek i analizy statystycznej, analizę i interpretację wyników, uzyskanie środków finansowych na badania, przygotowanie manuskryptu oraz koordynowanie procesu związanego z procedurą wydawniczą. Mój udział procentowy szacuję na **75%***

5. Strauss E, Supiński W, Radziemski A, Oszkinis G, Pawlak AL, Głuszek J. Is hyperhomocysteinemia a causal factor for heart failure? The impact of the functional variants of MTHFR and PON1 on ischemic and non-ischemic etiology. Int J Cardiol. 2017;228:37-44. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.213.

IF: 4.034

Punktacja MNiSW: 35

*Mój wkład w powstanie tej pracy obejmował: zdefiniowanie hipotezy badawczej, stworzenie architektury metodologicznej, prowadzenie baz danych, wykonanie badań genetycznych i analizy statystycznej, analizę i interpretację wyników, uzyskanie środków finansowych na badania, przygotowanie manuskryptu oraz koordynowanie procesu związanego z procedurą wydawniczą. Mój udział procentowy szacuję na **70%***

Podsumowanie punktacji

IF = 15.832

MNiSW = 150

c) opis celu naukowego/artystycznego ww pracy/prac i osiągniętych wyników oraz omówienie ich ewentualnego wykorzystania

Poznanie czynników genetycznych odpowiedzialnych za powstawanie chorób układu krążenia (ang. *cardiovascular disease*, CVD) stanowi jeden z głównych kierunków badawczych w medycynie personalizowanej¹. CVD należą do chorób cywilizacyjnych, których częstość występowania stale rośnie. Przyczyną tego zjawiska jest poprawa opieki medycznej z jednej strony, a starzenie się społeczeństw wysoko rozwiniętych z drugiej. Przykładowo, wprowadzenie inwazyjnych metod leczenia zawałów serca (ang. *myocardial infarction*, MI) doprowadziło do znaczącego wzrostu w populacji liczby osób ze skurczową niewydolnością tego narządu (ang. *heart failure*, HF)². Pomimo postępu w zakresie identyfikacji czynników ryzyka CVD, poznane dotąd parametry okazują się niewystarczające dla skutecznego prognozowania ich wystąpienia i przebiegu. Przykładowo, wyniki badań prospektywnych wskazują, że aż dwie trzecie przypadków MI może występować w grupach o niskim lub średnim ryzyku, oszacowanym na podstawie standardowych 10-letnich skal predykcyjnych³.

CVD wykazują uwarunkowania rodzinne, co wskazuje na udział tła genetycznego w ich rozwoju. W kontekście architektury genetycznej, przypadki sporadyczne, a więc najbardziej rozpowszechnione, warunkowane są wieloczynnikowo poprzez złożone interakcje genetyczne i genetyczno–środowiskowe, w których udział mają warianty częste, o frekwencji >5% w populacji. Poszukiwanie czynników genetycznych odpowiedzialnych za tego typu podatność wymaga zgromadzenia odpowiednio licznych, jednorodnych etnicznie i dobrze scharakteryzowanych grup badanych. W Polsce możliwość doboru tego typu grup jest mocno ograniczona z uwagi na brak ogólnokrajowych rejestrów chorych i programów badań przesiewowych. Z tego względu nasza populacja, podobnie jak inne słowińskie, jest słabo reprezentowana w badaniach genetycznych o zasięgu ogólnoświatowym. Przekłada się to na brak replikacji wyników badań asocjacyjnych w populacjach Europy Środkowo-Wschodniej.

Aktualne wyniki badań z innych populacji zgodnie wskazują, że dodanie do oceny ryzyka przeprowadzonej na podstawie czynników konwencjonalnych, loci genowych zasocjowanych z występowaniem danej CVD istotnie poprawia predykcję, a wartości ryzyka, oszacowane na podstawie czynników genetycznych, korelują z fenotypami pośrednimi CVD. Obserwacje te dotyczą m.in. miażdżycy tętnic wieńcowych (ang. *coronary artery disease*, CAD)^{4, 5}, tętniaka aorty brzusznej (ang. *abdominal aortic aneurysm*, AAA)⁶, cukrzycy^{7, 8}, otyłości⁹, oporności na insulinę¹⁰, czy sztywności tętnic¹¹. Co więcej, wykazano, że wiedza o istniejącym obciążeniu genetycznym umożliwia odpowiednio wczesne wdrożenie prewencji pierwotnej¹². Choć dotychczas zidentyfikowano szereg wariantów genetycznych powiązanych z wystąpieniem

CVD, podobnie jak w innych chorobach o podłożu wieloczynnikowym, nie wyjaśniają one w pełni stopnia ich odziedziczalności. Dlatego, równocześnie z badaniami nad wykryciem genetycznych czynników ryzyka opracowuje się nowe parametry genetyczne i metody pozwalające na uwzględnienie łącznych oddziaływań jak największej liczby loci genowych^{13, 14} oraz interakcji genetyczno-środowiskowych⁷.

Analiza powiązań pomiędzy wariantami genetycznymi, uznanymi czynnikami ryzyka CVD i cechami fenotypu stanowi również dla mnie najważniejszą inspirację w prowadzonej działalności naukowej. Uwaga moja w największym stopniu skupiona jest na uwarunkowaniach AAA, a koncentracja na tym temacie zaowocowała moim udziałem w międzynarodowym projekcie badań asocjacji na skalę genomu (ang. *genome-wide association study*, GWAS) dla AAA¹⁵. Udział w tym projekcie potwierdza wysoką jakość prowadzonych przeze mnie badań w zakresie doboru i charakterystyki grup badanych, ich liczebności, oraz metodyki bankowania DNA, umożliwiającej bezzwłoczne włączenie się do dużych projektów badawczych. Uzyskane w ramach wspólnych badań wyniki GWAS stanowią jedyne tego typu, dotyczące uwarunkowań AAA w populacji słowiańskiej. Zauważyć należy, że wykazały one, iż oddziaływanie aż czterech spośród loci zasocjowanych z AAA (zawierających geny *CELSR2/SORT1*, *LDLR*, *ZNF335/MMP9*, *ERG*) jest w populacji polskiej odmienne (silniejsze lub ma kierunek przeciwny), w odniesieniu do ich wpływu w innych populacjach¹⁵. Wskazuje to na prawdopodobną częściową odrębność genetycznych uwarunkowań CVD w populacji polskiej i podkreśla konieczność prowadzenia niezależnych badań genetycznych w naszej populacji.

Stany patologiczne, jak choroby serca i naczyń cechuje występowanie niedotlenienia, czyli stanu niedoboru tlenu we krwi lub tkankach, wynikającego z dysproporcji między zapotrzebowaniem a zaopatrzeniem w tlen¹⁶. Dostosowanie do obniżonej dostępności tlenu wymaga zmian w ekspresji genów, które mogą prowadzić do zmniejszenia zużycia tlenu, promować dostawę tlenu, np. poprzez indukcję angiogenezy przy udziale śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń (ang. *vascular endothelial growth factor*, VEGF), oraz zwalczać negatywne skutki niedotlenienia. Regulowana stężeniem tlenu podjednostka czynnika 1 indukowanego przez niedotlenienie (ang. *hypoxia inducible factor-1 alpha*, HIF1 α) należy do głównych czynników transkrypcyjnych, regulujących te procesy. Oprócz roli w walce z niedotlenieniem, czynniki te mogą zapewniać ochronę przed stresem oksydacyjnym tworzącym się podczas niedotlenienia, ponieważ wiele produktów ekspresji genów regulowanych przez HIF może mieć działanie antyoksydacyjne. Stres oksydacyjny to stan braku równowagi pomiędzy działaniem reaktywnych form tlenu a biologiczną zdolnością do szybkiej detoksykacji reaktywnych produktów pośrednich lub naprawy powstałych

uszkodzeń. Rozpoznanym czynnikiem indukującym stres oksydacyjny jest podwyższone stężenie homocysteiny (Hcy), które oddziałuje poprzez generację nadtlenku wodoru¹⁷. Hcy to niebiałkowy aminokwas, powstający w organizmie w wyniku demetylacji metioniny. Prawidłowe wartości mieszczą się w granicach 5–15 $\mu\text{mol/L}$, a stężenia we krwi przekraczające wymieniony zakres nazywa się hiperhomocysteinemią (ang. *hyperhomocysteinemia*; HHcy). HHcy stanowi też uznany czynnik ryzyka CVD. Wykazano, że Hcy inicjuje proces utleniania frakcji lipoprotein o małej gęstości (ang. *low-density lipoprotein*, LDL), co zwiększa ich działanie pro-miażdżycowe¹⁸. Z drugiej strony, frakcja lipoprotein o dużej gęstości (ang. *high-density lipoprotein*, HDL) wykazuje właściwości ochronne, przeciwdziałając utlenieniu LDL¹⁹. Aktywności te zachodzą przy udziale enzymu paraoksonazy 1 (ang. *paraoxonase 1*, PON1), który wykazuje zdolność rozkładu utlenionych form lipidów oraz nadtlenku wodoru. Wyłącznie HDL bogate w ten enzym uważane są za w pełni funkcjonalne w odniesieniu do przeciwdziałania miażdżycy. Enzym ten wykazuje także zdolność rozkładu toksycznej pochodnej Hcy – tiolaktonu Hcy (Hcy-TLC). Również selenoproteiny wykazują funkcję ochronną w przeciwdziałaniu skutkom stresu oksydacyjnego, zarówno w przestrzeni wewnątrzkomórkowej, jak i pozakomórkowej^{20, 21, 22}. Selenoproteiny to grupa 25 białek, które w swoim składzie zawierają selen (Se) w postaci aminokwasu selenocysteiny. Najważniejszym białkiem z wymienionej rodziny jest selenoproteina P (ang. *selenoprotein P*, SeP), która wykazuje właściwości przeciwutleniające, a także pełni istotną funkcję transportera Se. Za pośrednictwem tego białka zachodzi dystrybucja Se dla syntezy innych selenoprotein. Istotne właściwości przeciwutleniające wykazują w szczególności peroksydazy glutationowe 1-4 (ang. *glutathione peroxidases 1-4*, GPX1-4), które są zdolne do metabolizowania nadtlenku wodoru, jak i innych nadtlenków. W odniesieniu do CVD istotną rolę pełni enzym GPX4, który jest aktywny w usuwaniu oksydacyjnych modyfikacji lipidów, a jego niedobór wiąże się ze zwiększoną podatnością na miażdżycę²³. Obserwuje się, że warunki niedotlenienia stanowią stymulator zmian w biosyntezie selenoprotein, polegających na zmniejszeniu ekspresji SeP (w konsekwencji innych selenoprotein) i eksportu Se z hepatocytów na rzecz zwiększonej biosyntezy wewnątrzkomórkowej GPX4, enzymu niezbędnego dla ochrony przed stresem oksydacyjnym²⁴. Innym mechanizmem wykazującym asocjację z regulacją ekspresji selenoprotein jest aktywność układu tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny (ang. *thioredoxin-thioredoxin reductase system*, Trx-TrxR), odpowiedzialnego za kontrolę równowagi oksydoredukcyjnej w komórce, a przez to ochronę komórki przed stresem oksydacyjnym, oraz regulację apoptozy^{22, 25, 26}. Również istotnym białkiem ochronnym, działającym w przestrzeni wewnątrzkomórkowej, jest selenoproteina S (ang. *selenoprotein S*, SelS)^{22, 27}. Chroni ona komórki przed wystąpieniem stresu oksydacyjnego w retikulum endoplazmatycznym i w

efekcie śmiercią komórkową. Na koniec należy zwrócić uwagę na obecność powiązania metabolicznego pomiędzy szlakami związanymi z Se a cyklem metionina-homocysteina²⁰. Niedobór Se wpływa na dostępność S-adenozylometioniny, która jest dawcą metylu w reakcjach metylowania DNA. To z kolei prowadzi do akumulacji S-adenozylhomocysteiny, inhibitora syntezy DNA. Znaczenie stresu oksydacyjnego dla wystąpienia różnych CVD i konsekwencji z nimi związanych nie zostało dotychczas w pełni wyjaśnione.

W odniesieniu do uwarunkowań CVD, szczególne znaczenie badawczo-kliniczne wydają się mieć następujące zagadnienia:

1. wczesna identyfikacja grup wysokiego ryzyka w populacji oraz chorych obciążonych wysokim ryzykiem powikłań związanych z leczeniem operacyjnym,
2. identyfikacja czynników ryzyka specyficznych dla określonej jednostki klinicznej i określonego fenotypu choroby,
3. zindywidualizowana predykcja przebiegu choroby,
4. próby lepszego zrozumienia etiopatologii CVD, w kontekście wpływu genów odgrywających rolę w niedotlenieniu tkanek i związanych z barierą antyoksydacyjną organizmu oraz powiązanych z nimi biomarkerów.

Mając na uwadze powyższe zagadnienia, główną hipotezą badawczą postawioną w prezentowanym osiągnięciu naukowym jest heterogenność genetycznych uwarunkowań CVD różniących się typem zmian w tętnicach: związanych z niedokrwieniem (niedrożnością tętnic, ang. *ischemic*, iCVD) i nie związanych z niedokrwieniem (ang. *non-ischemic*, niCVD) w odniesieniu do oddziaływań genów i biomarkerów powiązanych ze stresem oksydacyjnym. Zakładano, że heterogenność ta będzie obserwowana również w obrębie pojedynczej jednostki klinicznej, wyróżniając sub-fenotypy choroby.

