



COLLEGIUM MEDICUM
Uniwersytet Jana Kochanowskiego

Autoreferat

dr n. biol. Justyna Klusek

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Collegium Medicum

Instytut Nauk Medycznych

Katedra Medycyny Zabiegowej

z Pracownią Genetyki Medycznej

Kielce 2023

Spis treści

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe	3
3. Przebieg dotychczasowego zatrudnienia w jednostkach naukowych.....	4
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o Szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 r. poz. 478 z późn.zm.).....	5
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego stanowiącego cykl publikacji.....	5
4.2. Wykaz publikacji stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego.....	5
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac oraz osiągniętych wyników.....	8
4.3.1. Wstęp i cel naukowy.....	8
4.3.2. Zastosowana metodyka i wyniki badań.....	10
4.3.3. Podsumowanie	20
4.3.4. Piśmiennictwo.....	22
4.4. Pozostałe osiągnięcia naukowe.....	27
4.4.1. Męski czynnik niepłodności.....	27
4.4.2. Znaczenie komórkowego stresu oksydacyjnego.....	28
4.4.3. Czynniki sprzyjające chorobom układu pokarmowego.....	29
4.4.4. Genetyczne i społeczne aspekty COVID-19.....	31
4.4.5. Polimorfizm genów NOS w chorobach cywilizacyjnych.....	32
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, w szczególności zagranicznej.....	33
5.1. Zakres międzynarodowej współpracy naukowej.....	33
5.2. Staże naukowe krajowe.....	37
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.....	39
6.1. Działalność dydaktyczna i współpraca naukowa ze studentami.....	40
6.2. Działalność organizacyjna i popularyzatorska.....	40
7. Informacje dodatkowe.....	42
7.1. Udział w badaniach klinicznych.....	42

1. Imię i nazwisko

Justyna Edyta Klusek

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2006	Tytuł magistra biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin. Dyplom uzyskany na podstawie przedstawionej pracy „Analiza dystrybucji subkomórkowej białka Mrt4 w aspekcie fosforylacji”, przygotowanej w Zakładzie Biologii Molekularnej, Instytutu Biotechnologii, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi promotor: dr Marek Tchórzewski
2009	Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie, Tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ metali ciężkich na aktywność wybranych enzymów lizosomowych w wątrobie i nerkach królików” promotor: dr hab. Bożena Witek, prof. UJK recenzenci: prof. dr hab. Maria Filek, prof. dr hab. Adam Kołataj
2010	dyplom ukończenia kursu doskonalącego Diagnostyka niepłodności u mężczyzn Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
2011	dyplom ukończenia kursu Real-Time PCR – analiza ekspresji genów Blirt S.A., dział DNA-Gdańsk
2017	dyplom ukończenia szkolenia Obluga aplikacyjna systemu Cobas 4800 Roche Diagnostics Polska
2019	dyplom ukończenia kursu Essential Good Clinical Practice ICH GCP E6(R2) Brookwood International Academy
2020	dyplom ukończenia szkolenia Next-Genetration Sequencing data analysis – Workshop for beginners SEQme

2021 dyplom ukończenia szkolenia
Projektowanie Starterów i Sond do PCR i qPCR
MBS-Szkolenia, Konferencje, Usługi

2022 dyplom ukończenia szkolenia
SeqScape software training
Thermo Fisher Scientific

3. Przebieg dotychczasowego zatrudnienia w jednostkach naukowych

19.07.2009 – obecnie **Adiunkt,**
Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa Wydziału Nauk o Zdrowiu,
obecnie:
Instytut Nauk medycznych, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
pełny etat

1.09.2019 – obecnie **Zastępca Dyrektora Instytutu Nauk o Zdrowiu ds. nauki**
Instytut Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

01.10.2013 – 30.06.2018 **Adiunkt,**
Katedra Dietetyki, Wyższa Szkoła Rehabilitacji
ul. Obozowa 20, 01-161 Warszawa
obecnie:
ul. Kasprzaka 49, 01-234 Warszawa
pełny etat

2011 – obecnie **Koordynator Ośrodka w badaniach klinicznych III i IV fazy,**
NZOZ Witamed, Poradnia Diabetologiczna,
al. Legionów 3/6 , 25-305 Kielce
umowa zlecenie

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn.zm.).

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, dotyczących analizy czynników molekularnych i epidemiologicznych wpływających na ryzyko i przebieg takich chorób cywilizacyjnych jak rak jelita grubego oraz cukrzyca typu 2.

