

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko.

Anna Balcerzyk

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

- 1997 r. – uzyskanie tytułu magistra biologii na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, na podstawie pracy magisterskiej pt "Analiza sprzężeń wybranych loci izoenzymatycznych u jęczmienia", wykonanej w Katedrze Genetyki
- 2006 r. – uzyskanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna, na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Warianty polimorficzne genów dla białek metabolizmu lipidów u pacjentów z miażdżycopochodną chorobą niedokrwinną serca oraz u dobrowolnych dawców krwi ze Śląska”. Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląska Akademia Medyczna w Katowicach - *rozprawa wyróżniona*

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

- 1996 - 1997 Uniwersytet Śląski w Katowicach, Katedra Genetyki,
praca w ramach umowy zlecenia
- 1999 - 2000 Uniwersytet Śląski w Katowicach, Katedra Genetyki,
stanowisko: *asystent*
- 2000 - 2001 Śląska Akademia Medyczna w Katowicach
Zakład Chemii i Biochemii Ogólnej, Wydział Lekarski,
stanowisko: *starszy referent techniczny*
- 2001 – 2008 Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Wydział Opieki i Oświaty Zdrowotnej (od 2005 nazwa zmieniona na Wydział Opieki Zdrowotnej), Katedra i Zakład Biochemii i Genetyki Medycznej,
stanowisko: *asystent*

- 2008 – 2015 Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Opieki Zdrowotnej (od 2012 nazwa zmieniona na Wydział Nauk o Zdrowiu) Zakład Biochemii i Genetyki Medycznej, stanowisko: *adiunkt*

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

a) Cykl publikacji pod wspólnym tytułem:

„Ocena wariantów polimorficznych wybranych genów u dzieci po przebytych udarze niedokrwiennym mózgu”

Łączna wartość prac objętych cyklem: **IF=7.141, MNiSW=117.**

b) Wykaz publikacji:

1. **Balcerzyk A**, Niemiec P, Kopyta I, Emich-Widera E, Pilarska E, Pienczk-Ręćławowicz K, Kaciński M, Wendorff J, Zak I. Methylenetetrahydrofolate reductase gene A1298C polymorphism in pediatric stroke – case-control and family based study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2015; 24: 61-65. [**IF=1.669 MNiI=20**]

Wkład habilitanta - decydujący udział w tworzeniu koncepcji i planu badań, przeprowadzeniu analiz genetycznych (izolacja DNA, genotypowanie), analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, byłam również autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

2. **Balcerzyk A**, Nowak M, Kopyta I, Emich-Widera E, Pilarska E, Pienczk-Ręćławowicz K, Kaciński M, Wendorff J, Zak I. Impact of the -174G/C interleukin-6 (IL-6) gene polymorphism on the risk of paediatric ischemic stroke, its symptoms and outcome. *Folia Neuropathol.* 2012; 50: 147-151. [**IF=1,547 MNiI=20**]

Wkład habilitanta - decydujący udział w tworzeniu koncepcji i planu badań, przeprowadzeniu analiz genetycznych (izolacja DNA, genotypowanie), analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, byłam również autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

3. **Balcerzyk A**, Zak I, Emich-Widera E, Kopyta I, Iwanicki T, Pilarska E, Pienczk-Ręclawowicz K, Kaciński M, Wendorff J, Połatyńska K. The plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism in determining the risk of pediatric ischemic stroke - case control and family-based study. *Neuropediatrics*. 2011; 42:67-70.

[IF=0,937 MNiI=25]

Wkład habilitanta - decydujący udział w tworzeniu koncepcji i planu badań, przeprowadzeniu analiz genetycznych (izolacja DNA, genotypowanie), analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, byłam również autorem korespondencyjnym . Mój udział procentowy szacuję na 70%.

4. **Balcerzyk A**, Zak I, Niemiec P, Kopyta I, Emich-Widera E, Iwanicki T, Pilarska E, Pienczk-Reclawowicz K, Kacinski M, Wendorff J, Jachowicz-Jeszka J. *APOE* gene epsilon polymorphism does not determine predisposition to ischemic stroke in children. *Pediatr Neurol*. 2010; 43: 25-28. **[IF=1,513, MNiI=27]**

Wkład habilitanta - decydujący udział w tworzeniu koncepcji i planu badań, przeprowadzeniu analiz genetycznych (izolacja DNA, genotypowanie), analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników, analizie piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, byłam również autorem korespondencyjnym. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

5. Kopyta I, Emich-Widera E, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Zak I, Pilarska E, Kaciński M, Wendorff J, Nowak T, Iwanicki T, Pienczk-Ręclawowicz K, Pałatyńska K. Polymorphisms of genes encoding coagulation factors II, V, VII, and XIII in relation to pediatric ischemic stroke: family-based and case-control study. *Neurologist*. 2012; 18: 282-286. **[IF=1,475 MNiI=25]**

Wkład habilitanta - znaczący udział w tworzeniu koncepcji i planu badań, przeprowadzeniu analiz genetycznych (izolacja DNA, genotypowanie), udział w analizie statystycznej, interpretacji otrzymanych wyników oraz redakcji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 20%.

* załączono oświadczenia wszystkich współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie każdej publikacji

c) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Cel naukowy

Udar niedokrwienny mózgu u dzieci jest jedną z dziesięciu najważniejszych przyczyn zgonów w tej grupie wiekowej. Choć choroba ta występuje znacznie rzadziej u dzieci niż u dorosłych (1.2 - 8/100 000/rok, w zależności od populacji) [1], pozostaje ważnym problemem medycznym, ponieważ u 50-85% dzieci obserwuje się długoterminowe deficyty neurologiczne, natomiast 20-40% pacjentów przechodzi powtórny udar [2]. Patogeneza i czynniki ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci są wciąż znacznie mniej poznane niż u dorosłych. Czynniki predysponującymi do choroby są m.in. wrodzone wady serca, zapalenie opon mózgowych czy niedokrwistość sierpowatokrwinkowa, jednak przyczyna około 50% udarów dziecięcych jest niepewna i prawdopodobnie jest związana ze współdziałaniem wielu czynników ryzyka, zarówno genetycznych, jak i środowiskowych. Badania nad genetycznym podłożem udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci znajdują się ciągle w początkowej fazie.