W odniesieniu do tej hipotezy, cel pracy został sformułowany, jako:

Wyjaśnienie i opisanie znaczenia wybranych polimorfizmów genów kodujących białka odgrywające rolę w warunkach stresu oksydacyjnego oraz o aktywnościach przeciwutleniających, a także powiązanych z nimi biomarkerów, dla występowania i przebiegu iCVD: miażdżycy tętnic obwodowych (ang. *peripheral arterial disease*, PAD) i wieńcowych (CAD), oraz niCVD: tętniaków aorty brzusznej (AAA) i kardiomiopatii rozstrzeniowej (ang. *dilated cardiomyopathy*, DCM). W badaniu uwzględniono również konsekwencje CVD takie, jak wystąpienie zawału serca (MI) i skurczowej niewydolności serca (HF).

Cel ten realizowany był poprzez podjęcie szczegółowej analizy trzech zagadnień:

1. Ocenę znaczenia polimorfizmów genów, których produkty białkowe związane są z odpowiedzią na niedotlenienie (*HIF1A* i *VEGFA*) dla występowania AAA i miażdżycy aortalno-biodrowej (ang. *aortoiliac occlusive disease*, AIOD).

2. Ocenę znaczenia polimorfizmów genów kodujących selenoproteiny (*SEPP1*, *SELENOS*, *GPX4*, *TXNRD1*, *TXNRD2*) i genu *SOD2*, oraz stężeń selenoproteiny P i tioredoksyny we krwi w rozwoju AAA i PAD oraz współistniejących chorób serca: CAD i skurczowej iHF.

3. Ocenę znaczenia polimorfizmów genów kodujących enzymy związane z metabolizmem Hcy i aktywnością przeciwutleniającą HDL (*MTHFR*, *PON1*), oraz stężeń Hcy i kwasu foliowego (ang. *folic acid*, FA) we krwi dla występowania i przebiegu skurczowej HF o etiologii niedokrwiennej (iHF) i nie związanej z niedokrwieniem (niHF).

Efekty realizacji powyższych zagadnień przedstawiłam **w serii pięciu oryginalnych publikacji badawczych**, które zgłaszam łącznie jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

W pierwszym etapie moje badania skupione były na ocenie znaczenia polimorfizmów genów kodujących białka biorące udział w odpowiedzi na niedotlenienie: genu *HIF1A* (kodującego HIF1 α) oraz genu *VEGFA* (kodującego VEGF-A) dla występowania AAA i AIOD. AAA jest miejscowym rozszerzeniem światła aorty poniżej tętnic nerkowych, o średnicy powyżej 3 cm, które powstaje w wyniku zmniejszenia wytrzymałości tkanek składających się na ścianę aorty. Choroba w większości przypadków ma przebieg bezobjawowy i wykrywana jest incydentalnie w trakcie badań ultrasonograficznych jamy brzusznej. Wiąże się ona z wysoką śmiertelnością, gdyż nawet przy zapewnionej natychmiastowej opiece medycznej jedynie 10-30% chorych udaje się przeżyć pęknięcie ściany aorty. W około 30-60% przypadków AAA współistnieje PAD. AIOD w klasyfikacji klinicznej stanowi jeden z typów PAD, w którym zmiany patologiczne zlokalizowane są głównie w aorcie i tętnicach biodrowych. Postęp choroby prowadzi do stopniowego zamykania światła zajętych tętnic i wystąpienia przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych, które typowo objawia się chromaniem przestankowym. Podobnie jak w przypadku AAA, przebieg PAD u większości chorych jest utajony, stanowiąc istotne zagrożenie dla zdrowia i życia. Przy braku leczenia, prowadzi ona do wystąpienia krytycznego niedokrwienia kończyn dolnych, a ostatecznie do ich amputacji, często wysokich. PAD stanowi istotny czynnik ryzyka nagłego zgonu sercowo-naczyniowego. Patogeneza AAA i AIOD jest wieloczynnikowa, przy wyższym udziale czynników genetycznych w przypadku AAA (współczynnik odziedziczalności wynosi 70%), i niższym w AIOD (odpowiednio 40%). Nasze badania wstępne (**Publikacja 1**) dotyczyły oceny znaczenia polimorfizmu *HIF1A* rs11549465 i zostały przeprowadzone na grupach 535 chorych z AAA i

525 osób kontrolnych. W badanej grupie 44% chorych z AAA było scharakteryzowanych względem współistnienia PAD. Wśród nich, u 161 nie stwierdzono niedrożności w tętnicach lub obecna była niedrożność obwodowa, a u 74 występowała niedrożność udowo-podkolanowa i/lub aortalno-biodrowa. Wyniki końcowe uzyskano na podstawie badań, które objęły serię 518 chorych z AAA, grupę kontrolną liczącą 541 osób oraz 354 chorych z AIOD (**Publikacja 2**). Opracowano dalszą charakterystykę chorych z AAA pod względem współistnienia PAD, powiększając ostatecznie tę grupę do 337 osób, wśród których 27.6% miało niedrożność w odcinku udowo-podkolanowym i/lub aortalno-biodrowym. W ocenie uwzględniono trzy polimorfizmy funkcjonalne: *HIF1A* rs11549465C>T (1772C>T), rs11549467A>G (1790G>A), oraz *VEGFA* rs2010963G>C (634G>C). Polimorfizmy *HIF1A* powodują zamianę aminokwasów (odpowiednio: P582S i A588T) w obrębie zależnej od stężeń tlenu domeny degradacyjnej, a izoformy białka kodowane przez allele rs11549465T lub rs11549467A wykazują zwiększoną zdolność transaktywacji w warunkach prawidłowych stężeń tlenu lub niedotlenienia. Wariant *VEGFA* rs2010963G>C powoduje zmniejszenie podstawowej aktywności promotora i obniżenie produkcji białka.

W analizie jednoczynnikowej wykazałam, że nosicielstwo allelu *VEGFA* rs2010963C wiąże się z 1.4-krotnym wzrostem ryzyka rozwoju AAA bez współistniejącego PAD (AAA nPAD), a współwystępowanie genotypu *HIF1A* rs11549465CC-rs11549467GG i *VEGFA* rs2010963CC zwiększa ryzyko AAA nPAD do 2.4-krotnego. Ten sam genotyp wiązał się z 1.9-krotnym wzrostem ryzyka AAA (bez względu na współistnienie PAD). Z drugiej strony zaobserwowałam, że rozwój AAA ze współistniejącym PAD (AAA PAD) jest specyficznie powiązany z obecnością przeciwnego allelu polimorfizmu *HIF1A* rs11549465, t.j. rzadszego allelu T (haplotypu rs11549465T- rs11549467G), który warunkował 2.0-krotny wzrost ryzyka AAA PAD (dla nosicieli). Efekt ten ulegał dalszemu wzmocnieniu w związku z obecnością genotypu *VEGF* rs2010963GG, bądź w przypadku palenia tytoniu, skutkując ostatecznie w odpowiednio: 2.9- i 3.1-krotnym wzroście ryzyka AAA PAD. Obserwowany wpływ alleli *VEGFA* i *HIF1A* na ryzyko AAA pozostał istotny również w analizie wieloczynnikowej po uwzględnieniu efektów uznanych klinicznych czynników ryzyka CVD. Nie wykazano natomiast związku badanych SNP z występowaniem AIOD.

Uzyskane wyniki wskazały, że polimorfizmy w genach *HIF1A* i *VEGF* mogą stanowić potencjalne markery genetyczne, które różnicują predyspozycje do rozwoju AAA PAD i AAA nPAD, potwierdzając jednocześnie heterogenność genetycznych uwarunkowań AAA. Z drugiej strony nie wykazano jednak, aby badane warianty wpływały na rozwój AIOD, co wskazuje na odrębną rolę genów związanych z niedotlenieniem/niedokrwieniem w rozwoju tętniaków i miażdżycy w aorcie brzusznej. Wykazany związek palenia tytoniu z ujawnianiem się

niekorzystnego fenotypu u nosicieli allelu *HIF1A* rs11549465T, sugerował wpływ tego allelu na wystąpienie wrażliwości na ekspozycję na dym tytoniowy. Obserwacja ta wskazywała na potencjalną rolę czynników epigenetycznych w rozwoju AAA PAD. Zarówno stres oksydacyjny, jak i dym tytoniowy są czynnikami zmieniającymi epigenetyczne modyfikacje chromosomów, takie jak acetylacja histonów i metylacja promotorów genów związanych z zapaleniem, co przyczynia się ostatecznie do nadekspresji tych genów i promocji rozwoju miażdżycy.

Wyniki wstępne, zawarto w pracy:

1. **Strauss E**, Waliszewski K, Oszkinis G, Staniszewski R. [Gene-environment interaction for the HIF1-A 1772C>T polymorphisms and cigarette smoking increase susceptibility to abdominal aortic aneurysm]. *Przegl Lek.* 2012;69(10):744-749.

Wyniki końcowe zawarto w pracy:

2. **Strauss E**, Waliszewski K, Oszkinis G, Staniszewski R. Polymorphisms of genes involved in the hypoxia signaling pathway and the development of abdominal aortic aneurysms or large-artery atherosclerosis. *J Vasc Surg.* 2015;61(5):1105-1113.e3. doi: 10.1016/j.jvs.2014.02.007

W dalszej kolejności moje badania koncentrowały się na znaczeniu genów kodujących selenoproteiny, białka o aktywności przeciwutleniającej, w warunkowaniu AAA i AIOD/PAD oraz współistniejących chorób serca. Rola selenoprotein w patogenezie chorób warunkowanych wieloczynnikowo została uprzednio wykazana w odniesieniu do występowania nowotworów. Przesłankami do podjęcia niniejszych badań własnych były wykazane wcześniej powiązania pomiędzy zwiększonym stresem oksydacyjnym w komórkach mięśniowych serca i tętnic a rozwojem CVD oraz ochronna rola Se w odniesieniu do uszkodzeń oksydacyjnych tkanek. Kolejne przesłanki stanowił wykazany związek pomiędzy niedoborem Se a występowaniem CVD, w tym AAA w populacji polskiej oraz znaczenie poziomu tioredoksyny (Trx), białka zaangażowanego w zależny od Se układ tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny, jako biomarkera wzrostu AAA, skorelowanego z jego wielkością, opisany w populacji hiszpańskiej i duńskiej. Sukcesywnie zwiększała się też liczba opublikowanych badań asocjacji genów kodujących selenoproteiny w CVD, przy czym badań takich nie prowadzono dotychczas w chorobach aorty.

Dla przeprowadzenia pierwszych analiz wytypowałam dwa funkcjonalne SNP genu kodującego SeP: *SEPP1* rs3877899G>A i rs7579G>A i oceniłam ich znaczenie dla wystąpienia AAA i AIOD, przy czym badane grupy stanowiło 334 chorych z AAA, 333 chorych z AIOD i 336 osób kontrolnych. Wymienione polimorfizmy *SEPP1* wpływają na biodostępność Se do syntezy wszystkich innych selenoprotein poprzez wpływ na dystrybucję Se w organizmie i efektywność jego suplementacji. W analizach uwzględniłam wpływ metabolicznych czynników

ryzyka CVD, jak i fenotyp AAA związany ze współistnieniem PAD. Przeprowadzone badania pozwoliły na wykazanie u chorych z AAA związku allelu *SEPP1 rs3877899A* (haplotypu *rs3877899A-rs7579G*), sprzyjającego produkcji izoformy SeP o niskiej zawartości Se, z obecnością PAD oraz z wyższymi wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego i ciśnienia tętna. Haplotyp *rs3877899G-rs7579G* wykazywał asocjację z występowaniem wyższych wartości indeksu masy ciała (ang. *body mass index*, BMI) u badanych chorych oraz wiązał się z 1.8-krotnym wzrostem ryzyka rozwoju AAA u osób z nadwagą i otyłością ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$). Jednocześnie wykazałam korelację pomiędzy wartościami BMI a wiekiem chorych z AAA (ujemną) oraz rozmiarem tętniaka (dodatnią), co łącznie z wynikami oceny ryzyka sugerowało znaczenie haplotypu *rs3877899G-rs7579G*, jako potencjalnego markera dla szybko rosnących AAA.

Podsumowując, wyniki przeprowadzonych badań wskazywały na polimorfizm *SEPP1 rs3877899G>A*, jako różnicujący uwarunkowania AAA nPAD i AAA PAD, potwierdzając tym samym heterogenność patogenezę AAA, która może skutkować różnymi mechanizmami inicjacji choroby u niespokrewnionych osób. Dodatkowo, na podstawie dostępnych źródeł, przeprowadziłam analizę częstości polimorfizmów *SEPP1 rs3877899* i *rs7579* w różnych grupach etnicznych, którą zawarłam w suplemencie do niniejszej pracy.

Prezentowane doniesienie stanowiło pierwszą obserwację wskazującą na rolę polimorfizmów *SEPP1* w patogenezie AAA i AIOD oraz ich powiązania z metabolicznymi czynnikami ryzyka CVD. Oryginalny wkład niniejszych badań do poszerzenia dotychczasowej wiedzy o efektach fenotypowych wariantów *SEPP1* potwierdza cytowanie **Publikacji 3** wchodzącej w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego w bazie GeneRIFs (ang. *Gene References Into Functions*; adres strony: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?db=gene&report=generif&term=6414>; wpis z dnia 24 października 2015 roku).