We wszystkich pracach stanowiących osiągnięcie naukowe jestem pierwszym i korespondencyjnym autorem*, a mój średni udział procentowy w powyższych pracach wynosi: 75%, co znajduje potwierdzenie w oświadczeniach współautorów (Załącznik 5).

Łączna wartość bibliometryczna cyklu 6 publikacji składających się na osiągnięcie naukowe wynosi **Impact Factor - 10,892 MEiN - 520**

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Wpływ polimorfizmu genów transferaz-S glutationu (GST) wraz z czynnikami dietetycznymi na ryzyko i rozwój raka jelita grubego i cukrzycy

4.2. Wykaz publikacji stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

1. Klusek J*, Głuszek S, Kozieł D. What is new in gastrointestinal cancer prevention - a review of the literature 2009-2010. Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny. 2011;6(2):78-84. doi:10.5114/pg.2011.21717.

MEiN – 40

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i przedstawieniu aktualnej wiedzy w obszarze badawczym tematu, tworzeniu manuskryptu oraz korespondencji z redakcją czasopisma.

2. Klusek J*, Głuszek S, Klusek J. Selected mutations with high risk of colorectal cancer. Gastroenterology Review/ Przegląd Gastroenterologiczny. 2012;7(1):1-6. doi:10.5114/pg.2012.27215.

MEiN – 40

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotezy badawczej i opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu badań, przeglądzie literatury i przedstawieniu aktualnej wiedzy w obszarze badawczym tematu, przygotowaniu manuskryptu do publikacji, poprawie całego artykułu w odpowiedzi na recenzje i korespondencji z redakcją.

3. Klusek J*, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzycka I, Lewitowicz P, Chrapek M, Głuszek S. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and colorectal cancer risk in Polish nonsmokers. *Oncotarget*. 2018; 9: 21224-21230 DOI:10.18632/oncotarget.25031

MEiN - 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotezy badawczej i opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu badań i częściowym wykonaniu doświadczeń (częściowa analiza genetyczna), opisie procedur w rozdziale materiały i metody, analizie i interpretacji wyników badań, przygotowaniu części graficznej prezentowanych wyników badań (Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4), przygotowaniu manuskryptu do publikacji, poprawie całego artykułu w odpowiedzi na recenzje i korespondencji z redakcją.

4. Klusek J*, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzycka I, Chrapek M, Lewitowicz P, Radowicz-Chil A, Klusek J, Głuszek S. Nutritional factors modulating the risk of colorectal cancer in people with polymorphism of the S-glutathione transferase genes, *Nutrients*. 2019; 11 (7):1682, DOI: 10.3390/nu11071682

IF-6,706, MEiN-140

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu hipotezy badawczej i opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowaniu badań i częściowym wykonaniu doświadczeń (częściowa analiza genetyczna), opisie procedur w rozdziale materiały i metody, analizie i interpretacji wyników badań, przygotowaniu części graficznej prezentowanych wyników badań (Tabela 1, Tabela 2), przygotowaniu manuskryptu do publikacji, poprawie całego artykułu w odpowiedzi na recenzje i korespondencji z redakcją.

5. Klusek J*, Błońska-Sikora E, Witczak B, Orlewska K, Klusek J, Głuszek S, Orlewska E. Glutathione S-transferases gene polymorphism influence on the age of diabetes type 2 onset *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2020; 8:e001773.
doi: 10.1136/bmjdr-2020-001773

IF 4,186 MEiN 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał opracowaniu koncepcji i planu badań, pozyskaniu zgody komisji bioetycznej oraz funduszy na badanie, rekrutacji pacjentów, prowadzeniu badań genetycznych, budowaniu bazy danych i interpretacji wyników, tworzeniu manuskryptu oraz korespondencji z redakcją czasopisma.

6. Klusek J*, Nasierowska-Guttmejer A, Orlewska K, Madej Ł, Klusek J, Cedro A, Głuszek S, Wawrzycka I, Orlewska E. GST gene family polymorphism and the risk of colorectal cancer in patients with type 2 diabetes. *Medical Studies/Studia Medyczne*. 2021;37(3):218-225. doi:10.5114/ms.2021.109529.