Dlatego też celem cyklu prac była analiza związków pomiędzy udarem niedokrwiennym mózgu u dzieci, a polimorfizmami wybranych genów, których produkty mogą mieć znaczenie w patogenezie choroby. W celu zgromadzenia możliwie jak największej grupy pacjentów Zakład Biochemii i Genetyki Medycznej podjął współpracę z 4 wiodącymi krajowymi ośrodkami zajmującymi się neurologią dziecięcą. Zgromadzono dane kliniczne oraz materiał biologiczny 88 dzieci po udarze niedokrwiennym mózgu, 162 biologicznych rodziców tych dzieci oraz 149 dzieci kontrolnych. Badania przeprowadzono przy użyciu dwóch modeli badawczych: pierwszym była klasyczna analiza kliniczno-kontrolna (case-control), drugim - wewnątrzrodzinny test powiązań TDT (transmission disequilibrium test). Pierwsza metoda stosowana jest tradycyjnie w badaniach związków pomiędzy polimorfizmami a chorobą, jednak wymaga starannego dobrania grupy kontrolnej, gdyż ma to decydujące znaczenie dla uzyskanych wyników. Metoda TDT pozwala uniknąć błędów związanych z doбором grupy kontrolnej, ponieważ opiera się na analizie przekazywania alleli choremu potomstwu przez heterozygotycznych rodziców. Metoda ta wydaje się dostarczać bardziej wiarygodnych wyników, jednak jest rzadko stosowana ze względu na większe koszty, czasochłonność oraz trudności w pozyskaniu materiału biologicznego od obojga rodziców. Analizując etiologię udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci wybrano 4 grupy

genów, które jak podejrzewano, mogą być związane z predyspozycją do choroby. Były to geny związane z krzepnięciem i fibrynolizą, metabolizmem lipidów, metabolizmem homocysteiny oraz stanem zapalnym.

Analiza genów związanych z krzepnięciem i fibrynolizą.

Zaburzenia krzepnięcia obserwuje się u znacznego odsetka (20-50%) dzieci po udarze niedokrwiennym mózgu [3]. Dlatego też polimorfizmy genów związanych z krzepnięciem i fibrynolizą stały się jednym z głównych przedmiotów opisywanych badań. Analizowano polimorfizmy genów dla czynników krzepnięcia FII (rs1799963), FV (rs6025), FVII (rs6046) oraz FXIII (rs5985) [publikacja 5]. Protrombina (FII) jest zymogenem trombiny – proteazy serynowej, która katalizuje przekształcanie fibrynogenu w fibrynę. Polimorfizm 20210 (G>A) genu *FII* jest związany z podwyższonym poziomem protrombiny [4]. Czynniki V i VIII są proenzymami przekształcanymi w aktywne formy przez trombinę, a następnie pełniącymi rolę kofaktora czynnika X krzepnięcia, kluczowego dla przekształcania protrombiny w trombinę. Mutacja Leiden w pozycji 1691 (G>A) genu *FV* związana jest z opornością na aktywowane białko C - fizjologiczny antykoagulant [5]. Czynniki VII i XIII są kolejnymi zymogenami kaskady krzepnięcia, które po aktywacji współdziałają z czynnikami tkankowymi TF i inicjują proces krzepnięcia krwi poprzez cięcie czynników FX i FIX. Polimorfizm R353Q (G>A) genu *FVII* jest związany z poziomem kodowanego białka w osoczu [6]. Czynniki V i VIII są proenzymami, przekształcanymi w aktywne formy w końcowym etapie kaskady krzepnięcia. Ich aktywne formy tworzą wiązania między cząsteczkami fibryny, stabilizując skrzep. Poza genami czynników krzepnięcia analizowano także polimorfizm genu *PAI-1* (inhibitor aktywatora plazminogenu, ang. plasminogen activator inhibitor-1) [publikacja 3]. Białko kodowane przez ten gen jest głównym inhibitorem fibrynolizy, a region promotorowy genu *PAI-1* zawiera insercyjno-delecyjny polimorfizm, który wpływa na transkrypcję tego genu, a także na aktywność inhibitora w osoczu [7]. Warianty genetyczne opisanych powyżej genów wpływają na poziom czynników krzepnięcia i inhibitorów w osoczu lub oporność na antykoagulanty, dlatego mogą mieć znaczący udział w kształtowaniu ryzyka zakrzepicy oraz udaru niedokrwiennego mózgu, co obserwowano w przypadku niektórych badań u dorosłych i dzieci [8-10].

Analiza genów związanych z metabolizmem lipidów.

Drugą grupę badanych genów stanowiły geny związane z metabolizmem lipidów **[publikacja 4]**. Wcześniejsze badania dzieci po udarze, przeprowadzone w populacji Polskiej [11] wykazały, że u 70% z nich występują zaburzenia lipidowe. Młody wiek pacjentów sugeruje, że zaburzenia te są wywołane raczej przez czynniki genetyczne niż środowiskowe. Jednym z najważniejszych białek regulujących transport lipidów osocza oraz ich usuwanie jest apolipoproteina E, kodowana przez gen *APOE*. Szczególne zainteresowanie tym genem wynikało również z faktu, że apolipoproteina E jest także syntetyzowana w mózgu i stanowi ważny składnik lipoprotein płynu mózgowo-rdzeniowego. Gen *APOE* może występować w postaci 3 alleli: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$, kodując 3 izoformy, które różnią się powinowactwem do receptora, innych białek i cząsteczek fosfolipidów. Polimorficzne allele silnie wpływają na poziom lipidów osocza. Allel $\epsilon 4$ związany jest z podwyższonym stężeniem cholesterolu całkowitego oraz LDL, podczas gdy allel $\epsilon 2$ ma efekt przeciwny [12].

Analiza genów związanych z metabolizmem homocysteiny.

Ocenia się, że łagodna hiperhomocysteinemia około 4-krotnie zwiększa ryzyko choroby niedokrwiennej mózgu u dzieci [13]. Prawdopodobnie homocysteina może predysponować do udaru wpływając szkodliwie na funkcjonowanie komórek endotelialnych naczyń krwionośnych, a także poprzez swoje prozakrzepowe właściwości. Te drugie wynikają z wpływu homocysteiny na funkcje płytek krwi oraz aktywację krzepnięcia i zaburzenie fibrynolizy [14]. Jednym z głównych enzymów metabolizmu homocysteiny jest reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (*MTHFR*). Popularny polimorfizm C677T genu *MTHFR*, powoduje powstanie termolabilnej formy enzymu o obniżonej aktywności, co prowadzi do łagodnej hiperhomocysteinemii [15]. Inny powszechny wariant tego genu A1298C, według niektórych badaczy, jest także związany z obniżoną aktywnością enzymu. Część naukowców stwierdziła również związek pomiędzy udarem mózgu u dorosłych a polimorfizmami C677T oraz A1298C, obserwowano także synergiczne współdziałanie tych dwóch polimorfizmów [16]. Polimorfizm C677T był również intensywnie badany u dzieci po udarze, a meta-analiza obejmująca 822 pacjentów i 1,552 kontroli potwierdziła jego związek z chorobą (OR=1,57) [17]. Wyniki dotyczące polimorfizmu A1298C w tej grupie wiekowej są stosunkowo nieliczne, a badania często przeprowadzane były na bardzo małych grupach i dostarczają sprzecznych wyników. Dlatego też postanowiono przeprowadzić analizę tego polimorfizmu w kontekście udaru mózgu u dzieci, a także zbadać możliwe interakcje

pomiędzy polimorfizmem A1298C oraz badanym wcześniej polimorfizmem C677T **[publikacja 1]**.