Wyniki zawarto w pracy:

3. **Strauss E**, Oszkinis G, Staniszewski R. *SEPP1* gene variants and abdominal aortic aneurysm: gene association in relation to metabolic risk factors and peripheral arterial disease coexistence. *Sci Rep.* 2014; 4: 7061. doi: 10.1038/srep07061.

W kolejnym etapie poszerzyłam charakterystykę polimorfizmów genów kodujących selenoproteiny w AAA i AOID. W ocenie tej zostało uwzględnionych siedem polimorfizmów: *SEPP1 rs3877899*, *SEPP1 rs7579*, *SELENOS rs34713741*, *TXNRD1 rs35009941*, *TXNRD2*

rs9605031, *GPX4 rs713041* i *SOD2 rs4880*, jak również stężenia SeP i Trx. Stężenia SeP i Se w osoczu są ściśle skorelowane, stąd poziomy SeP stosowane są powszechnie, jako biomarker stężeń Se. Charakterystyka kliniczna chorych została poszerzona o współistniejące choroby serca: CAD, skurczową HF o patogenezie niedokrwiennej (iHF), oraz przebyty MI. Grupę badaną stanowiło 564 chorych z AAA (50% ze współistniejącym PAD), 400 chorych z AIOD i 543 osób kontrolnych (bez PAD lub HF). Znaczenie badanych SNP zostało ocenione w odniesieniu do wystąpienia AAA, AIOD, PAD oraz współistniejących chorób serca.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wykazałam, że obecność alleli *SELENOS rs34713741T*, *SEPP1 rs3877899A* i *GPX4 rs713041T* wiąże się z 30-60% wzrostem ryzyka rozwoju miażdżycy tętnic obwodowych (AIOD/ PAD; efekt recesywny lub dominujący). Z drugiej strony, allel *SEPP1 rs3877899A* stanowił czynnik zmniejszający o 32% ryzyko rozwoju AAA nPAD (ale nie AAA PAD). Zaobserwowałam addytywne oddziaływania pomiędzy genami kodującymi selenoproteiny na ryzyko AAA i AIOD, oraz efekt oddziaływań synergistycznych pomiędzy allelami *SELENOS rs34713741T* i *GPX4 rs713041T* (w układzie recesywnym) w odniesieniu do ryzyka AIOD. Genotyp *SELENOS rs34713741TT* / *GPX4 rs713041TT*, w odniesieniu do genotypu *rs34713741CC+CT* / *GPX4 rs713041CC+CT* wiązał się z 5.27-krotnym wzrostem ryzyka AIOD. Znaczenie wymienionego genotypu wzrastało z wiekiem, u osób > 61 r. ż. ryzyko AIOD dla jego nosicieli było 7.96-krotne. Dystrybucja tego genotypu różniła się pomiędzy AIOD i AAA. Spośród ocenionych chorób serca (CAD, MI oraz iHF), istotny związek z badanymi selenoproteinami stwierdzono dla iHF. Nosicielstwo allelu *SEPP1 rs7579A* oraz stężenia SeP ≥ 8.5 mg/mL warunkowały odpowiednio: 1.83-krotny i 3.50-krotny wzrost ryzyka iHF.

W tym samym badaniu wykazałam, że w AAA poziomy SeP są ujemnie skorelowane z wartościami BMI ($r = -0.575$), co rozszerza wiedzę o efektach fenotypowych związanych z oddziaływaniem selenoprotein. Wykazany związek może wyjaśniać zaobserwowany wcześniej wpływ haplotypu *SEPP1 rs3877899G-rs7579G* na ryzyko wystąpienia AAA u osób z BMI ≥ 25 (**Publikacja 3**). Nadmierna masa ciała wiąże się z aktywacją układu odpornościowego, przewlekłym zapaleniem, a ostatecznie przyspieszonym zużyciem przeciwutleniaczy. W konsekwencji, obniżona wydajność rezerwy antyoksydacyjnej u osób z nadwagą i otyłością może przyczyniać się do ujawnienia patogennych skutków polimorfizmów *SEPP1*.

Niniejsze badania potwierdzają, że uwarunkowania ocenionych chorób aorty cechuje heterogenność genetyczna. W zakresie związku badanych SNP z miażdżycą obwodową, obserwowane asocjacje były zgodne dla AIOD i AAA PAD, odróżniając te grupy od AAA nPAD. Istotna w tym kontekście wydaje się obserwacja, że iHF znacznie różni się w zakresie

podatności genetycznej od badanych chorób aorty i jako jedyna wykazuje związek z poziomem SeP w osoczu. Wyniki przedstawione w **Publikacji 4** uzyskały prestiżową międzynarodową nagrodę Camillo Di Croce na konferencji IMAD 2014 za najlepszą pracę w dziedzinie rodzinnych/genetycznych aspektów uwarunkowań AAA (**wymieniono w zał. 5. punkt II. J**).

Opisane wyniki zawarto w pracy:

4. **Strauss E**, Tomczak J, Staniszewski R, Oszkinis G. Associations and interactions between variants in selenoprotein genes, selenoprotein levels and the development of abdominal aortic aneurysm, peripheral arterial disease, and heart failure. PLoS ONE 2018; 13(9): e0203350. doi:10.1371/journal.pone.0203350. eCollection 2018

Jednocześnie prowadziłam szersze badania czynników genetycznych i biomarkerów powiązanych z rozwojem niewydolności serca przed 60 r. ż., które uwzględniały geny kodujące białka zaangażowane w metabolizm Hcy. HHcy może prowadzić do uszkodzenia śródbłonna naczyń i stanowi czynnik ryzyka rozwoju CVD oraz zgonu sercowo-naczyniowego. Detoksykacja Hcy odbywa się przy udziale enzymu syntazy metioninowej. Kofaktorem w tej reakcji jest 5-metylotetrahydrofolian wytwarzany przy udziale reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (ang. *methylenetetrahydrofolate reductase*, MTHFR). Nadmiar Hcy może ulegać cyklizacji do Hcy-TLC, który wykazuje wysoką reaktywność w stosunku do białek, powodując N-homocysteinylację reszt lizyny. Tak zmodyfikowane białka są wysoce podatne na polimeryzację i denaturację. Hcy-TLC ulega detoksykacji przy udziale PON1 do Hcy jako związku mniej reaktywnego. PON1 odpowiada też za część właściwości przeciwzapalnych i przeciwutleniających HDL, a przez to aktywności ochronnych w odniesieniu do rozwoju CVD. Liczne wcześniej przeprowadzone badania, których szeroki przegląd przedstawiłam w **suplemencie do Publikacji 5**, wskazywały, że HHcy stanowi czynnik ryzyka HF i śmiertelności z nią związanej. Nie było jednak szerszych badań, na podstawie których możnaby wnioskować, że związek ten ma charakter przyczynowy.

Uwzględniając dotychczasową wiedzę, jako cel prowadzonych przeze mnie badań przyjąłam ocenę zależności pomiędzy genotypami *MTHFR rs1801133 (677C>T)*, *rs1801131 (1298A>C)* oraz *PON1 rs705379 (-108C>T)*, *rs854560 (162T>A)* i *rs662 (575A>G)*, Hcy i FA w surowicy krwi a rozwojem skurczowej HF przed 60 rokiem życia. Analizie poddałam iHF o etiologii związanej z CAD oraz niHF rozwijającą się w konsekwencji DCM. Zbadałam również modyfikujące efekty takich czynników ryzyka CVD, jak nadciśnienia tętniczego i poziomu lipoprotein. Ponadto, w badaniu prospektywnym, oceniłam wpływ czynników ryzyka na przebieg HF w okresie jednego roku. Niniejsze badania były prowadzone w oparciu o

randomizację mendlowską, umożliwiającą, dzięki ocenie polimorfizmów funkcjonalnych, wnioskowanie o potencjalnym związku przyczynowym. Wykazanie asocjacji genotypów *MTHFR* 677TTT, 1298CC oraz *PON1* 162AA, *PON1* 575AA, jako odpowiedników: długotrwałego narażenia na podwyższone stężenia Hcy oraz Hcy-TLC, z występowaniem HF i jej niekorzystnym przebiegiem (zgon/hospitalizacja) potwierdzałyby hipotezę o przyczynowej roli Hcy w rozwoju i/lub postępie HF. Z uwagi na zależne od płci różnice wiekowe w zapadalności na CVD, niniejsze badania przeprowadziłam u mężczyzn, w następujących grupach: chorych z HF (117 z iHF oraz 55 z niHF), referencyjnej 329 chorych z CAD bez HF oraz kontrolnej liczącej 384 osób.

Wykazałam, że HHcy i genotypy *MTHFR* 677TT/1298AA, 677CC/1298CC stanowią czynniki ryzyka HF niezależnie od jej etiologii (obserwowany wzrost ryzyka odpowiednio: 2.0-krotny i 1.6-krotny), w szczególności wśród osób bez nadciśnienia tętniczego (wzrost ryzyka odpowiednio: 4.6-krotny i 2.3-krotny). Ryzyko niHF powiązane było specyficznie z oddziaływaniem genotypów *PON1* 162AA (2.3-krotny wzrost ryzyka) i 575AG+GG (54% obniżenie ryzyka), z kolei podwyższone ryzyko iHF wiązało się z obecnością interakcji pomiędzy genotypem *PON1* 575GG a poziomem cholesterolu frakcji HDL obniżonym do wartości <1 mmol/L (7.2-krotny wzrost ryzyka). W analizie wieloczynnikowej, uwzględnienie HHcy w ocenie ryzyka wystąpienia niHF (związanej z DCM) poprawiło klasyfikację chorych o 10.1%. W ocenie prospektywnej prawdopodobieństwo zgonu z powodu HF lub ponownej hospitalizacji w ciągu jednego roku wiązało się ze stopniem zaawansowania HF (obecnością niskiej frakcji wyrzutowej lewej komory serca (<30%)) oraz DCM. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu badanych genotypów lub HHcy na niekorzystny przebieg choroby.

Uzyskane wyniki wskazywały na przyczynową rolę HHcy w warunkowaniu niHF oraz dysfunkcyjnego HDL w iHF, co potwierdzało odrębną patogenezę iHF i niHF.

Wyniki zawarto w pracy:

5. **Strauss E**, Supiński W, Radziemski A, Oszkinis G, Pawlak AL, Głuszek J. Is hyperhomocysteinemia a causal factor for heart failure? The impact of the functional variants of *MTHFR* and *PON1* on ischemic and non-ischemic etiology. *Int J Cardiol.* 2017;228:37-44. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.213.

Podsumowując, najważniejsze obserwacje uzyskane w trakcie realizacji postawionych w osiągnięciu naukowym celów, wskazujące na częściowo odrębną rolę badanych genów i powiązanych z nimi biomarkerów w patogenezie chorób układu krążenia, są następujące (podkreślono allele rzadsze dla badanych polimorfizmów):

a) AAA

- *Wzrost ryzyka*: haplotyp *SEPP1* rs3877899G-rs7579G u osób z BMI ≥ 25 kg/m² (OR=1.8); ponadto w AAA wykazano: asocjację tego haplotypu z obecnością nadwagi i otyłości (BMI ≥ 25 kg/m²) oraz korelację pomiędzy wartościami BMI a stężeniem SeP ($r = -0.575$).

b) AAA bez PAD (AAA nPAD)

- *Wzrost ryzyka*: allel *VEGFA* rs2010963C i haplotyp *HIF1A* rs11549465C-rs11549467G (OR=2.41 dla homozygot pod względem wszystkich wymienionych alleli)
- *Ochronny wpływ*: allel *SEPP1* rs3877899A (haplotyp rs3877899A-rs7579G; OR=0.60) i niższa częstość jego nosicieli w AAA nPAD w odniesieniu do AAA PAD (OR=0.61)

c) AAA z PAD (AAA PAD)

- *Wzrost ryzyka*: haplotyp *HIF1A* rs11549465T-rs11549467G (OR=2.02, dla nosicieli), związek ten nasilają: nosicielstwo allelu *VEGF* rs2010963G (OR=2.86 dla homozygot), palenie tytoniu (OR= 3.10).

d) AIOD/PAD

- *Wzrost ryzyka*: allele *SELENOS* rs34713741T, *GPX4* rs713041T i *SEPP1* rs3877899A (haplotyp rs3877899A-rs7579G; układ recesywny lub dominujący: 30-60% wzrost ryzyka)
- *Wzrost ryzyka*: dla AIOD interakcja pomiędzy allelami *SELENOS* rs34713741T i *GPX4* rs713041T (układ recesywny: OR=5.27), o sile oddziaływań zwiększającej się z wiekiem (OR=7.96 u osób >61 r. ż.); ponadto dystrybucja genotypu *SELENOS* rs34713741TT/*GPX4* rs713041TT różniła się pomiędzy AIOD i AAA
- *Brak związku*: allele *VEGF* rs2010963 i *HIF1A* rs3877899 i rs7579G brak wykazanych asocjacji z AIOD

e) HF (niezależnie od etiologii)

- *Wzrost ryzyka*: genotypy *MTHFR* 677TT/1298AA, 677CC/1298CC oraz HHcy (odpowiednio OR=1.6 i OR=2.0), w szczególności wśród osób bez nadciśnienia tętniczego (odpowiednio OR=2.3 i OR=4.6)

f) HF o etiologii niedokrwiennej spowodowana CAD (iHF)

- *Wzrost ryzyka iHF w chorobach aorty*: allel *SEPP1* rs7579A (haplotyp rs3877899G-rs7579A) oraz stężenia SeP ≥ 8.5 mg/mL (odpowiednio: OR=1.83 i OR=3.50)
- *Wzrost ryzyka iHF < 60 r. ż.*: *PON1* rs854560AA i interakcja pomiędzy genotypem *PON1* rs662GG i poziomem HDL <1 mmol/L (OR=7.2)
- *Obniżenie ryzyka iHF < 60 rż.*: allel *PON1* rs662G (nosiciele: OR=0.46)

g) HF o etiologii innej niż niedokrwienność spowodowana DCM (niHF)

- HHcy poprawia identyfikację przypadków o 10%
- u osób z HF, niHF spowodowana DCM zwiększa prawdopodobieństwo niekorzystnych zdarzeń (zgonu lub ponownej hospitalizacji) w okresie jednego roku

Na podstawie uzyskanych wyników można wysunąć następujące wnioski:

1. Polimorfizmy genu *SEPP1* wiążą się z obecnością metabolicznych czynników ryzyka CVD, takich jak nadwaga i otyłość, a w przypadku nadmiernej masy ciała warunkują podatność do rozwoju AAA. Efektem fenotypowym, powiązanym z obecnością nadmiernej masy ciała w AAA jest występowanie obniżonego poziomu produktu tego genu (SeP) we krwi, który może stanowić biomarker ryzyka AAA u osób z zaburzeniami metabolicznymi.