MEiN 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał opracowaniu koncepcji i planu badań, pozyskaniu zgody komisji bioetycznej oraz funduszy na badanie, rekrutacji pacjentów, prowadzeniu badań genetycznych, budowaniu bazy danych i interpretacji wyników, tworzeniu manuskryptu oraz korespondencji z redakcją czasopisma.

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac oraz osiągniętych wyników

4.3.1. Wstęp i cel naukowy

Od początku mojego zatrudnienia w Wydziale Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach, moje zainteresowania naukowe wiązały się z genetyką człowieka i interakcjami pomiędzy czynnikami środowiskowymi oraz predyspozycjami genetycznymi człowieka do rozwoju chorób nowotworowych przewodu pokarmowego. Wyrazem tego zainteresowania były prace przeglądowe stanowiące analizę aktualnych badań prowadzonych na świecie w tych tematach [1,2]. Rak jelita grubego (RJG) jest trzecim nowotworem co do częstości zachorowania, z liczbą ponad 1,84 mln nowych przypadków rocznie i 0,8 mln zgonów rocznie na świecie [3]. Jest chorobą o heterogennej etiologii, zależną zarówno od osobniczych predyspozycji genetycznych, jak również czynników pozagenowych, a przede wszystkim diety i stylu życia [1]. Spośród czynników dietetycznych, w literaturze podkreśla się wpływ czerwonego i przetworzonego mięsa na ryzyko rozwoju RJG [1,4-6]. Mimo tej wiedzy, w populacji polskiej spożycie tego produktu wydaje się być wysokie, głównie ze względu na uwarunkowania kulturowe [7]. Mechanizm działania kancerogennego czerwonego mięsa jest wieloraki i nie został jak dotąd w pełni wyjaśniony. Potencjalnie wiąże się on z obecnością wielu związków o charakterze mutagennym i kancerogennym. Należą tu aminy heterocykliczne (HAA) i policykliczne węglowodory aromatyczne (PAH) powstające podczas obróbki termicznej czerwonego mięsa, związki N-nitrozowe powstające endogennie w wyniku procesów trawienia mięsa, obecne również w mięsie przetworzonym, o wysokiej zawartości soli, nitratów i azotanów. Co więcej, czerwone mięso wykazuje wysoką zawartość żelaza hemowego promującego powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT) o silnych właściwościach mutagennych. RFT wykazują efekty cytotoksyczne i powodują stan zapalny, co z kolei sprzyja hiperprolifracji komórek nabłonkowych [8]. W chorobach wieloczynnikowych, takich jak RJG, wpływ diety jest indywidualnie modulowany przez osobniczy profil genetyczny. Na podstawie analizy literatury moje zainteresowania skupiły się w szczególności na rodzinie genów transferaz-S glutationu, jako potencjalnego czynnika modulującego wpływ spożycia czerwonego mięsa na ryzyko rozwoju raka jelita grubego [9]. Transferazy kodowane przez geny *GST*, odpowiadają bowiem za procesy detoksyfikacyjne w komórkach, w tym aktywność antyoksydacyjną. Jest to superrodzina genów dla enzymów II fazy metabolizmu szeregu substancji toksycznych, w tym potencjalnych kancerogenów czerwonego mięsa poddanego obróbce termicznej. Za najistotniejsze w komórkowych procesach detoksyfikacyjnych uważa