Analiza genów związanych ze stanem zapalnym.

Ostatni gen, analizowany w ramach badań opisanych w przedstawionym cyklu, należy do grupy genów związanych ze stanem zapalnym **[publikacja 2]**. Istnieją dowody na to, że niektóre cytokiny prozapalne, takie jak interleukina-6 (IL-6), mają związek z występowaniem i przebiegiem udaru mózgu u dorosłych. Już w pierwszych godzinach po udarze obserwuje się znaczący wzrost poziomu IL-6 w surowicy. Poziom IL-6 jest znacząco związany ze stopniem uszkodzenia mózgu, nasileniem udaru i następstwami neurologicznymi [18]. Polimorfizm 174G>C promotora genu *IL-6* związany jest z poziomem wydzielanej cytokiny, a niektóre badania wykazały również związek tego polimorfizmu z wystąpieniem udaru mózgu u dorosłych [19]. W niniejszych badaniach analizowano więc zarówno związek polimorfizmu genu *IL-6* z wystąpieniem udaru niedokrwienego mózgu u dzieci, jak i z jego objawami i następstwami.

Wszystkie polimorfizmy były genotypowane metodą RFLP (ang. restriction fragment length polymorphism, polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych). Uzyskane dane analizowano przy użyciu programów Statistica 7.1 oraz EpiInfo 6.

Uzyskane wyniki

Geny związane z krzepnięciem i fibrynolizą.

Zaobserwowano tendencję do rzadszego występowania allelu Q oraz nosicieli tego allelu (gen *FVII*) w grupie pacjentów, w porównaniu z kontrolą **[publikacja 5]**. Różnice te nie były istotne statystycznie, chociaż znajdowały się na granicy istotności. Wcześniejsze badania wykazały, że allel Q jest związany z obniżonym poziomem czynnika FVII [20], co mogłoby wyjaśniać ochronny charakter tego allelu w kontekście epizodów zakrzepowych i niedokrwienych.

Wyniki naszych badań nie potwierdziły związku allelu A genu protrombiny (*FII*) z chorobą w modelu case-control. W teście rodzinnym stwierdzono natomiast, że allel A był dwukrotnie częściej przekazywany przez rodziców chorym dzieciom niż allel G, jednak bardzo niska częstość heterozygot (2,5%) sprawia, że trudno wyciągnąć na podstawie tego wyniku wiarygodne wnioski. Polimorfizm 20210 (G>A) genu *FII* był uprzednio wiązany z

zakrzepicą żylną i udarem niedokrwiennym mózgu zarówno u dzieci jak i dorosłych, jednak wyniki meta-analizy [20] przeprowadzonej na dużej grupie pacjentów i osób kontrolnych (3,235 vs 9,019), pokazują, że ryzyko udaru związane z allelem 20210A jest niewielkie i nieistotne statystycznie (OR=1.1, 95%CI: 0.51-2.34). Wydaje się więc, że uzyskane przeze mnie wyniki są zgodne z ogólną tendencją.

Nie potwierdziliśmy również związku pomiędzy mutacją Leiden genu *FV*, a ryzykiem udaru. Mutacja ta była wcześniej intensywnie badana, przy czym allel A, determinujący oporność na aktywowane białko C, był wiązany z zakrzepicą żylną, przemijającym atakiem niedokrwiennym (TIA, ang. Transient Ischemic Attack) oraz udarem niedokrwiennym mózgu u dzieci i dorosłych. W świetle tych doniesień nasze wyniki są nieco zaskakujące, ponieważ obserwowano tendencję do częstszego występowania heterozygot GA w grupie kontrolnej niż wśród pacjentów. Ten trend potwierdzono w teście TDT, ponieważ rodzice częściej przekazywali chorym dzieciom allel G niż allel A (choć różnica ta nie była istotna statystycznie). Powodem uzyskania takiego wyniku może być jednak niska częstość mutacji Leiden w badanej populacji (0.6% w grupie pacjentów i 2.7% w grupie kontrolnej).

Analiza polimorfizmu V34L genu *FXIII* nie wykazała związku tego wariantu polimorficznego z chorobą. Choć zaobserwowano różnice pomiędzy częstościami nosicieli allelu L pomiędzy chłopcami i dziewczynkami trudno wysnuć tu daleko idące wnioski, ponieważ podgrupy były małe liczebnie, a różnica była bliska granicy istotności ($p=0,04$). Nie stwierdzono również związku pomiędzy polimorfizmem 4G/5G genu *PAI-I* a udarem niedokrwiennym mózgu u dzieci [**publikacja 3**].

Geny związane z gospodarką lipidową.

Przeprowadzone badania, dotyczące polimorfizmu genu *APOE*, wskazują na tendencję do częstszego występowania homozygot $\epsilon_4\epsilon_4$ oraz rzadszego występowania heterozygot $\epsilon_3\epsilon_4$ wśród pacjentów, w porównaniu z kontrolą (5,56% vs. 1,41% dla $\epsilon_4\epsilon_4$ oraz 8,33% vs. 15,49% dla $\epsilon_3\epsilon_4$) [**publikacja 4**]. Prawdopodobnie ze względu na stosunkowo niskie częstości genotypów, różnice te nie były jednak istotne statystycznie. Podobne różnice obserwowano wcześniej w populacji Polskiej, u osób dorosłych po przebytych udarach [21]. Obserwowany trend wymaga potwierdzenia na większej grupie pacjentów, jednak fakt, że rozkład genotypów w grupie pacjentów nie był zgodny z równowagą Hardy-Weinberga może wskazywać na specyficzną selekcję określonych genotypów u chorych dzieci. Warto zwrócić uwagę zwłaszcza na wysoką częstość homozygot $\epsilon_4\epsilon_4$ wśród pacjentów (5,56%), jako, że

genotyp ten jest bardzo rzadki w populacji Polskiej. W naszych wcześniejszych badaniach, wśród 180 dobrowolnych dawców krwi nie stwierdzono występowania takiego genotypu, natomiast w badaniu przeprowadzonym przez inny zespół wśród 170 losowo wybranych osób tylko jedna była homozygotą $\epsilon\epsilon$ [22,23]. Wcześniejsze badania 529 dorosłych pacjentów po udarze wykazały, że zwiększona dawka allelu ϵ była związana ze zwiększonym przeżyciem [24]. Jeśli ta sama zasada dotyczyłaby dzieci po udarze, mogłoby to częściowo wyjaśniać zwiększoną częstość homozygot $\epsilon\epsilon$ wśród młodych pacjentów.

Geny związane z metabolizmem homocysteiny.