2. Polimorfizmy genów *SEPP1*, *SELENOS* i *GPX4* wykazują związek z występowaniem AIOD/PAD, a ich znaczenie może się zwiększać w wyniku interakcji genetycznych oraz procesu starzenia się organizmu. Ponadto polimorfizmy genów *SEPP1*, *HIF1A* i *VEGF* różnicują sub-fenotypy AAA zależne od współistnienia PAD.

3. Polimorfizmy genów *SEPP1* i *PON1*, podwyższone stężenia SeP i obniżone stężenia HDLC we krwi mogą stanowić markery podatności do rozwoju HF po przebytych zawale serca (iHF).

4. HHcy, wynikająca z obecności polimorfizmów *MTHFR*, wiąże się przyczynowo z rozwojem niHF związanej z DCM, co wskazuje, że stężenia Hcy mogą być rozważane w opracowaniu algorytmów oceny ryzyka związanego z iHF.

5. Interakcje genetyczne i genetyczno-środowiskowe znacząco modyfikują ryzyko CVD związane z nosicielstwem określonych wariantów genetycznych.

6. Różnice genetyczne i w parametrach biochemicznych pomiędzy badanymi grupami chorych wskazują na odrębne cechy patogenazy CVD, co potwierdza tezę o heterogenności uwarunkowań CVD. Wykazano, że heterogenność ta dotyczy różnic w oddziaływaniu genów i biomarkerów powiązanych ze stresem oksydacyjnym i barierą antyoksydacyjną organizmu, występujących pomiędzy CVD o etiologii niedokrwiennej i nie związanej z niedokrwieniem.

Przeprowadzone badania poszerzają wiedzę o efektach fenotypowych związanych z oddziaływaniem badanych polimorfizmów, stężeń selenoprotein i Hcy. Wskazują na konieczność głębszego zrozumienia korelacji genotyp-fenotyp w CVD, gdyż mają one swoje implikacje kliniczne w zakresie oceny ryzyka. Analiza tego typu uwarunkowań genetycznych stanowi nadal wyzwanie dla medycyny personalizowanej. Z uwagi na bezobjawowy przebieg większości przypadków, wykazane asocjacje należałoby wziąć pod uwagę przy opracowaniu metod wczesnej identyfikacji ryzyka CVD oraz predykcji ich przebiegu w populacji polskiej. W szczególności, istotne pod względem klinicznym wydaje się wytypowanie czynników

związanych z występowaniem i przebiegiem HF u osób <60 r. ż. Podobnie, na uwagę zasługują obserwacje dotyczące powiązań pomiędzy parametrami molekularnymi a obecnością chorób współistniejących w AAA (iHF i PAD), które zwiększają ryzyko leczenia operacyjnego i powikłań pooperacyjnych takich jak zgonu oraz powtórnych hospitalizacji. Identyfikacja grup wysokiego ryzyka, powiązanego z niedoborem Se lub nadmiarem Hcy pozwoliłaby na wdrożenie prewencji pierwotnej, w tym suplementacji przywracającej równowagę redoks i normalizującej metabolizm Hcy.

Piśmiennictwo

1. Dandona, S., and Roberts, R. (2012). Personalized cardiovascular medicine: status in 2012. *Can J Cardiol* 28, 693-699.
2. Bui, A.L., Horwich, T.B., and Fonarow, G.C. (2010). Epidemiology and risk profile of heart failure. *Nat Rev Cardiol* 8, 30.
3. Assmann, G., Cullen, P., and Schulte, H. (2002). Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation* 105, 310-315.
4. Pereira, A., Mendonca, M.I., Borges, S., Freitas, S., Henriques, E., Rodrigues, M., Freitas, A.I., Sousa, A.C., Brehm, A., and Reis, R.P.D. (2018). Genetic risk analysis of coronary artery disease in a population-based study in Portugal, using a genetic risk score of 31 variants. *Arq Bras Cardiol*.
5. Theriault, S., Lali, R., Chong, M., Velianou, J.L., Natarajan, M.K., and Pare, G. (2018). Polygenic contribution in individuals with early-onset coronary artery disease. *Circ Genom Precis Med* 11, e001849.
6. Ye, Z., Austin, E., Schaid, D.J., and Kullo, I.J. (2016). A multi-locus genetic risk score for abdominal aortic aneurysm. *Atherosclerosis* 246, 274-279.
7. Ericson, U., Hindy, G., Drake, I., Schulz, C.A., Brunkwall, L., Hellstrand, S., Almgren, P., and Orho-Melander, M. (2018). Dietary and genetic risk scores and incidence of type 2 diabetes. *Genes Nutr* 13, 13.
8. Redondo, M.J., Geyer, S., Steck, A.K., Sharp, S., Wentworth, J.M., Weedon, M.N., Antinozzi, P., Sosenko, J., Atkinson, M., Pugliese, A., et al. (2018). A type 1 diabetes genetic risk score predicts progression of islet autoimmunity and development of type 1 diabetes in individuals at risk. *Diabetes Care* 41, 1887-1894.
9. Belsky, D.W., Moffitt, T.E., Sugden, K., Williams, B., Houts, R., McCarthy, J., and Caspi, A. (2013). Development and evaluation of a genetic risk score for obesity. *Biodemography Soc Biol* 59, 85-100.
10. Graae, A.S., Hollensted, M., Kloppenborg, J.T., Mahendran, Y., Schnurr, T.M., Appel, E.V.R., Rask, J., Nielsen, T.R.H., Johansen, M.O., Linneberg, A., et al. (2018). An adult-based insulin resistance genetic risk score associates with insulin resistance, metabolic traits and altered fat distribution in Danish children and adolescents who are overweight or obese. *Diabetologia* 61, 1769-1779.
11. Polonis, K., Hoffmann, M., Szyndler, A., Wolf, J., Nowak, R., Becari, C., Laurent, S., Boutouyrie, P., Melander, O., and Narkiewicz, K. (2018). A multilocus genetic risk score is associated with arterial stiffness in hypertensive patients: the CARE NORTH study. *J Hypertens*.

12. Roberts, R., and Campillo, A. (2018). Genetic stratification for primary prevention of coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol*.
13. Pazoki, R. (2018). Methods for polygenic traits. *Methods Mol Biol* 1793, 145-156.
14. Kong, S.W., Lee, I.H., and Leshchiner, I. (2015). Summarizing polygenic risks for complex diseases in a clinical whole-genome report. *Genet Med* 17, 536-544.
15. Jones, G.T., Tromp, G., Kuivaniemi, H., Gretarsdottir, S., Baas, A.F., Giusti, B., Strauss, E., Van't Hof, F.N., Webb, T.R., Erdman, R., et al. (2017). Meta-analysis of genome-wide association studies for abdominal aortic aneurysm identifies four new disease-specific risk loci. *Circ Res* 120, 341-353.
16. Stachurska, A., Florczyk, U., Józkowicz, A., Dulak, J., and Loboda, A. (2010). Nowe oblicza czynników indukowanych przez hipoksję–HIF-1 i HIF-2 a stres oksydacyjny. *Postepy Biochem* 56, 156-164.
17. Starkebaum, G., and Harlan, J.M. (1986). Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 77, 1370-1376.
18. McCully, K.S. (1996). Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 2, 386-389.
19. Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C.L., Newton, R.S., Primo-Parmo, S.L., and La Du, B.N. (1998). Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 101, 1581-1590.
20. Joseph, J., and Loscalzo, J. (2013). Selenistasis: epistatic effects of selenium on cardiovascular phenotype. *Nutrients* 5, 340-358.
21. Brown, K.M., and Arthur, J. (2001). Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 4, 593-599.
22. Papp, L.V., Lu, J., Holmgren, A., and Khanna, K.K. (2007). From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal* 9, 775-806.
23. Bellinger, F.P., Raman, A.V., Reeves, M.A., and Berry, M.J. (2009). Regulation and function of selenoproteins in human disease. *Biochem J* 422, 11-22.
24. Becker, N.-P., Martitz, J., Renko, K., Stoedter, M., Hybsier, S., Cramer, T., and Schomburg, L. (2014). Hypoxia reduces and redirects selenoprotein biosynthesis. *Metallomics* 6, 1079-1086.
25. Rundlöf, A.-K., and Arnér, E.S. (2004). Regulation of the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase 1 in relation to cellular phenotype, growth, and signaling events. *Antioxid Redox Signal* 6, 41-52.
26. Tinkov, A.A., Bjørklund, G., Skalny, A.V., Holmgren, A., Skalnaya, M.G., Chirumbolo, S., and Aaseth, J. (2018). The role of the thioredoxin/thioredoxin reductase system in the metabolic syndrome: towards a possible prognostic marker? *Cell Mol Life Sci* 75, 1567-1586.
27. Yu, S.S., and Du, J.L. (2017). Selenoprotein S: a therapeutic target for diabetes and macroangiopathy? *Cardiovasc Diabetol* 16, 101.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Analiza bibliometryczna dorobku naukowego

Poza serią **5 oryginalnych artykułów**, które przedkładałam jako osiągnięcie naukowe, ubiegając się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych, jestem również autorką **33** innych publikacji, o łącznym wskaźniku Impact Factor **40.484** oraz punktacji MNiSW **399** (uwzględniając prace w suplementach czasopism punktacja ta przedstawia się odpowiednio: **43.290** i **418**).

W moim dorobku znajduje się:

- 20 publikacji oryginalnych, z czego 10 artykułów ze współczynnikiem IF (łączy IF: **40.484**, MNiSW: **300**)
- 3 prace poglądowe i kazuistyczne (łączy punktacja MNiSW: **16**)
- 9 rozdziałów w podręcznikach (łączy punktacja MNiSW: **29**)
- 1 praca popularno-naukowa
- dodatkowo przygotowałam 2 publikacje w suplementach czasopism posiadających współczynnik IF (łączy IF: **2.806**, łączna punktacja MNiSW: **19**)
- Prezentowałam **38** prac na konferencjach międzynarodowych (**9** referatów) oraz **29** prac na konferencjach krajowych (**17** referatów)
- Liczba cytowań (wg Web of Sciences; dotyczy całego dorobku) = **122**
- Indeks Hirscha (wg Web of Sciences) = **7**

W dorobku poza osiągnięciem naukowym, jestem pierwszą autorką **18** publikacji (w **4** z nich dzielę pierwsze autorstwo), a drugą autorką **5** prac.

Pozostałe kierunki prowadzonych przeze mnie badań, poza osiągnięciem wynikającym z art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) można pogrupować w pięć głównych obszarów zainteresowań, realizowanych w ramach projektów badawczych i współprac naukowych wymienionych w **załączniku 5 punkt I, E oraz F**.

A. Efekty palenia tytoniu w warunkowaniu zaburzeń rozrodczości-badania na modelu mysim

Pierwszy kierunek moich zainteresowań badawczych dotyczył oceny znaczenia receptora węglowodorów aromatycznych AhR (ang. *aryl hydrocarbon receptor*) na biologiczne efekty

dymu papierosowego, w szczególności zaburzenia funkcji rozrodczych (**Publikacje 1-5**). Badania te podjęłam w ramach prowadzonych w IGCZ PAN projektów badawczych, równolegle z wykonywaną pracą magisterską. Do oceny genotypu receptora *ahr* u badanych myszy wprowadziłam metodę molekularną, opartą na analizie polimorfizmu typu STR (ang. *short tandem repeats*) w *locus* D12Mit2, sprzężonym z *locus ahr* u myszy. Metoda ta zastąpiła stosowaną wcześniej metodę oceny fenotypu z użyciem testu funkcjonalnego z zoxazolaminą. Użycie testu molekularnego zwiększyło wiarygodność prowadzonych badań oraz obniżyło stres zwierząt związany z dootrzewnowym podawaniem wymienionej substancji.