się trzy spośród 8 klas transferaz, kodowane odpowiednio przez geny: *GSTP1*, *GSTM1* i *GSTT1*. Geny te są wysoce polimorficzne. Polimorfizm genów *GST* skutkuje obniżeniem, lub całkowitym brakiem aktywności enzymatycznej kodowanych transferaz [9-11]. Wraz z jednoczesnym wysokim spożyciem czerwonego mięsa, niedobór enzymów *GST* może powodować zwiększoną ekspozycję błony śluzowej jelita na takie toksyny jak HAA, PAH, N-nitrozoaminy i RFT, co w konsekwencji może sprzyjać procesom nowotworzenia [12]. Analizując badania nad genami *GST* prowadzone na świecie w ciągu ostatnich lat stwierdzono, że wiele spośród nich dotyczy cukrzycy typu 2 (T2D) [13-17], choroby o zbliżonej etiologii do RJG, również w dużym stopniu zależnej od diety i predyspozycji genetycznych. Cukrzyca typu 2, manifestująca się insulinoopornością tkanek i względnym upośledzeniem wydzielania insuliny jest (podobnie jak choroby nowotworowe) dużym problemem epidemiologicznym i ekonomicznym w kraju i w skali ogólnoswiatowej. Według organizacji International Diabetes Federation (IDF), na cukrzycę choruje obecnie 9,4% ludności na świecie, co w Europie daje 61 milionów diabetyków [18]. Wyniki badań dotyczących polimorfizmu genów *GST* w ryzyku rozwoju cukrzycy, jak również w przebiegu leczenia i powikłaniach choroby są nadal niejednoznaczne [13-17]. Ponadto tylko niewiele z nich prowadzonych jest na populacji europejskiej. Wiadomo, że cukrzyca jest czynnikiem ryzyka rozwoju raka jelita grubego, przy czym patomechanizm tej zależności nie jest wyjaśniony [19]. Zbadanie wzajemnych korelacji pomiędzy polimorfizmem genów *GST*, cukrzycą typu 2 i rakiem jelita grubego w populacji polskiej stanowi istotny i aktualny problem badawczy w zakresie nauk podstawowych. Odkrycie panelu genów predysponujących do takich chorób cywilizacyjnych jak cukrzyca typu 2 i rak jelita grubego mogłoby w przyszłości pozwolić na poszerzenie zakresu profilaktyki, a tym samym zmniejszyć zachorowalność i umieralność z powodu tych chorób. Badania w tym obszarze mają więc również potencjał komercjalizacyjny.

Biorąc pod uwagę powyższe, celem badań, które włączone zostały do osiągnięcia naukowego była analiza polimorfizmu genów *GST* i czynników dietetycznych na ryzyko i rozwój wybranych chorób cywilizacyjnych.

Cel ten został zrealizowany poprzez:

- Określenie częstości występowania polimorfizmu genów *GSTT1*, *GSTM1* i *GSTP1* w reprezentatywnej populacji polskiej
- Określenie znaczenia polimorfizmu genów *GST* w karcinogenezie raka jelita grubego.

- Określenie częstotliwości spożycia czerwonego mięsa w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego i osób bez zmian w jelicie grubym
- Analizę wzajemnej korelacji pomiędzy spożyciem czerwonego mięsa i polimorfizmem genów *GST* w ryzyku rozwoju RJG
- Analizę częstości polimorfizmu genów *GST* u diabetyków (z cukrzycą typu 2) vs osób zdrowych
- Określenie wpływu czynnika genetycznego (polimorfizm genów *GST*) na wiek rozpoczęcia T2D
- Określenie znaczenia polimorfizmu genów *GST* jako potencjalnego czynnika ryzyka RJG u pacjentów z cukrzycą typu 2

4.3.2. Zastosowana metodyka i wyniki badań

Przedmiotem moich badań była w pierwszej kolejności wieloczynnikowa analiza ryzyka rozwoju nowotworów przewodu pokarmowego obejmująca interakcje pomiędzy polimorfizmem genów i wpływem środowiska (w tym w szczególności diety). W trakcie przeglądu literatury szczególną uwagę zwróciłam na kancerogenne działanie czerwonego mięsa. Już ponad 10 lat temu zdecydowanie podkreślano, że wysoka zawartość żelaza hemowego w tym produkcie prowadzi do podwyższenia stresu oksydacyjnego w komórkach. Istotny, z punktu widzenia kancerogenności mięsa jest również sposób jego termicznej obróbki. Głębokie smażenie, czy grillowanie wyzwała bowiem obecność takich substancji toksycznych jak aminy heterocyliczne i poliwęglowodory, które podczas pasażu w jelicie oddziałują mutagenie na błonę śluzową [1,20]. Jednocześnie analizując genetyczne aspekty chorób nowotworowych, wśród genów o niskiej penetracji moją uwagę zwróciły doniesienia literaturowe dotyczące genów transferaz-S glutationu w kontekście ich potencjalnego udziału w metabolizmie kancerogenów pochodzących z czerwonego mięsa [21].

Na podstawie przeprowadzonych przeglądów danych źródłowych wyłoniłam tezę badawczą, opracowałam koncepcję i szczegółową metodologię badań w ramach projektu „Powiązanie polimorfizmu genów *GST* i spożycia czerwonego mięsa w ryzyku zachorowania na raka jelita grubego.” Pod kierownictwem pani prof. dr hab. n. med. Anny Nasierowskiej - Guttmejer projekt ten uzyskał finansowanie w konkursie Opus 5 Narodowego Centrum Nauki na sumę 553 379,00pln w marcu 2014 roku.