Analiza TDT polimorfizmu A1298C genu *MTHFR* wykazała tendencję do częstszego przekazywania allelu A przez heterozygotycznych rodziców chorym dzieciom, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie [**publikacja 1**]. Wynik uzyskany w teście TDT został potwierdzony w analizie case-control. Chociaż obserwowano tendencję do częstszego występowania allelu A oraz genotypu AA w grupie chorych, w porównaniu z kontrolą, różnice te również nie były istotne statystycznie. Nie stwierdzono także efektu synergicznego pomiędzy polimorfizmami A1298C oraz C677T. Jedynie różnica w częstości genotypu AC+CC (A1298C + C677T) była na granicy znamienności statystycznej, co prawdopodobnie było konsekwencją różnic w częstościach genotypu CC polimorfizmu C677T. Zamiarem autorów było również przeprowadzenie meta-analizy wyników innych prac dotyczących związku polimorfizmu A1298C genu *MTHFR* z udarem niedokrwiennym mózgu u dzieci. Szczegółowa analiza danych wykazała jednak, że analizowane grupy są bardzo mocno zróżnicowane etnicznie, a więc przeprowadzona meta-analiza nie pozwoliłaby na uzyskanie wiarygodnych wyników. Porównano jednak szczegółowo 7 badań i wyłoniono 2 z nich, w których stwierdzono związek pomiędzy polimorfizmem a chorobą. W pracach tych badane grupy były bardzo niewielkie, heterogenne etnicznie, nie posiadały grupy kontrolnej lub wybór grupy kontrolnej budził duże wątpliwości. Wydaje się więc, że zarówno nasze badania, jak i wiarygodne badania innych naukowców wskazują na brak związku polimorfizmu A1298C genu *MTHFR* z udarem niedokrwiennym mózgu u dzieci.

Geny związane ze stanem zapalnym.

Analiza polimorfizmu 174G>C genu *IL-6* nie wykazała istotnych statystycznie różnic w przekazywaniu alleli przez rodziców chorym dzieciom [**publikacja 2**]. Nie stwierdzono także znamiennych różnic w częstościach genotypów i alleli pomiędzy pacjentami, a grupą

kontrolną. Obserwowano jedynie tendencję do częstszego przekazywania allelu C w teście TDT oraz do częstszego występowania allelu C i homozygot CC u dzieci z udarem. Analiza objawów klinicznych oraz następstw udaru wykazała, że wystąpienie padaczki poudarowej było zależne od genotypu. Wszystkie dzieci z epilepsją były nosicielami allelu G. Żadne z nich nie posiadało genotypu CC, podczas gdy aż 25% dzieci bez padaczki było homozygotami CC ($\chi^2 = 4,01$, $P = 0,045$). Badania na zwierzętach pokazują, że poziom IL-6 może być związany z epilepsją. Transgeniczne myszy, których astrocyty produkowały większe ilości IL-6, charakteryzowały się zwiększoną predyspozycją do drgawek indukowanych przez niskie dawki kwasu kainowego [25]. Badania kliniczne również potwierdzają znaczenie zapalenia w patofizjologii padaczki u ludzi. Uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, np. na skutek udaru, uważane są za ważny czynnik ryzyka rozwoju padaczki, natomiast długotrwały stan zapalny rozwija się właśnie po takich epizodach. Co więcej, mająca miejsce w astrocytach, nadekspresja cytokin, takich jak TNF- α lub IL-6 powoduje zależny od wieku rozwój dysfunkcji neurologicznych, obejmujących także drgawki. Przeciwpadaczkowa aktywność wybranych leków przeciwzapalnych wydaje się potwierdzać rolę zapalenia w patofizjologii padaczki [26].

Rola polimorfizmu genu *IL-6* w rozwoju padaczki poudarowej może wynikać z jego wpływu na poziom interleukiny w osoczu. Chociaż badania dotyczące wpływu polimorfizmu na poziom białka dostarczają niejednoznacznych wyników, w niektórych z nich stwierdzono, że osobniki z genotypem GG w porównaniu do homozygot CC mają blisko dwukrotnie wyższy poziom cytokiny w osoczu [27].

Konkluzje

Wyniki przeprowadzonych badań nie wykazały aby którykolwiek z badanych polimorfizmów miał znaczący wpływ na ryzyko udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci. Wydaje się jednak, że kilka polimorfizmów zasługuje na dalsze badania, kontynuowane na większej grupie pacjentów, a także w innych populacjach. Do takich polimorfizmów należy polimorfizm epsilon genu *APOE*, który nie był jeszcze badany, w odniesieniu do dziecięcego udaru mózgu, w żadnej populacji poza Polską. Zaskakująco wysoka częstość homozygot $\epsilon_4\epsilon_4$ wśród młodych pacjentów po udarze, wraz z faktem, że rozkład genotypów nie był zgodny z równowagą Hardy-Weinberga, może sugerować, że mamy do czynienia ze zjawiskiem podobnym do obserwowanego wśród dorosłych, mianowicie zwiększona dawka allelu ϵ_4 była tam związana ze zwiększonym przeżyciem po udarze [24].

Wydaje się, że najciekawszym z otrzymanych wyników jest obserwowany związek pomiędzy polimorfizmem genu *IL-6* a padaczką poudarową. Oczywiście związek ten wymaga potwierdzenia na większej grupie pacjentów, jednak gdyby zależność taka została udowodniona, mogłoby to mieć znaczące implikacje praktyczne. Być może zastosowanie leków obniżających stężenie cytokiny *IL-6* u pacjentów z określonym genotypem mogłoby przeciwdziałać pojawieniu się padaczki poudarowej.

Zaskakujące są natomiast wyniki dotyczące polimorfizmów genów czynników krzepnięcia, zwłaszcza *FII* oraz *FV*. Choć w kilku wcześniejszych badaniach obserwowano związek polimorfizmu *G20210A* genu protrombiny oraz mutacji Leiden (czynnik *V*) z udarem dziecięcym, niniejsze badania nie potwierdziły takiej zależności, a częstości nosicieli w grupie pacjentów były bardzo niskie. Meta-analiza przeprowadzona na dużej grupie dzieci po udarze także nie potwierdziła związku mutacji w genie protrombiny z chorobą [20], możliwe więc, że pewne mutacje czy polimorfizmy mają znaczenie tylko w niektórych populacjach lub w specyficznych podgrupach pacjentów, np. z określonym typem udaru.

Analiza uzyskanych wyników wskazuje również na potrzebę bardziej indywidualnego podejścia do każdego przypadku udaru u dzieci. Choć w całej grupie badanych osób żaden z polimorfizmów nie był znacząco związany z chorobą, jednak analiza poszczególnych rodzin pokazuje, że w niektórych z nich występują wyraźne tendencje prozakrzepowe. Przykładem jest jedna z dziewczynek, u której stwierdzono udar wkrótce po urodzeniu. Analiza genetyczna wykazała obecność czynnika *V* Leiden oraz homozygotyczność *TT* w genie *MTHFR*, wydaje się więc, że w tej konkretnej rodzinie prozakrzepowe czynniki genetyczne mogły znacząco przyczynić się do wystąpienia choroby [4, zał.4, pkt.II.A].