AhR to czynnik transkrypcyjny aktywowany ligandami, który reguluje ekspresję wielu enzymów biorących udział w metabolizmie węglowodorów aromatycznych, w tym dioksyn. U myszy gen kodujący to białko występuje w pojedynczym *locus*, które ma wiele alleli warunkujących powstawanie białek o różnej strukturze i funkcji. Dobrze scharakteryzowano dwa allele, jeden powodujący większą wrażliwość na węglowodory aromatyczne (oznaczony jako *ahr^b*) i drugi warunkujący mniejszą wrażliwość (oznaczony jako *ahr^d*). Allele te różnią się powinowactwem do wiązania ligandu, przy czym większe powinowactwo wykazuje allel *ahr^b* (różnica 10-15-krotna). Obserwowane różnice w zakresie powinowactwa są zbliżone do zakresu zmienności obserwowanej w populacji ludzkiej. Badania prowadzone były na szczepie myszy C57BL *ahr^{dd}*, kongenicznym wobec standardowego szczepu C57BL *ahr^{bb}*. Zaburzenia funkcji rozrodczych u myszy z wyłączonym genem *ahr* (-/-) przyjmują formę przyspieszonej utraty tych funkcji przez samice. Białko Ahr, po ligacji z dioksyną, indukuje ekspresję genu *bax* i na tej drodze wywołuje apoptozę komórek jajowych u myszy.

W ramach prowadzonych badań oceniono zdolności reprodukcyjne u myszy narażonych na toksyczne stężenia dymu papierosowego, tj. w stężeniu odpowiadającym zawartości tlenu węgla ok. 500 mg/m³ powietrza, w okresie kojarzenia i wczesnej ciąży. Ekspozycja miała miejsce przez 2 tygodnie, po 6 godzin dziennie przez 5 dni w tygodniu. Zmiany zdolności reprodukcyjnej badanych myszy oceniano na podstawie liczby poczęć, poronień, urodzeń oraz liczby noworodków przypadających na samicę w odniesieniu do genotypu osobników rodzicielskich i potomstwa. Oceniono przeżywalność do 21 dnia życia, którą uważa się za cechę związaną z aktywnością matki w karmieniu i pielęgnacji potomstwa. Prowadzono też obserwację długoterminową potomstwa, do 17 tygodnia życia.

Wykazaliśmy, że narażenie zwierząt na toksyczne stężenia dymu papierosowego wpływało na obniżenie zdolności rozrodczych. Niska aktywność AhR, warunkowana obecnością allelu *ahr^d* zmniejszała skutki narażenia na dym papierosowy w postaci utraty płodów (poronień). Jednak genotyp ten nie warunkował oporności na obniżenie wskaźnika urodzeń po ekspozycji.

W ocenie serii krzyżowań FxM (osobnik płci żeńskiej x osobnik płci męskiej): $ahr^{bb} \times ahr^{bd}$ i $ahr^{bd} \times ahr^{dd}$ stwierdziliśmy obniżenie (wyniki wstępne; $P < 0.01$), względnie brak zmian (wyniki końcowe), w zakresie przeżycia potomstwa matek ahr^{bb} do 21 dnia oraz wzrost przeżywalności potomstwa matek ahr^{dd} w wyniku ekspozycji na dym papierosowy ($P < 0.02$). Wyniki te odpowiadały wynikom wcześniejszych badań dotyczących wpływu ligandu AhR - dioksyny TCDD na rozrodczość.

W obserwacji długoterminowej 17 tygodnia wśród potomstwa o genotypie ahr^{bb} w serii skojarzeń FxM: $ahr^{bb} \times ahr^{bd}$, $ahr^{bd} \times ahr^{bb}$, $ahr^{bd} \times ahr^{bd}$, $ahr^{bd} \times ahr^{dd}$, $ahr^{dd} \times ahr^{bd}$ zaobserwowaliśmy pod wpływem ekspozycji zmianę proporcji płci, a więc stosunku osobników żeńskich do męskich z przewagą samców w grupie nieeksponowanej ($F/M = 0.44$) na przewagę samic w grupie eksponowanej ($F/M = 2.3$; $P < 0.05$).

Uzyskane wyniki wskazywały, że ekspozycja na dym tytoniowy może skutkować obniżeniem odsetka potomstwa płci męskiej u osobników z wysoką aktywnością receptora Ah, a posiadanie receptora Ah o niskiej aktywności stanowi czynnik ochronny w odniesieniu do śmiertelności związanej z ekspozycją na dym tytoniowy. Mniejsza wrażliwość na działanie składników dymu papierosowego oraz ewentualne pobudzenie receptorów estrogenowych u eksponowanych matek nosicielek allelu ahr^{dd} może wyjaśniać paradoksalny wzrost przeżywalności potomstwa tych matek po ekspozycji. Uzyskane wyniki wskazują, że dysproporcja płci może stanowić marker zaburzeń funkcji rozrodczych.

1. **Strauss E**, Florek E, Pawlak AL. Wpływ dymu papierosowego na przeżycie potomstwa myszy kongenicznych różniących się allelami genu *ahr* zależy w sposób istotny od genotypu rodziców i potomstwa. W: Interakcje ksenobiotyków pod red. Orłowskiego J. Poznań **2001**; 59-61.

MNiSW 0

2. Pawlak AL, **Strauss E**, Grygielska B, Florek E. Wpływ ekspozycji na dym tytoniowy w okresie kojarzenia oraz wczesnej ciąży na występowanie poronień oraz rozkład płci i alleli *ahr* w potomstwie myszy *ahr* *bb*, *bd* i *dd* kongenicznych C57BL. W: Kobieta i Tytoń. Współczesne poglądy. Florek E, Piekoszewski W, Wrzosek J. Katedra i Zakład Toksykologii, Akademia Medyczna, Poznań **2001**; 162-168.

MNiSW 3

3. Pawlak AL, **Strauss E**, Florek E. Low activity of the *ahr* gene in the *ahr* *dd* C57BL congenic mice does not prevent the depression of birth rates observed as result of cigarette smoke exposure. *Folia Histochem Cytobiol* **2001**; Vol. 39 suppl. 2:79-80.

IF 0.594, MNiSW 8

4. Pawlak AL, **Strauss E**. Obniżenie odsetka potomstwa płci męskiej pod wpływem dymu tytoniowego jako marker zaburzeń funkcji rozrodczych. W: Kobieta i tytoń. Aktualne badania w Polsce. Florek E, Piekoszewski W, Wrzosek J. Wydawnictwo Akademii Medycznej w Poznaniu. **2002**; 140-143.

MNiSW 3

5. Pawlak AL, **Strauss E**, Florek E. Wzrost przeżywalności potomstwa myszy kongenicznych C57BL – samic *ahr* *bd* skojarzonych z samcami *ahr* *dd* po ekspozycji na dym papierosowy w okresie kojarzenia

oraz wczesnej ciąży. W: Tytoń a zdrowie. Choroby odtytoniowe. Florek E., Piekoszewski W. Wydawnictwo Akademii Medycznej w Poznaniu. Poznań, **2003**; 92-96.

MNiSW 3

B. Wpływu czynników środowiskowych i genetycznych na występowanie i przebieg chorób naczyń

B1. Homocysteina i geny związane z jej metabolizmem a choroby serca i naczyń

Badania dotyczące znaczenia Hcy oraz genów związanych z jej metabolizmem dla występowania chorób u ludzi rozpoczęłam w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w trakcie realizacji pracy magisterskiej, a następnie kontynuowałam podczas wykonywania pracy doktorskiej. Przyczyny zaburzeń metabolizmu Hcy mogą być wrodzone i obejmują polimorfizmy i mutacje genu *MTHFR* lub nabyte, związane z niedoborem witamin z grupy B: FA, witaminy B6 i witaminy B12. Istotne znaczenie kliniczne zaburzeń metabolizmu Hcy wynika przede wszystkim z jej oddziaływania na rozrodczość oraz patogenezę chorób układu krążenia. Polimorfizmy genu *MTHFR* są czynnikiem ryzyka wystąpienia wad wrodzonych u płodu, a nadmiar Hcy w organizmie wiązany jest z występowaniem miażdżycy. Rola polimorfizmów genu *MTHFR* dla wystąpienia chorób spowodowanych nadmiarem Hcy w organizmie oraz znaczenie obniżenia stężeń tego aminokwasu za pomocą suplementacji witamin z grupy B dla występowania powikłań sercowo-naczyniowych została podsumowana w dwóch pracach (**Publikacje 1 i 2**). Ocenę roli stężeń Hcy dla występowania chorób serca była następnie rozwijana we współpracy z prof. Jerzym Głuszką i lekarzem medycyny Wiesławem Supińskim w ramach realizowanej przez niego pracy doktorskiej, w której uczestniczyłam na etapie planowania badań, wykonywania analiz genetycznych, oceny statystycznej oraz interpretacji wyników.

1. Pawlak AL, **Strauss E**. [Polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (*MTHFR*) and incidence of hyperhomocysteinemia-related diseases]. *Postepy Hig Med Dosw.* **2001**;55(2):233-256.

MNiSW 5

2. Supiński W, Głuszek J, Pawlak A, **Strauss E**. Czy obniżenie homocysteiny po podaniu witamin B może zmniejszać liczbę powikłań sercowo-naczyniowych? *Czyn Ryzyka* **2007**; 2: 29-37.

MNiSW 6

Opracowana przeze mnie w trakcie prowadzonych prac doświadczalnych metodyka PCR-RFLP dla oceny polimorfizmów genu *MTHFR* *rs1801133* (677C>T) i *rs1801131* (1298A>C) została opisana w pracach stanowiących rozdziały w podręcznikach do analizy DNA.

1. **Strauss E**, Waliszewski K, Pawlak AL, Słomski R. Ocena polimorfizmu genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) metodą PCR-RFLP. W: Słomski R. Przykłady analiz DNA. Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu 2004; 88-97

MNiSW 3

2. **Strauss E.**, Waliszewski K, Pawlak A.L., Słomski R. „Polimorfizm genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR)”w „Analiza DNA teoria i praktyka”, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu; **2008**; Rozdział 38 str. 290-299”

MNiSW 3

Wyniki badań doświadczalnych z zakresu CVD pozwoliły wykazać związek polimorfizmów *MTHFR* z występowaniem AAA oraz CAD.

Wykazałam 4.43-krotny wzrost ryzyka AAA dla heterozygot *MTHFR* rs1801133CT (677CT) oraz 3.77-krotny dla nosicieli allelu rs1801133T (677T; **Publikacja 1**). Pomimo, że poziomy Hcy u mężczyzn są zazwyczaj wyższe, niż u kobiet, nie stwierdziłam, związku obserwowanego efektu z płcią.

W przypadku CAD wykazałam znaczenie wartości ciśnienia tętniczego dla występowania asocjacji pomiędzy genotypem *MTHFR* a rozwojem choroby (**Publikacja 2**). W badaniu obejmującym mężczyzn obserwowałam asocjację genotypów *MTHFR* rs1801133C>T/rs1801131A>C: CC/AC, CT/AA i CC/CC z rozwojem CAD (OR=2.3), silniejszą w przypadku wczesnego wystąpienia choroby (poniżej 50 r. ż.; OR=3.6). U mężczyzn z prawidłowym ciśnieniem tętniczym większy wpływ na ryzyko CAD miały genotypy homozygotyczne: CC/AC, CC/CC i TT/AA (OR=2.3), przy czym ich istotny wpływ odnotowałam wyłącznie w odniesieniu do rozwoju choroby u mężczyzn poniżej 50 r. ż. (OR=2.8). W tym samym badaniu obserwowałam ubytek nosicieli rzadszego allelu polimorfizmu promotorowego genu kodującego paraoksonazę 1 (*PON1* rs705379T (-108T)) w starszych grupach wiekowych, istotny w przypadku grupy kontrolnej. Polimorfizm ten jest główną genetyczną determinantą aktywności paraoksonazy/tiolaktonazy Hcy w osoczu i odpowiada za 25% międzyosobniczych różnic w aktywności enzymatycznej. Obserwacja ta potwierdzała związek allelu -108T z wczesnym rozwojem chorób układu krążenia o potencjalnie śmiertelnym przebiegu.

1. **Strauss E**, Waliszewski K, Gabriel M, Zapalski S, Pawlak AL. Increased risk of the abdominal aortic aneurysm in carriers of the MTHFR 677T allele. J Appl Genet. **2003**;44(1):85-93.

MNiSW 5

2. **Strauss E**, Głuszek J, Pawlak AL. Age and hypertension related changes in genotypes of MTHFR 677C>T, 1298A>C and PON1 -108C>T SNPs in men with coronary artery disease (CAD). J Physiol Pharmacol. **2005**;56 Suppl 2:65-75.