Jednym z pierwszych celów projektu było zbadanie tezy, że polimorfizm genów *GST* może być czynnikiem sprzyjającym rozwojowi raka jelita grubego.

Transferazy-S glutationu odpowiadają za detoksyfikację szeregu kancerogenów, w procesie sprzęgania ich ze zredukowanym glutationem. Potwierdzeniem postulowanej przeciwnowotworowej roli enzymów kodowanych przez geny *GSTP1*, *GSTM1* i *GSTT1* mogą być doniesienia o zwiększonej ekspresji tych genów w komórkach nabłonkowych w przebiegu raka jelita grubego [22,23], jako adaptacyjnej odpowiedzi komórkowej na postępującą chorobę. Utrata, lub obniżenie aktywności tych enzymów prowadzi do ograniczenia możliwości neutralizacji toksyn. Polimorfizm genów *GSTT1* i *GSTM1* polega najczęściej na delecji genu skutkującej brakiem produktu białkowego. W przypadku delecji homozygotycznej (tzw: genotypy: *GSTM1null*, *GSTT1null*), komórki całkowicie pozbawione są kodowanych przez nie transferaz [24]. Funkcjonalny polimorfizm genu *GSTP1* rs1695 polega na substytucji A-G (SNP – single nucleotide polymorphism) w egzonie 5 i w efekcie zmianie izoleucyny na walinę w pozycji 105 łańcucha aminokwasowego (Ile105Val), co istotnie obniża aktywność enzymatyczną białka [23]. Wiadomo, że genotypy *GSTM1 null*, *GSTT1 null* i *GSTP1 Ile105Val* są związane z wyższym poziomem uszkodzeń DNA [25-27]. Upośledzona tymi mutacjami aktywność enzymatyczna transferaz-S glutationu ma negatywny wpływ na poziom metabolizmu karcynogenów i produktów stresu oksydacyjnego w komórkach. Wyniki badań prowadzonych w tym temacie na całym świecie pozostają niejednoznaczne, co więcej, nie ma danych odnośnie Polski [28,29].

W pierwszej kolejności **celem szczegółowym było określenie potencjalnego związku pomiędzy polimorfizmem genów *GSTM1*, *GSTT1* i *GSTP1*, a ryzykiem wystąpienia RJG w populacji polskiej.**

W latach 2014-2017 trwała rekrutacja pacjentów z noworozpoznanym rakiem jelita grubego w dwóch wiodących Ośrodkach w Kielcach: Wojewódzkim Szpitalu Zespolonym i Świętokrzyskim Centrum Onkologii. Badanie miało charakter case - control, grupę kontrolną rekrutowałam spośród pacjentów przebywających w Wojewódzkim Szpitalu Zespolonym, u których na podstawie kolonoskopii wykluczono obecność guzów i polipów w jelicie grubym.

Już na etapie rekrutacji pojawił się pierwszy widoczny wniosek. Do badania włączałam wyłącznie pacjentów niepalących tytoniu, ze względu na opisywane korelacje pomiędzy zwiększonym działaniem kancerogennym dymu tytoniowego u pacjentów z polimorfizmem badanych genów *GST* [23,24,29]. Powyższe kryterium włączenia okazało się silnym

ograniczeniem w rekrutacji, ponieważ zdecydowana większość (szacunkowo ok. 60%) diagnozowanych przypadków RJG w województwie świętokrzyskim dotyczyła pacjentów palących tytoń.

Fakt ten przedłużył rekrutację o dwa lata w stosunku do założeń projektu. Niemniej wniosek uzyskany na tej podstawie stanowiący **potwierdzenie wpływu palenia tytoniu na ryzyko raka jelita grubego został uwzględniony w pierwszej publikacji wyników.**

Ostatecznie grupę badaną stanowiło 198 chorych z potwierdzonym rakiem gruczołowym jelita grubego na podstawie badania patomorfologicznego wycinków pobranych w czasie kolonoskopii lub materiału operacyjnego. Do grupy kontrolnej włączyłam 103 osoby bez obecności nowotworu wykluczonego na podstawie badania endoskopowego i/lub badania histopatologicznego.