Nowe światło na patogenezę udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci rzuca także niedawno opublikowana praca pogładowa Munot i wsp. [28]. Autorzy sugerują, że wśród młodych pacjentów z udarem znacząco niedoszacowana jest częstość chorób jednogenowych manifestujących się m.in. udarem niedokrwiennym u dzieci. Wydaje się, że wyniki moich badań mogą przemawiać na korzyść takiego właśnie poglądu. Zaburzenia jednogenowe powinny być rozważane zwłaszcza wtedy gdy udarowi towarzyszy migrena, poremefalia, trudności w uczeniu czy statyczne zaburzenia motoryczne.

1. Lyle CA, Bernard TJ, Goldenberg NA. Childhood arterial ischemic stroke: a review of etiologies, antithrombotic treatments, prognostic factors, and priorities for future research. *Semin Thromb Hemost*. 2011;37:786-93.
2. Mackay MT, Gordon A. Stroke in children. *Aust Fam Physician* 2007;36:896-902.
3. Barnes C, Deveber G. Prothrombotic abnormalities in childhood ischemic stroke. *Thromb Res* 2006;118:67-74.
4. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996; 88:3698-3703.
5. Zöller B, Dahlbäck B. Linkage between inherited resistance to activated protein C and factor V gene mutation in venous thrombosis. *Lancet*. 1994; 343:1536-1538.
6. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, Olivieri O, Pinotti M, Friso S, Manzato F, Mazzucco A, Bernardi F, Corrocher R. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2000; 343:774-780.
7. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993;268:10739-45.
8. Laugesaar R, Kahre T, Kolk A, Uustalu U, Kool P, Talvik T. Factor V Leiden and prothrombin 21210G>A mutation and paediatric ischaemic stroke: a case-control study and two meta-analyses. *Acta Paediatr* 2010; 99:1168-1174.
9. Hoekstra T, Geleijnse JM, Kluit C, Giltay EJ, Kok FJ, Shouten EG. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduced risk of stroke in elderly. *Stroke* 2003;34:2822-8.
10. Komitopoulou A, Platokouki H, Kapsimali Z, Pergantou H, Adamtziki E, Aronis S. Mutations and polymorphisms in genes affecting hemostasis proteins and homocysteine metabolism in children with arterial ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2006; 2:13-20.
11. Kopyta I, Marszał E. Risk factors of ischemic stroke in children. II. Lipid metabolism abnormalities in etiopathogenesis of ischemic stroke in children. *Udar Mozgu* 2004;6:57-64
12. Balcerzyk A., Żak I. Apolipoprotein E-the role of polymorphism in pathogenesis of many diseases. *Postepy Biochem* 2004;50:344-352.
13. van Beynum IM, Smeitink JA, den Heijer M, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999;99:2070-2.
14. Terwecoren A, Steen E, Benoit D, et al. Ischemic stroke and hyperhomocysteinemia: truth or myth? *Acta Neurol Belg* 2009;109:181-8.
15. Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998;64:169-172.
16. Fekih-Mrissa N, Mrad M, Klai S, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (C677T and A1298C) polymorphisms, hyperhomocysteinemia, and ischemic stroke in Tunisian patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013;22:465-9.
17. Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Pienczk-Reclawowicz K, et al. The TT genotype of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism increases the susceptibility to pediatric ischemic stroke: meta-analysis of the 822 cases and 1,552 controls. *Mol Biol Rep* 2012;39:7957-63.
18. Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, del Zoppo GJ, Hallenbeck JM, Rothwell NJ, Hopkins SJ, Tyrrell PJ. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol* 2004; 4: 2.
19. Chamorro A, Revilla M, Obach V, Vargas M, Planas AM. The -174G/C polymorphism of the interleukin 6 gene is a hallmark of lacunar stroke and not other ischemic stroke phenotypes. *Cerebrovasc Dis* 2005; 19: 91-95.
20. Haywood S, Liesner R, Pindora S, Ganesan V. Thrombophilia and first arterial ischaemic stroke: a systematic review. *Arch Dis Child*. 2005; 90:402-405.
21. Slowik A, Iskra T, Turaj W, Hartwich J, Dembinska-Kiec A, Szczudlik A. LDL phenotype B and other lipid abnormalities in patients with large vessel disease and small vessel disease. *J Neurol Sci*. 2003;214:11-16.
22. Balcerzyk A, Żak I, Krauze J. Protective effect of R allele of PON1 gene on the coronary artery disease in the presence of specific genetic background. *Dis Markers* 2008;24:81-88.
23. Bednarska-Makaruk M, Broda G, Kurjata P, Rodo M, Roszczyńko M, Rywik S, Wehr H. Apolipoprotein E genotype, lipid levels and coronary heart disease in a Polish population group. *Eur J Epidemiol* 2001;17:789-792.

24. Weir CJ, McCarron MO, Muir KW, Dyker AG, Bone I, Lees KR, Nicoll JA. Apolipoprotein E genotype, coagulation, and survival following acute stroke. *Neurology* 2001;57:1097-1100.
25. Andrzejczak D. Epilepsy and pro-inflammatory cytokines. Immunomodulating properties of antiepileptic drugs. *Neurol Neurochir Pol* 2011; 45: 275-285.
26. Vezzani A, Aronica E, Mazarati A, Pittman QJ. Epilepsy and brain inflammation. *Exp Neurol*. 2013; 244: 11-21.
27. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998; 102: 1369-1376.
28. Munot PI, Crow YJ, Ganesan V. Paediatric stroke: genetic insights into disease mechanisms and treatment targets. *Lancet Neurol*. 2011; 10: 264-74.

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

Poza pracami należącymi do cyklu opisanego w punkcie 4, jestem współautorką **24** opublikowanych prac pełnotekstowych oraz **1** przyjętej do druku. **23** publikacje są pracami oryginalnymi, natomiast **2** poglądowymi. Jestem także współautorką **2** odpowiedzi na listy do edytora. Publikacje dotyczą czterech kierunków badawczych:

- Genetycznych uwarunkowań udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci (prace nie objęte cyklem habilitacyjnym)
- Genetycznych predyspozycji do choroby niedokrwiennej serca
- Genetycznych uwarunkowań padaczki lekoopornej u dzieci
- Zjawiska heterozji u jęczmienia

Genetyczne uwarunkowania udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci

Głównym nurtem badań prowadzonych przeze mnie po uzyskaniu stopnia doktora była analiza genetycznych predyspozycji do udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci. Poza cyklem habilitacyjnym, wyniki tych badań zostały opublikowane w 8 pracach oryginalnych [1-8]. Cztery artykuły powstały w oparciu o wyniki badań pilotowych, przeprowadzonych na grupie pacjentów hospitalizowanych w Klinice Neurologii Wieku Rozwojowego Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach [1-4]. W badaniach tych stwierdzono, że częstość allelu $\epsilon 4$ genu *APOE* wśród osób chorych była znamienne wyższa niż wśród dzieci bez udaru (0.23 vs. 0.08, $p=0.01$) [1]. Stwierdzono również istotne statystycznie różnice w częstościach allelu C genu kodującego selektynę E (0.20 chorzy vs. 0.06 kontrola, $p=0.036$) [2] oraz różnice w częstościach allelu T genu *MTHFR* pomiędzy chorymi chłopcami a osobami płci męskiej z grupy kontrolnej (0.62 vs. 0.26, $p=0.008$) [3]. Obserwowano ponadto prawie 3-krotnie wyższą częstość homozygot AA (gen *FGB*) u dzieci po udarze, w porównaniu z kontrolą (0.17 vs.