IF 2.212 MNiSW 11

W powiązaniu z prowadzonymi badaniami przeprowadziłam ocenę znaczenia genotypu *MTHFR* rs1801133 (677C>T) w warunkowaniu przedwczesnego zakończenia ciąży oraz występowania retinopatii wcześniaków (ang. *retinopathy of prematurity*, ROP). Badanie, prowadzone we współpracy z dr hab. Anną Gotz-Więckowską, obejmowało noworodki urodzone <30 tygodnia ciąży, ich matki oraz matki kontrolne (bez powikłań ciążowych). ROP jest chorobą niedojrzałej siatkówki, występującą u wcześniaków, która jest związana z niezakończonym procesem rozwoju naczyń krwionośnych dna oka. Nieprawidłowy proces unaczynienia zachodzący po urodzeniu może powodować ubytek widzenia. ROP stanowi najczęstszą przyczynę ślepoty u dzieci. Wykazałam, że u noworodków z genotypem rs1801133TT, w porównaniu do noworodków z genotypami rs1801133CC+CT, częściej występuje ROP oraz przetrwały przewód tętniczy (stanowiący wadę wrodzoną i za razem jedno z najczęstszych powikłań wcześniactwa). Stwierdziłam, że częstość występowania homozygot rs1801133TT u wcześniaków wzrasta wraz z zaawansowaniem ROP: od 3,9% u dzieci bez ROP do 14,7% u dzieci z proliferacyjną postacią choroby (OR=4.2). Najwyższa częstość homozygot występowała u dzieci z niekorzystnym wynikiem laseroterapii ROP. Allel rs1801133T u matek nie był związany z porodem przedwczesnym, ani z występowaniem ROP u dzieci. Wyniki te wskazywały na znaczenie genotypu *MTHFR* rs1801133TT dla wystąpienia i przebiegu ROP oraz wystąpienia wad wrodzonych u wcześniaków.

1. **Strauss E**, Gotz-Więckowska A, Sobaniec A, Pawlak AL, Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) 677C>T polymorphism and occurrence, course and results of treatment of retinopathy of prematurity. *Post Neonatol* **2011**; 1 (17): 26-32

MNiSW 1

B2. Efekty palenia tytoniu w warunkowaniu chorób naczyń i ich komplikacji

Kontynuując zainteresowania genami powiązаныmi z występowaniem HHcy, w większym stopniu skupiłam się na analizie związku badanych genów z oddziaływaniem palenia tytoniu, jako głównego środowiskowego czynnika ryzyka w chorobach naczyń. Palenie papierosów odgrywa istotną rolę w patogenezie chorób cywilizacyjnych i śmiertelności z nimi związanej, stanowiąc drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie. Wskazuje się, że cechy związane z paleniem papierosów determinowane są genetycznie, co może przekładać się na ryzyko chorób spowodowanych paleniem. Oceniłam i opisałam wyniki badań asocjacji na skalę genomu (GWAS), dotyczących palenia tytoniu, uzależnienia od nikotyny, powodzenia w zaprzestaniu palenia, stosowania farmakoterapii zastępczej oraz badań asocjacji wybranych loci z występowaniem chorób związanych z paleniem papierosów. Wskazałam na istotne znaczenie 6 regionów chromosomowych dla warunkowania cech związanych z paleniem tytoniu: 15q25.1, 19q13.2, 8p11.21, 9q34.2, 10q23.32 i 11p14.1, a także opisałam rolę genów znajdujących się w wymienionych loci. Na podstawie analizy wyciągnęłam wnioski o

przydatności wyników GWAS do opracowania testów genetycznych służących indywidualizacji farmakoterapii wspomagającej zaprzestanie palenia papierosów i uzyskanie trwałej abstynencji.

1. **Strauss E.** [Genome-wide associations for cigarette smoking behavior]. *Przegl Lek.* **2013**;70(10):852-857

MNiSW 6

W ramach badań klinicznych i kliniczno-kontrolnych oceniłam związek palenia papierosów z występowaniem asocjacji polimorfizmów *MTHFR rs1801133*, *rs1801131* oraz *PON1 rs705379* z rozwojem AAA i AIOD oraz zbadłam wpływ tego czynnika na przebieg PAD (**Publikacje 1-5**).

U osób z AAA palenie tytoniu stanowiło najbardziej rozpowszechniony uznany czynnik ryzyka, występujący u większości badanych chorych. Palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze i obniżone wartości frakcji cholesterolu HDL okazały się niezależnymi czynnikami ryzyka AAA, przy czym nadciśnienie tętnicze stanowiło czynnik ryzyka zarówno u osób palących jak i niepalących, natomiast obniżone wartości frakcji cholesterolu HDL - jedynie u osób palących. W grupie chorych z tętniakiem aorty obserwowałam wzrost częstości allelu *MTHFR rs1801133T* (lub jego nosicieli), warunkującego podwyższone stężenia Hcy, wśród chorych palących papierosy i chorych z prawidłowym ciśnieniem tętniczym. Obserwowane efekty były addytywne, a różnice istotne pod względem statystycznym dla częstości allelu *rs1801133T* i jego nosicieli uzyskano porównując podgrupy chorych palących z prawidłowym ciśnieniem tętniczym z chorymi z nadciśnieniem tętniczym, zarówno niepalącymi jak i palącymi. Genotypy o największym wpływie na metabolizm Hcy i Hcy-TLC: *MTHFR rs1801133TT* i *PON1 rs705379CT+TT* częściej występowały u chorych palących, ale różnice te nie były znaczące statystycznie. Obserwowano jednak, że nosicielstwo allelu *PON1 rs705379T* może stanowić czynnik ryzyka AAA u osób palących papierosy w starszym wieku. Podsumowując, uzyskane wyniki wskazywały na znaczenie zaburzeń metabolizmu Hcy dla rozwoju AAA u osób palących, osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym oraz osób w starszym wieku. Z drugiej strony, w wieloczynnikowej analizie kliniczno-kontrolnej, nosicielstwo drugiego polimorfizmu *MTHFR*, tj. posiadanie genotypów *rs1801131AC* i *CC*, warunkowało blisko 5-krotny wzrost ryzyka AAA u osób niepalących (oceniono mężczyzn). Obserwacje te wskazują, że wpływ palenia tytoniu na wystąpienie AAA przeważa nad efektami zmienności genetycznej. Stwierdzone różnice w profilu genetycznym wśród chorych z AAA wskazywały na heterogenne podłoże tętniaków, co wpisuje się również w tematykę prezentowanego osiągnięcia naukowego.

Powyższe badania przeprowadziłam w stosunkowo nielicznych grupach badanych i kontrolnych, liczących około 100 osób, stąd można je uznać za badania wstępne. Kolejne analizy przeprowadziłam w większych grupach badanych, obejmujących 330 chorych z AAA

oraz 250 chorych z AIOD, i skupiały się one ocenie asocjacji między wiekiem chorych operowanych z powodu AAA i AIOD, występowaniem i nasileniem uznanych czynników ryzyka chorób naczyń oraz genotypem polimorfizmu *PON1 rs705379C>T*. Dla rzadszego allelu wykazałam związek z rozwojem AAA u osób palących w starszym wieku. Częstość wymienionego polimorfizmu nie różniła się pomiędzy grupami AAA (0,462) i AIOD (0,479). W obu grupach chorych niższy wiek w momencie leczenia operacyjnego wiązał się istotnie z paleniem tytoniu, wysokimi stężeniami cholesterolu całkowitego (TC), frakcji LDLC, triglicerydów i wartościami proporcji TC/HDL. Odsetek frakcji HDL wykazywał dodatnią korelację z wiekiem chorych, co potwierdzało ochronną rolę tej frakcji lipoprotein w odniesieniu do CVD. W przypadku AIOD efekt ten był silniejszy u nosicieli allelu *PON1 rs705379T*. Wiek chorych operowanych z powodu AAA wykazywał asocjację z paleniem papierosów i stężeniem triglicerydów we krwi, a chorych operowanych z powodu AIOD z paleniem papierosów, obecnością cukrzycy i stężeniem TC. Wymienione efekty były silniejsze u homozygot *PON1 rs705379CC*. Wyciągnięto wnioski, że palenie tytoniu i zaburzenia gospodarki lipidowej są czynnikami o przeważającym wpływie na szybszą progresję AAA i AIOD. U osób, u których te czynniki nie występują, w szczególności w przypadku AIOD, genetycznie uwarunkowane obniżone stężenie *PON1* może wpływać na przyspieszoną progresję zmian w aorcie.

W przypadku PAD, wskazuje się, że palenie tytoniu stanowi nie tylko główny czynnik ryzyka choroby, ale koreluje z jej postępem, występowaniem ran przewlekłych, częstością amputacji i śmiertelnością. W ramach przeprowadzonych badań klinicznych oceniłam wpływ uznanych czynników ryzyka chorób układu krążenia na wystąpienie PAD, ryzyko niekorzystnego przebiegu choroby (zgonu, amputacji, martwicy tkanek do 30 dnia po zabiegu), wystąpienia ran przewlekłych tętniczych i tempo ich gojenia po zabiegach rewaskularyzacji. Badania prowadziłam w grupach: 208 chorych z PAD skierowanych do leczenia operacyjnego, w tym 48 chorych obserwowanych prospektywnie, oraz 190 osób kontrolnych. Potwierdziłam znaczenie palenia tytoniu, jako najbardziej rozpowszechnionego czynnika ryzyka PAD, który, wraz z cukrzycą, zaawansowanym wiekiem i płcią żeńską, wiązał się także z niekorzystnym przebiegiem PAD i obniżeniem postępu gojenia ran niedokrwiennych. Przeprowadzone badania ujawniły, że kontrola czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych powinna być szczególnie uważna u kobiet, u których pomimo niższej zapadalności na PAD, dalsze rokowania odnośnie progresji choroby są gorsze.

1. **Strauss E**, Waliszewski K, Głuszek J, Pawlak AL. Genotypy MTHFR wpływają na patogenność palenia tytoniu w odniesieniu do funkcji naczyń krwionośnych i układu krążenia. [Genotypes of MTHFR influence on smoking pathogenicity of smoking with reference to function of blood vessels and circulatory system.]. W: Tytoń a zdrowie. Choroby odtyniowe. Florek E, Piekoszewski W. Poznań, **2003**; 99-106.

MNiSW 3

2. **Strauss E**, Waliszewski K, Pawlak AL. Nosiciele allele MTHFR 677T, zwiększającego ryzyko wystąpienia tętniaka aorty brzusznej (AAA) u osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym, występują najczęściej w grupie chorych palących [The normotensive carriers of the MTHFR 677T allele, displaying the increased risk of development of the abdominal aortic aneurysm (AAA), occur at the highest frequency among the smoking patients]. *Przegl Lek.* **2004**;61:1086-1089.

MNiSW 5

3. **Strauss E**, Waliszewski K, Pawlak AL. Różne genotypy polimorfizmów MTHFR 1298A>C i PON1 -108C>T są czynnikami ryzyka wystąpienia tętniaka aorty brzusznej u osób palących i niepalących. [The different genotypes of MTHFR 1298A>C and PON1 -108C>T polymorphisms confer the increased risk of the abdominal aortic aneurysm in the smoking and nonsmoking persons]. *Przegl Lek.* **2005**;62:1023-1030.

MNiSW 5

4. **Strauss E**, Waliszewski K, Majewski W, Pawlak AL. Associations between the age at surgical repair in patients with abdominal aortic aneurysms and aortoiliac occlusive disease and smoking and dyslipidemia with reference to PON1-108C>T genotype. *Acta Angiol* **2008** 14: 131-146.

MNiSW 9

5. **Strauss E**, Stelcer M, Zawadzki P, Tomczak J, Oszkinis G. Wpływ palenia tytoniu na występowanie niekorzystnych zdarzeń oraz ran niedokrwiennych w miażdżycy tętnic obwodowych. *Przegl Lek.* **2016**; 73 (10): 712-717.

MNiSW 10

Kolejnym aspektem badań była ocena znaczenia palenia tytoniu dla wystąpienia i przebiegu CAD oraz cech fenotypu chorych. W badaniu obejmującym grupę 160 mężczyzn: 102 chorych z CAD (52% ze skurczową niewydolnością serca) i 58 osób kontrolnych oceniałam związek palenia tytoniu, poziomu Hcy, FA, znanych czynników ryzyka CVD, stosowania statyn i liczby przebytych zawałów serca na rozwój skurczowej niewydolności serca (**Publikacja 1**). Spośród badanych czynników asocjację ze skurczową HF wykazano dla wysokiego rozkurczowego ciśnienia tętniczego, podwyższonego stężenia kwasu moczowego w osoczu oraz występowania zawałów serca, w tym ponownych. Palenie tytoniu, obniżenie poziomu HDLC i zwiększenie wskaźnika TC/HDLC okazały się czynnikami ryzyka CAD, niezależnie od współistnienia skurczowej HF. U chorych ze skurczową HF palenie tytoniu związane było z wyższymi wartościami wskaźnika HC/FA, niższym wiekiem chorych, leczeniem statynami i przebyłym zawałem serca. Wyniki te potwierdzały znaczenie zawału serca dla rozwoju HF oraz wskazywały na rolę palenia tytoniu dla rozwoju skurczowej HF oraz wystąpienia zaburzeń metabolizmu Hcy.

W kolejnym badaniu, przeprowadzonym w grupie 152 osób skierowanych do angiografii tętnic wieńcowych, u których 116 miało potwierdzone CAD, oceniałam związek palenia tytoniu, stężeń adiponektyny (hormonu wytwarzanego przez tkankę tłuszczową o właściwościach ochronnych w odniesieniu do CVD), insulinooporności oraz genotypów *MTHFR* i *PON1* z

występowaniem CAD (**Publikacja 2**). W analizie statystycznej wykazałam znaczenie nadciśnienia tętniczego, cukrzycy i palenia tytoniu dla występowania niskich poziomów adiponektyny. U chorych z CAD wykazałam również obecność ujemnej korelacji pomiędzy dawką alleli *MTHFR rs1801133T* i *PON1 rs854560A* a stężeniem adiponektyny. Dla allelu *MTHFR rs1801133T* wykazałam również dodatni związek z występowaniem insulinooporności. Obserwowane asocjacje genetyczne były silniej wyrażone u chorych palących, co wskazuje na rolę badanych polimorfizmów jako zwiększających niekorzystne skutki palenia tytoniu. U chorych palących obserwowałam ponadto korelacje między stężeniami adiponektyny a wartościami wskaźnika insulinooporności (ujemną) oraz HDLC (dodatnią). Uzyskane wyniki wskazywały, że u chorych z CAD, a w szczególności u palących, występowanie alleli ryzyka genów *MTHFR* i *PON1* wiąże się z obniżonymi stężeniami adiponektyny w osoczu i/lub z insulinoopornością.