Jako magister biotechnologii ze specjalnością w zakresie biologii molekularnej miałam solidne podstawy do prowadzenia badań genetycznych, niemniej w ówczesnym Wydziale Nauk o Zdrowiu UJK, nie funkcjonowało laboratorium genetyczne. Równolegle z rekrutacją pacjentów do badania trwały więc prace nad stworzeniem Pracowni Badań Genetycznych na Wydziale. Kwota 289 000pln z grantu NCN pozwoliła na założenie i uruchomienie pracowni wyposażonej w urządzenia wykorzystujące najnowsze metody analizy genetycznej (m.in. Real Time PCR), której powstawanie od początku nadzorowałam. Wraz z uruchomieniem laboratorium rozpoczęłam intensywną pracę badawczą w zakresie genetyki. Szczegółowy opis zastosowanej metodologii badań genetycznych oraz statystycznego opracowania uzyskanych danych zawarto w pracach stanowiących osiągnięcie naukowe (załącznik w postaci elektronicznych plików pdf).

Pierwsze wyniki ogłosiłam już w marcu 2016 na I Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej „Rak jelita grubego: Diagnostyka i leczenie, standardy – teraźniejszość i przyszłość” w ustnym wystąpieniu „Polimorfizm genu *GSTP1* w ryzyku zachorowania na raka jelita grubego – wyniki wstępne”, a następnie na Międzynarodowym XX Jubileuszowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Patologów w Warszawie w formie posteru „Colorectal cancer in light of *GSTP1* gene polymorphism - the preliminary results”. Kolejne wyniki zaprezentowałam na międzynarodowej konferencji „29th European Congress of Pathology” w Amsterdamzie we wrześniu 2017 w formie posteru: „The association of *GSTT1* and *GSTM1* genes polymorphism and the risk of colorectal cancer - the preliminary results”. Pełne wyniki i dyskusję z pierwszym założeniem opublikowałam w pracy **Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A,**

Wawrzycka I, Lewitowicz P, Chrapek M, Głuszek S. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and colorectal cancer risk in Polish nonsmokers, *Oncotarget*, 2018, 9(30): 21224-21230.

Pragnę podkreślić, że moje badanie stanowiło pierwszą analizę zależności pomiędzy polimorfizmem genów *GST* a ryzykiem RJG, przeprowadzoną na polskiej populacji. Uzyskana częstotliwość zaobserwowanych mutacji u osób zdrowych pokrywała się z innymi badaniami prowadzonymi w Europie, co pokazuje, że populacja polska genetycznie nie odbiega od innych populacji rasy kaukaskiej. U pacjentów z rakiem jelita grubego częstotliwość badanych polimorfizmów nie różniła się od kontroli w sposób istotny statystycznie. Należy tu zaznaczyć, że w literaturze istnieją duże rozbieżności wyników uzyskiwanych na przestrzeni lat w tym obszarze badawczym. Takie kontrowersyjne wyniki mogą mieć wielorakie przyczyny. Ekspozycja na kancerogeny różni się w populacjach w zależności od regionu geograficznego, stopnia zanieczyszczeń środowiska, czy zwyczajów żywieniowych. Być może też badania prowadzone są na zbyt małych kohortach, lub projektowane ze zbyt małą atencją skierowaną na potencjalne zakłócenia, takie jak wpływ czynników środowiskowych, między innymi palenie tytoniu [27,30]. Znany jest od dawna silny związek pomiędzy dymem tytoniowym, a ryzykiem zachorowania na RJG [25,31]. Dlatego wykluczenie czynnika zakłócającego w postaci palenia tytoniu dodatkowo podnosi wartość badania.

W projekcie przeanalizowałam związek polimorfizmów badanych genów z cechami demograficznymi (wiek, płeć) oraz wybranymi cechami klinicznymi (lokalizacja guza) i histopatologicznymi (typ raka, stopień histologicznej złośliwości guza oraz stopień zaawansowania nowotworu). Wystąpienie polimorfizmu genu *GSTP1* nie wiązało się w sposób statystycznie istotny z żadną z analizowanych cech. Brak zależności pomiędzy polimorfizmem genu *GSTP1*, a cechami kliniczno-histopatologicznymi nowotworu obserwowany w badanej populacji polskiej pokrywa się z wynikami otrzymanymi przez Gorukmez'a i wsp. (2016) dla populacji tureckiej [23]. W przypadku genu *GSTT1* obserwowałam statystycznie istotną różnicę ($p=0.035$) w rozkładach stopnia złośliwości guza w zależności od obecności polimorfizmu. Wśród chorych z polimorfizmem tego genu relatywnie często obserwowałam stopień histologicznej złośliwości G3 (19.4% vs. 5.4% w grupie bez polimorfizmu). Dla genu *GSTM1* obserwowałam statystycznie istotną różnicę odnośnie przerzutów raka do węzłów chłonnych (klasyfikacja pN; $p=0.036$), a więc polimorfizm *GSTM1* może mieć wpływ na stopień patologicznego zaawansowania nowotworu [32].