0.06) [4]. Różnica ta nie była jednak istotna statystycznie, prawdopodobnie ze względu na mało liczną grupę badanych. Wyniki badań pilotowych zachęciły nasz zespół do przeprowadzenia badań wielośrodkowych, w efekcie których powstały m.in. prace z cyklu habilitacyjnego. Dalsze badania nie potwierdziły związku polimorfizmu genu *FGB* z udarem a także nie wykazały takiego związku w przypadku genu *FGA* [5]. Geny krzepnięcia i fibrynolizy były także przedmiotem badań w pracy kazuistycznej [6]. U 18 miesięcznej pacjentki urodzonej z udarem niedokrwiennym mózgu oraz niedokrwieniem kończyny górnej stwierdzono współwystępowanie czynnika Leiden (mutacja w genie kodującym czynnik V krzepnięcia), homozygotyczność TT w genie *MTHFR* (polimorfizm C667T) oraz obniżoną aktywność białka C. Wydaje się więc, że w przypadku tej konkretnej pacjentki prozakrzepowe czynniki genetyczne mogły znacząco przyczynić się do wystąpienia choroby. Kolejne dwa artykuły [7, 8] dotyczyły genów związanych z gospodarką wolnorodnikową (*CYBA*) oraz transportem i metabolizmem lipidów (*ABCA1* i *PONI*). Nie stwierdzono jednak aby jakiegokolwiek analizowane warianty polimorficzne tych genów predysponowały do udaru dziecięcego.

Poza pracami dotyczącymi udaru niedokrwiennego mózgu u dzieci jestem też współautorką artykułu kazuistycznego opisującego przypadki dzieci hospitalizowanych z powodu udaru mózdzku [9]. Autorzy przeanalizowali etiologię, objawy kliniczne i stan neurologiczny w obserwacji odległej u tych pacjentów. W wynikach badań u dwóch chorych stwierdzono nieprawidłowości w zakresie czynników krzepnięcia, natomiast u jednego chorego, poziom cholesterolu w górnej granicy normy. Badania w kierunku polimorfizmów genów mogących mieć znaczenie prozakrzepowe nie wykazały ich związku z udarem mózdzku.

1. Żak I, **Balcerzyk A**, Sarecka B, Niemiec P, Kopyta I, Emich-Widera E, Marszał E. Polimorfizm epsilon genu apolipoproteiny E i polimorfizm insercyjno-delecyjny genu ACE a udar niedokrwienny mózgu u dzieci: pilotowe badania związków. *Neurologia Dziecięca* 2005; 14: 15-24.
2. Żak I, Sarecka B, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Emich-Widera E, Kopyta I, Marszał E. Polimorfizm PstI 561A→C genu selektyny-E i udar niedokrwienny mózgu u dzieci: pilotowe badania związków. Część I. *Neurologia Dziecięca* 2004; 13: 23-29.
3. Żak I, Sarecka B, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Emich-Widera E, Kopyta I, Marszał E. Polimorfizm Hinfl 677C→T genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej i udar niedokrwienny mózgu u dzieci: pilotowe badania związków. Część II. *Neurologia Dziecięca* 2004; 13: 31-36.
4. Żak I, Kopyta I, Emich-Widera E, Sarecka B, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Marszał E. Polimorfizmy genów związanych z krzepnięciem krwi a udar niedokrwienny mózgu u dzieci - pilotowe badania rodzin. *Neurol. Dziec.* 2007; 16: 19-25.

5. Kopyta I, Niemiec P, **Balcerzyk A**, Emich-Widera E, Pilarska E, Pienczk-Ręclawowicz K, Kaciński M, Wendorff J, Nowak T, Iwanicki T, Sarecka-Hujar B, Zak I. Fibrinogen alpha and beta gene polymorphisms in pediatric stroke - Case-control and family based study. *Eur J Paediatr Neurol.* 2015; 19: 176-180.
6. Kopyta I, Maruniak-Chudek I, **Balcerzyk A**, Żak I, Olczak Z. Ostre niedokrwienie mózgu oraz kończyn w okresie noworodkowym - opis kliniczny oraz analiza czynników ryzyka. *Ginekologia Polska – praca przyjęta do druku.*
7. Niemiec P, Nowak T, **Balcerzyk A**, Krauze J, Żak I. The CYBA gene A640G polymorphism influences predispositions to coronary artery disease through interactions with cigarette smoking and hypercholesterolemia. *Biomarkers* 2011; 16: 405-412.
8. **Balcerzyk A**, Żak I, Sarecka-Hujar B, Niemiec P, Kopyta I, Emich-Widera E. Polymorphisms of the ABCA1 and PON1 genes in determining the predisposition to ischemic stroke in children. *J. Pediatr. Neurol.* 2010; 8: 151-156.
9. Kopyta I, Sałaj S, Januszewska A, **Balcerzyk A**, Żak I. Udar mózdzku w populacji dziecięcej – opisy przypadków. *Neurol Dziec* 2014; 23, 46: 45-49.

Genetyczne predyspozycje do choroby niedokrwiennej serca

Drugi ważny obszar prowadzonych przeze mnie badań to genetyczne uwarunkowania choroby niedokrwiennej serca (ChNS). ChNS jest powszechnie występującą chorobą wieloczynnikową, której fenotyp wynika z postępujących zmian miażdżycowych obejmujących tętnice wieńcowe. Uważa się, że poza rzadkimi przypadkami zaburzeń jednogenowych, genetyczna podatność na chorobę determinowana jest przez wiele specyficznych wariantów polimorficznych genów, które kodują białka istotne w patogenezie miażdżycy. Jednym z najważniejszych czynników, który sprzyja inicjacji i progresji miażdżycy są zaburzenia lipidowe. Podwyższony osoczowy poziom lipoprotein o niskiej gęstości (ang. low density lipoprotein, LDL) może wpływać na wszystkie etapy procesu aterogenezy. Prowadzi do uszkodzeń i dysfunkcji śródbłonna, a utlenione LDL są pobierane przez monocyty i makrofagi, prowadząc do powstawania komórek piankowatych, charakterystycznych dla blaszek miażdżycowych. W rozwoju miażdżycy ważną rolę odgrywają także lipoproteiny o wysokiej gęstości (ang. high density lipoprotein, HDL). Odpowiedzialne są one za transport zwrotny cholesterolu, pełniąc w ten sposób kluczową rolę w redukowaniu zawartości cholesterolu w ścianie naczyń tętniczych. Hipoteza badawcza prowadzonych przeze mnie badań zakładała, że specyficzne warianty polimorficzne genów zaangażowanych w metabolizm lipidów mogą różnicować genetycznie populację pod względem podatności na chorobę. W badaniach, które były podstawą mojej pracy doktorskiej

analizowałam geny: *APOE* (kodujący apolipoproteinę E, biorącą udział w transporcie lipidów), *PON1* (kodujący paraoksonazę 1 – enzym hamujący utlenianie LDL i utrzymujący integralność i funkcje HDL), *ABCA1* (kodujący błonowy transporter (ang. ATP-binding cassette transporter 1), który przenosi cholesterol i fosfolipidy w poprzek błony na cząstki HDL) oraz *PPARA* (kodujący receptor alfa aktywowany przez proliferatory peroksisomów (ang. peroxisome proliferator-activated receptor α), który jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję wielu genów zaangażowanych w metabolizm lipidów).