1. **Strauss E**, Supiński W, Głuszek J, Pawlak AL. U chorych z miażdżycą tętnic wieńcowych i niewydolnością skurczowa lewej komory, szkodliwość palenia wiąże się z zaburzeniami metabolizmu homocysteiny. [In patients with coronary artery disease and left ventricular contractile insufficiency the pathogenicity of smoking associates with imbalance in metabolism of homocysteine]. *Przegl Lek.* **2006**; 63:951-956.

MNiSW 5

2. **Strauss E**, Radziemski A, Głuszek J, Pawlak A. Palenie tytoniu nasila obniżenie poziomu adiponektyny u osób z miażdżycą tętnic wieńcowych, nosicieli alleli *MTHFR 677T* i *PON1 55M* [Smoking enhances the decrease of adiponectin level in patients with coronary artery disease, carriers of *MTHFR 677T* and *PON1 55M* alleles]. *Przegl Lek.* **2010**;67:859-865.

MNiSW 6

B3. Genetyka nadciśnienia tętniczego i chorób z nim związanych

Poza paleniem tytoniu, istotną rolę w warunkowaniu CVD odgrywa nadciśnienie tętnicze. We współpracy z prof. Andrzejem Pawlakiem dokonałam analizy aktualnej literatury pod kątem badań genetycznych w zakresie nadciśnienia tętniczego i scharakteryzowałam znaczenie zmienności genetycznej i mutacji genów o kluczowym znaczeniu dla regulacji ciśnienia krwi dla farmakoterapii (**Publikacja 1**). Rola czynników genetycznych w patogenezie nadciśnienia tętniczego jest nie do przecenienia, gdyż ich udział szacowany jest na 50-70%. Z drugiej strony genetyczne cechy warunkujące wystąpienie nadciśnienia tętniczego nie są identyczne z cechami wpływającymi na podatność chorego na farmakoterapię. Postęp wiedzy w obu zakresach otwiera atrakcyjne perspektywy indywidualizacji i optymalizacji leczenia, a w perspektywie sprzyja prewencji powikłań narządowych nadciśnienia tętniczego. We wcześniejszej pracy badawczej podjęłam się analizy znaczenia genotypów polimorfizmu

inercyjno-delecynego genu konwertazy angiotensyny I (*ACE I/D*), kodującego białko silnie powiązane z funkcją serca i naczyń krwionośnych, dla występowania AAA (**Publikacja 2**). Na podstawie oceny grupy 47 chorych z prawidłowym ciśnieniem tętniczym, 65 z nadciśnieniem tętniczym i grupy kontrolnej liczącej 50 osób wykazałam związek allelu *ACE D* z rozwojem AAA u osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym.

1. Pawlak AL, **Strauss E**. Genetyka a leczenie nadciśnienia tętniczego. W: Współczesna terapia nadciśnienia tętniczego. Pod redakcją Jerzego Głuska; Wydawnictwo Termedia, Poznań, **2008** Rozdział 2;12-16. (ISBN 978-83-89825-03-2).

MNiSW 3

2. Waliszewski K, Słomski R, Jura J, Oszkinis G, Gabriel M, **Strauss E**, Pawlak AL. Zmiany częstości alleli i rozkładu genotypów genu ACE w populacji chorych na tętniaka aorty brzusznej. *Nowiny Lekarskie* **2003**, 12, 3, 169-175

MNiSW 2

B4. AAA-Meta GWAS

W ramach nawiązanej przeze mnie współpracy z AAA-Meta GWAS Consortium zgromadzone przeze mnie grupy chorych z AAA i kontrolna osób zdrowych z populacji polskiej zostały włączone do międzynarodowego projektu badań asocjacji na skale genomu dotyczących uwarunkowań AAA. Grupa ta posłużyła do przeprowadzenia badań replikacyjnych. W ramach projektu przygotowałam bank prób DNA, charakterystykę chorych oraz opis grup badanych. Również poszukałam partnera w obrębie AAA-Meta GWAS Consortium, który współfinansował i wykonał badania genetyczne. Celem prowadzonych badań było poszukiwanie dodatkowych loci ryzyka AAA przy użyciu danych ze wszystkich dostępnych badań GWAS. Wynikiem przeprowadzonych badań, które objęło łącznie grupę 10 204 chorych i 107 766 kontroli, była identyfikacja 4 nowych loci ryzyka AAA: 1q32.3 (SMYD2), 13q12.11 (LINC00540), 20q13.12 (w pobliżu PCIF1 / MMP9 / ZNF335) i 21q22.2 (ERG), specyficznych dla choroby. Wyniki te wskazywały, że tradycyjne czynniki ryzyka mogą mieć ograniczoną przydatność w ocenie ryzyka AAA. Wskazały one również na różnice populacyjne w uwarunkowaniach AAA.

1. Jones GT, Tromp G, Kuivaniemi H, Gretarsdottir S, Baas AF, Giusti B, **Strauss E**, Van't Hof FN, Webb TR, Erdman R, Ritchie MD, Elmore JR, Verma A, Pendergrass S, Kullo IJ, Ye Z, Peissig PL, Gottesman O, Verma SS, Malinowski J, Rasmussen-Torvik LJ, Borthwick KM, Smelser DT, Crosslin DR, de Andrade M, Ryer EJ, McCarty CA, Böttlinger EP, Pacheco JA, Crawford DC, Carrell DS, Gerhard GS, Franklin DP, Carey DJ, Phillips VL, Williams MJ, Wei W, Blair R, Hill AA, Vasudevan TM, Lewis DR, Thomson IA, Krysa J, Hill GB, Roake J, Merriman TR, Oszkinis G, Galora S, Saracini C, Abbate R, Pulli R, Pratesi C, Saratzis A, Verissimo AR, Bumpstead S, Badger SA, Clough RE, Cockerill G, Hafez H, Scott DJ, Futers TS, Romaine SP, Bridge K, Griffin KJ, Bailey MA, Smith A, Thompson MM, van Bockxmeer FM, Matthiasson SE, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Blankensteijn JD, Teijink JA, Wijmenga C, de Graaf J, Kiemeny LA, Lindholt JS, Hughes A, Bradley DT, Stirrups K, Golledge J, Norman PE, Powell JT, Humphries SE, Hamby SE, Goodall AH, Nelson CP, Sakalihasan N, Courtois A, Ferrell RE, Eriksson P, Folkersen L, Franco-Cereceda A, Eicher JD, Johnson AD, Betsholtz C, Ruusalepp A, Franzén O, Schadt

EE, Björkegren JL, Lipovich L, Drolet AM, Verhoeven EL, Zeebregts CJ, Geelkerken RH, van Sambeek MR, van Sterkenburg SM, de Vries JP, Stefansson K, Thompson JR, de Bakker PI, Deloukas P, Sayers RD, Harrison SC, van Rij AM, Samani NJ, Bown MJ. Meta-analysis of genome-wide association studies for abdominal aortic aneurysm identifies four new disease-specific risk loci. *Circ Res.* 2017;120(2):341-353. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308765.

IF 15.211; MNiSW 50

C. Techniki wewnątrznacyniowe i monitorowania chorych w leczeniu operacyjnym AAA

W rozszerzeniu zainteresowań przebiegiem i leczeniem AAA uczestniczyłam w badaniach dotyczących oceny aktualnych możliwości zastosowania technik wewnątrznacyniowych w rekonstrukcji łóżyska nacyniowego u chorych z AAA oraz monitorowania chorych po tego typu zabiegach. Znajomość wymienionego zagadnienia jest kluczowa dla planowania badań mających na celu poszukiwanie genetycznych czynników ryzyka i biomarkerów związanych z przebiegiem pooperacyjnym AAA. Wraz z rozwojem technik chirurgicznych zabiegi wewnątrznacyniowe zyskały na popularności, jako mniej obciążające dla chorego. Z drugiej strony niosą one jednak ryzyko powikłań w postaci przecieków protez nacyniowych (tzw. stentgraftów). W ramach badań wykonanych w obrębie tego zagadnienia przeprowadziłam analizę statystyczną, uczestniczyłam w interpretacji wyników, ocenie merytorycznej pierwotnego manuskryptu oraz procesie odpowiedzi na recenzje. Wyniki przeprowadzonych badań wskazały, że uwzględniając aktualną morfologię AAA jedynie 23% chorych kwalifikuje się do wszczepienia stentgraftów w optymalnych kryteriach implantacji (**Publikacja 1**). Fakt ten może przyczyniać się do relatywnie częstego występowania przecieków protez nacyniowych, z uwagi na wszczepianie stentgraftów w kryteriach suboptymalnych. Do najczęściej występujących odchyleń od kryteriów optymalnych należały niedopasowania w obrębie szyi proksymalnej AAA oraz obecność poszerzonych tętnic biodrowych.

Klasyczna ocena obecności i przebiegu przecieków protez nacyniowych w leczeniu wewnątrznacyniowym opiera się na ocenie wyników badań angiograficznej tomografii komputerowej, która jest obciążająca dla chorego z uwagi na użycie kontrastu. W badaniach przeprowadzonych we współpracy z prof. Marcinem Gabrielem i mgr Jolantą Tomczak uczestniczyłam w ocenie i charakterystyce przydatności do tego celu technik ultrasonograficznych, jako nieinwazyjnych, a przez to mniej obciążających dla chorego (**Publikacje 2 i 3**). Wyniki tych badań wydają się obiecujące. Niedogodnością w zakresie stosowania tego typu technik stanowią jednak ograniczenia w wyposażeniu sprzętowym ośrodków medycznych oraz brak dostatecznego doświadczenia personelu medycznego.

1. Dzieciuchowicz Ł, Tomczak J, **Strauss E**, Oszkinis G. Morphology-related limitations of EVAR applicability in the treatment of AAA in West-Central Poland. *Ann Vasc Surg.* **2018**. pii: S0890-5096(18)30311-X. doi: 10.1016/j.avsg.2018.02.032.

IF 1.363; MNiSW 20

2. Gabriel M, Tomczak J, Snoch-Ziółkiewicz M, Dzieciuchowicz Ł, **Strauss E**, Oszkinis G. Comparison of superb micro-vascular ultrasound imaging (SMI) and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) for detection of endoleaks after endovascular aneurysm repair (EVAR). *Am J Case Rep.* **2016**;17:43-46.

MNiSW 5

3. Gabriel M, Tomczak J, Snoch-Ziółkiewicz M, Dzieciuchowicz Ł, **Strauss E**, Pawlaczyk K, Wojtusik D, Oszkinis G. Superb micro-vascular Imaging (SMI): a Doppler ultrasound technique with potential to identify, classify, and follow up endoleaks in patients after endovascular aneurysm repair (EVAR). *Abdom Radiol (NY).* **2018**. doi: 10.1007/s00261-018-1633-x.

IF 1.506; MNiSW 25

D. Polimorfizmy genetyczne zasocjowane z podatnością do rozwoju wybranych chorób wywołanych przez wirusy i bakterie oraz przebieg farmakoterapii

Kolejnym zagadnieniem badawczym, które realizowałam w ramach współpracy z prof. Danutą Januszkiewicz-Lewandowską była analiza czynników ryzyka, w tym genetycznych, oddziałujących na wystąpienie i przebieg chorób powstających w wyniku infekcji wirusowych i bakteryjnych. Przedmiotem tych badań była ocena podatności do rozwoju przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby (WZW) typu C, wywołanego przez wirus HCV, przebiegu tej choroby i efektywności farmakoterapii (**Publikacje 1-4**). Analizowano także podatność genetyczną do wystąpienia zapalenia opon mózgowych u dzieci wywołane przez bakterie pneumo- i meningokoki (**Publikacja 5**).

Do najważniejszych wyników uzyskanych w ramach tego zagadnienia można zaliczyć wykazanie przez nas związku polimorfizmów interleukiny 10 (IL10) ze stopniem zaawansowania przewlekłego WZW typu C (ocenianego jako stopień zaawansowania stanu zapalnego w wątrobie i stopień jej zwłóknienia) oraz reakcją na leczenie (terapia oparta na interferonie). Podobnie wykazaliśmy asocjację polimorfizmu genu kodującego interleukinę 28B (IL28B) rs4803217 ze skutecznością leczenia interferonem w WZW typu C. Tym samym potwierdzono, znaczenie IL 10 i 28B, jako modulatorów odpowiedzi immunologicznej w WZW typu C i potencjalnych markerów prognostycznych. Kolejnym wynikiem, o potencjalnym znaczeniu klinicznym, było powiązanie eliminacji HCV-RNA podczas terapii przeciwwirusowej z uzyskaniem trwałej odpowiedzi wirusologicznej u chorych z przewlekłym WZW typu C leczonych interferonem. W zakresie badań nad zapaleniem opon mózgowych u dzieci wykazaliśmy, że dla 11 polimorfizmów w 7 genach kodujących białka zaangażowane w odpowiedź immunologiczną (*MBL2*, *CFH*, *CFHR3*, *TIRAP*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR9*), obecność ≥ 6 alleli rzadszych wiąże się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju zapalenia choroby wywołanej przez pneumokoki (8.4-krotnie). Podobnie, wykazaliśmy, że łączny wpływ wszystkich trzech badanych SNP w genie *MBL2* poprawia predykcję podatności na zapalenie pneumokokami.