Podsumowując, analiza częstotliwości mutacji w genach *GST* w korelacji z danymi histopatologicznymi wykazała, że **genotyp *GSTT1* null/null jest związany z wyższą inwazyjnością nowotworu, natomiast genotyp *GSTM1* null/null wiąże się z częstszym przerzutowaniem do węzłów chłonnych. Stwierdzone zależności mogą świadczyć o tym, że polimorfizm genów *GST* jest związany z rozwojem raka jelita grubego.**

W przypadku raka jelita grubego polimorfizm genetyczny, zmieniający możliwości neutralizacji szkodliwych kancerogenów jest zwykle jednym z wielu czynników kształtujących podatność na zachorowanie. Ekspozycja błony śluzowej jelita, jakkolwiek modyfikowana aktywnością enzymów detoksyfikacyjnych, jest jednak przede wszystkim zależna od samej podaży substancji toksycznych i kancerogennych. Świadczy o tym fakt, postulowany od ponad 40 lat, że rak jelita grubego jest chorobą dietozależną, uwarunkowaną w ponad 85% czynnikami zewnętrznymi [31,33]. Rozszerzeniem pierwotnych założeń był kolejny cel szczegółowy badań a mianowicie **stratyfikacja grup względem diety aby wykazać ewentualne korelacje pomiędzy współistniejącymi czynnikami genetycznymi i środowiskowymi w zwiększaniu ryzyka zachorowaniu na raka jelita grubego.** Wielokrotnie podkreśla się szczególnie kancerogenne działanie czerwonego i przetworzonego mięsa [1,5,8,12,34-36]. Wysoki odsetek zachorowań na raka jelita grubego dotyczy głównie krajów rozwiniętych o wysokim stopniu industrializacji, gdzie społeczeństwo charakteryzuje tzw. zachodni styl życia, a jego nieodłącznym elementem jest dieta bogata w czerwone i przetworzone mięso [20,34]. Stąd uznano je za jeden z czynników środowiskowych promujących rozwój RJG. Mechanizm działania kancerogennego czerwonego mięsa nie został jak dotąd w pełni wyjaśniony. Bardzo prawdopodobnym wydaje się tu udział amin heterocyklicznych (HAA) i policyklicznych węglowodorów aromatycznych (PAH), które powstają podczas wysokotemperaturowej obróbki czerwonego mięsa [35]. Są to związki sklasyfikowane w kategorii 2 przez Międzynarodową Agencję do Badań nad Rakiem (z ang: The International Agency for Research on Cancer), określane jako prawdopodobnie kancerogenne u ludzi [33]. Dlatego w dalszym etapie badań szczególną uwagę poświęciłam spożyciu czerwonego mięsa u pacjentów z RJG i osób bez raka. Potwierdzenie ewentualnych zależności pomiędzy wysokim spożyciem czerwonego mięsa u osób o obniżonej aktywności detoksyfikacyjnej wynikającej z polimorfizmu genów *GST*, a ryzykiem rozwoju RJG pozwoliłoby w przyszłości lepiej dopasować zalecenia profilaktyczne do tej grupy pacjentów. Potencjalnie kancerogenne związki czerwonego mięsa (HAA i PAH) znajdują się również w dymie tytoniowym, dlatego istotne również dla tej części badań było wykluczenie palaczy podczas rekrutacji pacjentów.