Celem badań, była analiza związków pomiędzy ChNS a pojedynczymi wariantami polimorficznymi genów *APOE* (polimorfizm epsilon), *PON1* (R192Q), *ABCA1* (R219K) oraz *PPARA* (polimorfizm G>C w intronie 7). Ponadto poszukiwano specyficznych wzorów genotypowych różnicujących grupę pacjentów od dobrowolnych dawców krwi, nie wykazujących objawów ChNS. Analizowano również wpływ polimorfizmów na ryzyko choroby w obecności określonych czynników środowiskowych. Polimorfizmy genotypowano metodą RFLP (ang. Restriction Fragments Length Polymorphism – polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych). W ramach prac badawczych prowadzonych w Zakładzie Biochemii i Genetyki Medycznej współuczestniczyłam również w analizie genów kodujących białka zaangażowane w inne procesy ważne z punktu widzenia patogenezy miażdżycy, takie jak: adhezja i diapedeza monocytów (gen *ICAM-1*), procesy krzepnięcia i fibrylizacji (*PAI-1*, *FGA*) czy gospodarka wolnorodnikowa (*ACE*, *CYBA*). Wyniki badań opublikowano w postaci 11 prac oryginalnych [1-11].

Początkowo badaniami objęto 247 osób populacji kaukaskiej, w tym 146 pacjentów z potwierdzoną angiograficznie chorobą niedokrwienną serca oraz 121 dobrowolnych dawców krwi, bez historii choroby. Analiza związku pomiędzy polimorfizmem epsilon genu *APOE* wykazała tendencję do częstszego występowania allelu $\epsilon 4$ oraz nosicieli tego allelu wśród pacjentów z ChNS, w porównaniu do kontroli, różnice te jednak nie były istotne statystycznie. Stwierdzono natomiast, że równocześni nosiciele allelu $\epsilon 4$ oraz allelu G genu *ICAM-1* (polimorfizm 1405 A>G) występowali niemal dwukrotnie częściej wśród pacjentów niż wśród osób kontrolnych (17,8% vs. 9,1%) [1]. W następnym etapie badań powiększono grupę badaną. Objęła ona 358 osób, w tym: 178 pacjentów z potwierdzoną angiograficznie chorobą niedokrwienną serca oraz 180 dobrowolnych dawców krwi. W badaniach tych stwierdzono, że allel $\epsilon 4$ wpływa na ryzyko ChNS synergicznie z paleniem papierosów, podwyższonym stężeniem cholesterolu całkowitego, i w mniejszym stopniu LDL [2]. W kolejnych badaniach stwierdzono ponadto bardzo silny synergiczny efekt pomiędzy paleniem papierosów a równoczesnym nosicielstwem allelu $\epsilon 4$ i homozygotycznością DD genu *ACE*

(kodującego konwertazę angiotensynową) [3]. Nosicielstwo allelu D genu *ACE* wykazywało także niezależny związek z ChNS [4].

Analizując kolejne geny związane z gospodarką lipidową stwierdzono znaczące różnice w częstościach allelu R oraz nosiciele allelu R genu *PONI* pomiędzy pacjentami a grupą kontrolną. Chociaż w przypadku pozostałych genów, odpowiedzialnych za transport i metabolizm lipidów, nie obserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami, stwierdzono, że obecność specyficznych genotypów (*APOE* – $\epsilon 3\epsilon 3$, $\epsilon 3\epsilon 2$, *ABCA1* – AG, *PPARA* – GG) zwiększa protekcyjny efekt allelu R genu *PONI* [5]. Wpływ polimorfizmu R192Q genu *PONI* na ryzyko ChNS zależny był nie tylko od obecności określonych wariantów innych genów, ale także od obecności tradycyjnych czynników ryzyka choroby. W kolejnej pracy, przeprowadzonej na tej samej grupie osób stwierdzono silny synergiczny efekt pomiędzy wspomnianym polimorfizmem a paleniem papierosów oraz poziomem cholesterolu całkowitego w osoczu [6]. Synergiczny efekt obserwowano również pomiędzy polimorfizmami genów *ABCA1* oraz *PPARA* [7]. Chociaż żaden z polimorfizmów indywidualnie nie wpływał znacząco na ryzyko rozwoju ChNS, stwierdzono, że współwystępowanie genotypów AA (*ABCA1*) oraz GC+CC (*PPARA*) różnicowało grupę pacjentów od kontroli. Efekt ten był szczególnie wyraźny w podgrupie mężczyzn. Ponadto stwierdzono związek pomiędzy nosicielstwem allelu C genu *PPARA* a obniżonym stężeniem cholesterolu całkowitego i LDL. Ostatnia praca obejmująca geny związane z metabolizmem lipidów dotyczyła polimorfizmu genu *CYP7A1*, kodującego 7α -hydroksylazę cholesterolu – kluczowy enzym klasycznego szlaku prowadzącego do przekształcenia cholesterolu w kwasy żółciowe [8]. Badania wykazały, że polimorfizm rs7833904 wpływa na ryzyko choroby niedokrwiennej serca. Efekt ten był szczególnie silny w podgrupie mężczyzn. Badany polimorfizm nie wpływał natomiast na poziom lipidów osocza.

Kolejnym badaniem, w którym brałam udział była analiza związku pomiędzy polimorfizmem genu *CYBA* a chorobą niedokrwinną serca. Gen *CYBA* koduje białko p22phox, będące ważnym składnikiem oksydazy NADPH, która jest głównym źródłem wolnych rodników w naczyniach krwionośnych. Stwierdzono związek pomiędzy polimorfizmem -930A>G a ChNS, a także synergiczny efekt w kształtowaniu ryzyka ChNS pomiędzy polimorfizmem a nadwagą i otyłością oraz paleniem papierosów [9].

Zainteresowanie genami zaangażowanymi w transport i metabolizm lipidów zaowocowało również dwiema pracami poglądowymi [12,13]. Uzupełnieniem badań nad chorobą niedokrwinną serca była analiza wybranych czynników ryzyka choroby w grupie krwiodawców z Górnego Śląska [14].