Wyniki te wskazują na addytywność efektów badanych polimorfizmów w odniesieniu do podatności do zakażeń bakteryjnych wywołujących zapalenie opon mózgowych u dzieci.

1. Świątek-Kościelna B, Kałużna E, Januszkiewicz-Lewandowska D, Rembowska J, Mozer-Lisewska I, Bereszyńska I, Nowak T, Czubała K, Dziechciowska K, Barcińska D, **Strauss E**, Wysocki J, Nowak J. Eliminacja HCV-RNA podczas terapii przeciwwirusowej a uzyskanie trwałej odpowiedzi wirusologicznej u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C leczonych pegylowanym interferonem alfa i rybawiryną. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce. Nauki medyczne i nauki o zdrowiu. Tom I. Monografie 2015 (7)*, ISBN: 978-83-65362-04-9, Poznań **2015**: 158-164

MNiSW points: 4

2. Świątek-Kościelna B, Kałużna E, Rembowska J, Januszkiewicz-Lewandowska D, Mozer-Lisewska I, Bereszyńska I, Nowak T, Czubała K, Dziechciowska K, Barcińska D, **Strauss E**, Wysocki J, Nowak J. Polimorfizm IL-10-1082A/G (rs1800896) u polskich chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce. Nauki medyczne i nauki o zdrowiu. Tom I. Monografie 2015 (7)*, ISBN: 978-83-65362-04-9, Poznań **2015**, 150-157.

MNiSW points: 4

3. Świątek-Kościelna B, Kałużna E, **Strauss E**, Januszkiewicz-Lewandowska D, Bereszyńska I, Wysocki J, Rembowska J, Barcińska D, Antosik D, Mozer-Lisewska I, Nowak J. Interleukin 10 gene single nucleotide polymorphisms in Polish patients with chronic hepatitis C: analysis of association with severity of disease and treatment outcome. *Hum Immunol* **2017**;78(2):192-200.

IF 1.994; MNiSW points: 20

4. Świątek-Kościelna B, Kałużna E, **Strauss E**, Nowak J, Bereszyńska I, Gowin E, Wysocki J, Rembowska J, Barcińska D, Mozer-Lisewska I, Januszkiewicz-Lewandowska D. Prevalence of IFNL3 rs4803217 single nucleotide polymorphism and clinical course of chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* **2017**; 23(21): 3815-3824

IF 3.300; MNiSW points: 25

5. Gowin E, Świątek-Kościelna B, Kałużna E, **Strauss E**, Wysocki J, Nowak J, Michałak M, Januszkiewicz-Lewandowska D. How many SNPs must be tested in order to prove susceptibility to bacterial meningitis in children? Analysis of eleven SNPs in five genes involved in the immune response and their effect on the susceptibility to bacterial meningitis in children. *Innate Immunity*, **2018**, 24(3), 163-170

IF 2.312; MNiSW points: 25

E. Polimorfizmy genetyczne zasocjowane z występowaniem i leczeniem nowotworów

Prowadząc badania naukowe w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu uczestniczyłam również w pracach z zakresu onkologii molekularnej. Badania, w których brałam udział, we współpracy z prof. Danutą Januszkiewicz-Lewandowską, dr Agnieszką Dzikiewicz-Krawczyk oraz mgr Ewelina Kałużną, dotyczyły oceny genetycznych uwarunkowań chorób hematologicznych: białaczki limfoblastycznej i mieloidalnej oraz wpływu czynników genetycznych na toksyczność farmakoterapii metotreksatem, który jest lekiem cytostatycznym, antagonistą FA. Brałam udział w doświadczeniach, które wykazały

asocjację polimorfizmów miejsc wiązania mikroRNA w regionie 3'UTR genów związanych z rozwojem białaczek u dzieci i dorosłych oraz potwierdziły ich możliwe znaczenie funkcjonalne (**Publikacja 1**). W badaniach prowadzonych pod kierunkiem prof. Danuty Januszkiewicz-Lewandowskiej wykazaliśmy związek haplotypu *MTHFR* rs1801133T-rs1801131C (677T-1298C) z występowaniem ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci (**Publikacja 2**) oraz allelu rs1801133T (677T) samodzielnie, bądź w haplocie z allelem rs1801131C (1298C) z wolniejszym usuwaniem metotreksatu stosowanego w leczeniu tej choroby, a tym samym większym ryzykiem powstania niepożądanych efektów tego leczenia (**Publikacja 3**). Z kolei badania, w których brałam udział we współpracy z dr Iwoną Ziółkowską-Suchanek dotyczyły analizy genów związanych z rakiem płuca, a ich wynikiem był opisany związek genu *IREB2*, zaangażowanego w regulację homeostazy żelaza u ssaków, z występowaniem tej choroby w populacji polskiej (**Publikacja 4**).

1. Dzikiewicz-Krawczyk A, Macieja A, Ma Y E, Januszkiewicz-Lewandowska D, Mosor M, Fichna M, **Strauss E**, Nowak J. Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding. *J Hematol Oncol.* **2014**;7(1):43.

IF 4.812; MNiSW 35

2. Kałużna E, **Strauss E**, Zając-Spychała O, Gowin E, Świątek-Kościelna B, Nowak J, Fichna M, Mankowski P, Januszkiewicz-Lewandowska D. Functional variants of gene encoding folate metabolizing enzyme and methotrexate-related toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Pharmacol.* **2015**;769:93-99. doi:10.1016/j.ejphar.2015.10.058.

IF 2.730; MNiSW 25

3. Kałużna EM, **Strauss E**, Świątek-Kościelna B, Zając-Spychała O, Gowin E, Nowak JS, Rembowska J, Januszkiewicz-Lewandowska D. The methylenetetrahydrofolate reductase 677T-1298C haplotype is a risk factor for acute lymphoblastic leukemia in children. *Medicine*, **2017**, 96(51), e9290.

IF 2.028; MNiSW 35

4. Ziółkowska-Suchanek I, Mosor M, Gabryel P, Grabicki M, Żurawek M, Fichna M, **Strauss E**, Batura-Gabryel H, Dyszkiewicz W, Nowak J. Susceptibility loci in lung cancer and COPD: association of *IREB2* and *FAM13A* with pulmonary diseases. *Sci Rep.* **2015**;5:13502. doi: 10.1038/srep13502.

IF 5.228; MNiSW 40

Nowe kierunki badawcze

Uzupełnieniem do prowadzonych obecnie badań jest szersza ocena powiązań pomiędzy genami kodującymi selenoproteiny i poziomami selenoprotein a występowaniem PAD i wartościami indeksu kostka-ramię (ABI), jako parametru opisującego stopień zaawansowania PAD. Wyniki wstępne z tego zakresu badań wskazują na silny związek pomiędzy wariantami wymienionych genów oraz cukrzycą a występowaniem i stopniem zaawansowania PAD i były referowane przeze mnie w trakcie zjazdu ESVS w 2018 roku. Kontynuacją tej tematyki jest ocena roli wymienionych genów w warunkowaniu powstawania i opóźnionego gojenia ran

niedokrwienych u chorych z PAD. Jednocześnie zaangażowana jestem w prospektywną obserwację blisko 400 chorych z małym AAA (<55 mm) pod kątem tempa wzrostu AAA. Od badanych chorych deponowany jest materiał do analiz genetycznych i badań biomarkerów we krwi. Podobnie zaangażowana jestem w gromadzenie i charakterystykę grup chorych z tętniakiem aorty piersiowej do dalszych analiz genetycznych.

W chwili obecnej zakończyłam koordynację zadań badawczych przypisanych do UMP w ramach projektu badawczego INNOMED o akronimie MEDPIG (*Opracowanie innowacyjnej technologii wykorzystania tkanek transgenicznych świń dla celów biomedycznych*, INNOMED/I/17/NCBR/2014INNOMED), które dotyczyły opracowania możliwości leczenia chorób naczyń człowieka w oparciu o naczynia świń posiadających geny układu odpornościowego człowieka. W ramach tego projektu koordynowałam oraz uczestniczyłam w pracach nad charakterystyką histologiczną i biomechaniczną naczyń i skóry świń transgenicznych w skali makro oraz nano (z użyciem metody nanoidentacji), badaniach funkcjonalnych *in vivo* naczyń świń transgenicznych oraz eksperymentach medycznych mających na celu zastosowanie skóry świń transgenicznych w leczeniu ran niedokrwienych u chorych z PAD po zabiegu rewaskularyzacji. Do realizowanych zadań o charakterze molekularnym należały m.in. analiza porównawcza zmienności genetycznej u zwierząt transgenicznych i kontrolnych, całogenomowa ocena ekspresji genów w komórkach śródbłonna świń transgenicznych dla oceny stopnia ich immunogenności w stosunku do tkanek człowieka na poziomie molekularnym. Część badawcza projektu aktualnie dobiegła końca i obecnie zajmuję się ostateczną oceną uzyskanych wyników w celu przygotowania publikacji. W podobnym zakresie badawczym, kontynuuje również prace nad przydatnością komercyjnie dostępnych materiałów biologicznych (acelularnego osierdzia wołowego), jako zastępczych w zakażeniach protez naczyniowych. W ramach kierowanej przeze mnie Pracowni Badań Podstawowych i Medycyny Translacyjnej w Chorobach Naczyń UMP prowadzę obserwację prospektywną dotyczącą przebiegu klinicznego u chorych po zabiegach naprawczych, wykonanych z powodu zakażenia protez naczyniowych.

Z ramienia UMP uczestniczę również w realizacji dwóch kolejnych projektów badawczych. Jako specjalista ds. biologii molekularnej zaangażowana jestem w projekt badawczy NCBiR (szybka ścieżka nr projektu: POIR.01.01.01-00-0703/16) *Nowy wyrób medyczny wychytujący specyficzne biomarkery służące do wczesnego wykrywania chorób sercowo-naczyniowych*, którego celem jest opracowanie detektora krążących komórek śródbłonna, jako narzędzia do oceny ryzyka nagłego zgonu sercowo-naczyniowego. Projekt ten realizowany jest m.in. w oparciu o wyniki badań własnych, które uzyskałam we współpracy z Uniwersytetem Medycznym Charité w Berlinie.

W drugim projekcie jestem aktywna, jako ekspert ds. biostatystyki (Program Operacyjny Inteligentny Rozwój 2014-2020; nr projektu: POIR.02.01.00-00-0039/17: pt. „*Ośrodek Badań i Rozwoju nad innowacyjnymi rozwiązaniami ochrony zdrowia dla potrzeb nowoczesnych systemów i usług e-medycznych.*”) i uczestniczę w realizacji Modułu Badawczego nr 1 – *Badania i rozwój inteligentnych metod wizyjnych i sygnałowych w wewnątrznacyniowych zabiegach naprawczych aorty i naczyń obwodowych*. Projekt ten dotyczy ustanowienia i rozwoju ośrodka do kształcenia kadry medycznej w zakresie stosowania technik wewnątrznacyniowych w leczeniu AAA, w tym doboru odpowiednich protez nacyniowych. Do moich zadań należy opracowanie algorytmów dotyczących wpływu uznanych czynników ryzyka CVD i chorób współistniejących na powodzenie zabiegów implantacji określonych typów stentgraftów.

Poza wymienionymi projektami badawczymi, w ramach współpracy z Politechniką Poznańską i Uniwersytetem Medycznym Karolińska w Sztokholmie, uczestniczę w realizacji badań nad opracowaniem programów komputerowych do wykonywania automatycznej analizy wytrzymałości biomechanicznej ściany aorty. Analizy te wykonywane są na podstawie opracowania zindywidualizowanych modeli tętniaków (wykonania rekonstrukcji 3D AAA) z użyciem wyników badań obrazowych. Podejście matematyczne opiera się w tym przypadku na zastosowaniu analizy elementów skończonych (ang. *finite elements analysis*, FEM). W trakcie kilkukrotnych pobytów badawczych na Uniwersytecie Karolińska opracowałam modele AAA u chorych z populacji polskiej, analizowanych w ramach badań meta-GWAS dla AAA. Celem tych prac jest ocena korelacji pomiędzy zmiennością genetyczną a parametrami biomechanicznymi ściany aorty. Tego typu podejścia służą do opracowania metod pozwalających na bardziej precyzyjne oszacowanie ryzyka pęknięcia AAA, w stosunku do analizy średnicy worka tętniaka.

Podsumowanie dorobku

Jestem autorką 38 publikacji naukowych (oraz dodatkowo 2 w suplementach czasopism), brałam lub biorę udział w realizacji 16 projektów badawczych oraz jestem zaangażowana w liczne współprace naukowe krajowe i zagraniczne. Otrzymałam 14 nagród, w tym zagranicznych, za prowadzoną działalność naukową. W czasie mojej pracy naukowej opiekowałam się 7 magistrantami, a także jestem promotorem pomocniczym jednej pracy doktorskiej.

Szczegółowy wykaz opublikowanych prac naukowych wraz z informacją o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki stanowi odrębny załącznik (nr 5) do Wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

Poznań, dnia 15.09.2018


.....

Podpis