1. Żak I, **Balcerzyk A**, Sarecka B, Niemiec P, Ciemniowski Z, Dyląg S. Contemporaneous carrier-state of two or three „proatherosclerotic” variants of APOE, ICAM1, PPARA and PAI-1 genes differentiate CAD patients from healthy individuals. *Clinica Chimica Acta* 2005; 362: 110-118.
2. **Balcerzyk A**, Zak I, Krauze J. Synergistic effects of apolipoprotein E gene epsilon polymorphism and some conventional risk factors on premature ischaemic heart disease development. *Kardiol Pol.* 2007; 65: 1058-1065.
3. Zak I, Niemiec P, **Balcerzyk A**, Krauze J. Combined “pro-atherosclerotic” variants of the ACE and APOE genes increase the risk of the coronary artery disease associated with the presence of cigarette smoking. *Acta Cardiologica* 2008; 63: 741-747.
4. Żak I, Niemiec P, Sarecka B, **Balcerzyk A**, Ciemniowski Z, Rudowska E, Dyląg S. Carrier-state of D allele in ACE gene insertion/deletion polymorphism is associated with coronary artery disease, in contrast to the C677→T transition in the MTHFR gene. *Acta Biochimica Polonica*, 2003; 50: 527-534.
5. **Balcerzyk A**, Zak I, Krauze J. Protective effect of R allele of PON1 gene on the coronary artery disease in the presence of specific genetic background. *Dis Markers.* 2008; 24: 81-88.
6. **Balcerzyk A**, Zak I, Krauze J. Synergistic Effects between Q192R Polymorphism of Paraoxonase 1 Gene and Some Conventional Risk Factors in Premature Coronary Artery Disease. *Arch Med Res.* 2007; 38: 545-550.
7. **Balcerzyk A**, Zak I, Krauze J. Synergistic effect between polymorphisms of PPARA and ABCAI genes on the premature coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2007; 62: 233-238.
8. Iwanicki T, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Nowak T, Ochalska-Tyka A, Krauze J, Górczyska-Kosiorz S, Grzeszczak W, Zak I. CYP7A1 gene polymorphism located in the 5` upstream region modifies the risk of coronary artery disease. *Dis Markers.* 2015; 2015:185969. doi: 10.1155/2015/185969.
9. Niemiec P, Nowak T, **Balcerzyk A**, Krauze J, Żak I. The CYBA gene A640G polymorphism influences predispositions to coronary artery disease through interactions with cigarette smoking and hypercholesterolemia. *Biomarkers* 2011; 16: 405-412.
10. Niemiec P, Nowak T, Iwanicki T, Górczyska-Kosiorz S, **Balcerzyk A**, Krauze J, Grzeszczak W, Wiecha M, Zak I. The rs2516839 polymorphism of the USF1 gene may modulate serum triglyceride levels in response to cigarette smoking. *Int J Mo. Sci.* 2015; 16: 13203-13216.
11. Żak I, Sarecka B, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Ciemniowski Z. Association between Thr312Ala Polymorphism in α -Fibrinogen Gene and Coronary Artery Disease, *Adv Clin Exp Med* 2005; 14: 445-449.
12. **Balcerzyk A**, Żak I. Apolipoproteina E - rola polimorfizmu w patogenezie licznych chorób. *Post. Biochem.* 2004; 50: 344-352.
13. Iwanicki T, **Balcerzyk A**, Żak I. Rola 7 α -hydroksylazy cholesterolu i genu CYP7A1 w fizjologii i patologii człowieka. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2010; 64: 48-57.
14. Sarecka B, **Balcerzyk A**, Niemiec P, Golonka K, Rudowska E, Żak I. Analiza wybranych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca (CAD) w grupie krwiodawców z Górnego Śląska. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2007; 61: 93-100.

Genetyczne uwarunkowania padaczki lekoopornej u dzieci

Kolejnymi badaniami, w których brałam udział były prace dotyczące padaczki lekoopornej [1]. Padaczka jest jedną z najczęstszych chorób układu nerwowego u dzieci i młodzieży, a lekooporność pozostaje jednym z ważniejszych problemów współczesnej epileptologii. Przypuszcza się, że przyczyna lekooporności może być związana z polimorfizmami genów, które kodują enzymy metabolizujące leki przeciwpadaczkowe (np. *CYP3A*) lub białka transportujące leki (np. *MDR1*). Celem badań była ocena związku polimorfizmów powyższych genów z padaczką lekooporną u dzieci i młodzieży do 18 roku życia. Badaniem objęto 85 pacjentów, których podzielono pod względem odpowiedzi na leczenie. Polimorfizmy genotypowano metodą RFLP. Wyniki badań nie potwierdziły jednak związku pomiędzy analizowanymi polimorfizmami, a opornością na leki przeciwpadaczkowe.

1. Emich-Widera E, Likus W, Kazek B, Niemiec P, **Balcerzyk A**, Sieroń AL, Zak I. CYP3A5*3 and C3435T MDR1 polymorphisms in prognostication of drug-resistant epilepsy in children and adolescents. *Biomed Res Int.* 2013; 2013: 526837.

Zjawisko heterozji u jęczmienia

Artykuł dotyczący heterozji u jęczmienia jest wynikiem badań prowadzonych w początkowym okresie mojej działalności naukowej w Katedrze Genetyki Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach. W pracy wykorzystano 87 mutantów pochodzących z kolekcji Katedry. Efekt heterozji, czyli zwiększonej plenności potomstwa, stwierdzono w przypadku 23,7% krzyżówek. Wysoki poziom heterozji obserwowany w niektórych krzyżówkach wydaje się być wynikiem specyficznych oddziaływań pomiędzy zmutowanymi genami. Jako metodę utrwalenia efektu heterozji autorzy zaproponowali tworzenie podwojonych haploidów.

1. Maluszynski M, Szarejko I, Barriga P, **Balcerzyk A**. Heterosis in crop mutant crosses and production of high yielding lines using doubled haploid systems. *Euphytica* 2001; 120: 387-398.

6. Dane bibliometryczne

Podsumowując, mój dorobek naukowy obejmuje **29** opublikowanych prac pełnotekstowych oraz **1** przyjętą do druku. **18** prac opublikowano w czasopismach z bazy JCR. W **15** pracach jestem pierwszym lub drugim autorem. Jestem również współautorką **3** rozdziałów w 2 polskich książkach oraz **2** odpowiedzi na listy do edytora.

Sumaryczny Impact Factor, **IF=27.932** + IF=0,675 za pracę przyjętą do druku oraz IF=3 za odpowiedzi na listy do edytora

Punktacja ministerstwa: MNiSW=**477** + 15 za pracę przyjętą do druku oraz 54 za odpowiedzi na listy do edytora

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS) – **121**

Indeks Hirscha opublikowanych publikacji według bazy Web of Science (WoS) – **7**

Anna Balcerzyk