Do oceny częstości spożycia czerwonego mięsa u pacjentów rekrutowanych do badania zarówno w grupie z rakiem jelita grubego jak i kontrolnej zastosowano kwestionariusz wywiadu FFQ (food frequency questionnaire) opracowany przez Zakład Epidemiologii Żywienia i Norm, Instytutu Żywności i Żywienia w Warszawie. Częstość spożycia mięsa analizowano w podziale na niskie (nie więcej niż 6 razy w tygodniu) i wysokie (7 razy na tydzień lub częściej). Wyniki ujawniły szereg ciekawych obserwacji i wniosków, które opublikowałam w pracy **Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzyska I, Chrapek M, Lewitowicz P, Radowicz-Chil A, Klusek J, Gluszek S. Nutritional factors modulating the risk of colorectal cancer in people with polymorphism of the S-glutathione transferase genes, *Nutrients*. 2019; 11 (7):1682.**

Z moich badań wynika, że spożycie czerwonego mięsa (głównie wołowina i wieprzowina) pod postacią dań gotowanych, pieczonych, smażonych jak i różnego rodzaju wędlin i podrobów w populacji polskiej jest bardzo wysokie. Aż 81.1% wszystkich osób biorących udział w badaniu zadeklarowało codzienne, lub częstsze spożycie tej grupy produktów. Wysoka częstość spożycia mięsa wiązała się z ponad dwukrotnym wzrostem ryzyka zachorowania na raka jelita grubego. Niemniej, kiedy przeanalizowałam korelację pomiędzy częstością spożycia czerwonego mięsa i polimorfizmem genów *GST* w ryzyku rozwoju RJG, zauważyłam, że w przypadku braku polimorfizmów wszystkich trzech analizowanych genów nie ma związku między wysoką częstością spożycia mięsa, a wystąpieniem RJG.

Badanie to wykazało **podwyższone ryzyko zachorowania na RJG u osób z polimorfizmem genów *GST* i o wysokim spożyciu czerwonego i przetworzonego mięsa (ponad 1 raz/ dzień).** W grupie kontrolnej (bez zmian w jelicie grubym obecnie) cechy te wykazuje aż 69.1% osób, które **należałoby objąć stałym monitoringiem. Istnieje bowiem 3-krotnie wyższe niż populacyjne ryzyko, że w przyszłości może się u nich rozwinąć rak jelita grubego.**

Podsumowując, dzięki badaniom prowadzonym w ramach projektu nad polimorfizmem genetycznym i dietą pacjentów, uzyskałam wyniki mające wpływ na zdrowie społeczeństwa, szczególnie w kontekście chorób nowotworowych przewodu pokarmowego. Zbadałam średnią częstość spożywania czerwonego mięsa w reprezentatywnej populacji polskiej. Częstość tę określiłam jako wysoką, zwłaszcza na tle innych krajów. Biorąc pod uwagę, iż czerwone mięso jest uznanym czynnikiem kancerogennym, wyniki te sugerują, że należałoby skupić się na

edukacji społeczeństwa odnośnie profilaktyki żywieniowej chorób nowotworowych. Zbadałam częstotliwość występowania polimorfizmu genów *GST* w populacji polskiej. Wyniki nie odbiegały od wyników innych badaczy z całego świata, a zwłaszcza z Europy. Wykazanie współzależności pomiędzy polimorfizmem wspomnianych genów i spożyciem czerwonego mięsa w rozwoju raka jelita grubego pozwoli w przyszłości na wyselekcjonowanie grupy ryzyka, którą należałoby objąć obserwacją i profilaktycznymi badaniami kolonoskopowymi w kierunku diagnostyki raka jelita grubego.

W toku prowadzonych badań zauważyłam, że w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego stosunkowo często (średnio co u 3-go pacjenta) występuje, jako choroba współistniejąca, cukrzyca typu 2 (T2D).

Jest to kolejna obok nowotworów przewodu pokarmowego, dietozależna choroba cywilizacyjna o wysokiej zachorowalności i śmiertelności na całym świecie [37].

W Polsce, według statystyk IDF (International Diabetes Federation) dotyczy ona obecnie ponad 2,6 mln osób dorosłych [38], niemniej coraz częściej obserwuje się zachorowania wśród dzieci i młodzieży, zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych [39]. Choroba ta charakteryzuje się zaburzeniami wydzielania insuliny przez komórki beta w trzustce oraz insulinoopornością tkanek, co skutkuje chroniczną hiperglikemią i innymi zaburzeniami metabolicznymi. Jej patogeneza jest bardzo złożona i angażuje zarówno czynniki środowiskowe, jak i komponentę genetyczną [40]. W badaniach GWAS (Genome Wide Association Study) wykryto niedawno związek aż 250 - 400 regionów genetycznych z predyspozycją do T2D [40-42]. Wśród nich znajdują się również geny związane z aktywnością antyoksydacyjną [40]. Polimorfizmy tych genów wiążą się z upośledzeniem aktywności enzymów oksydacyjnych w komórkach, co z kolei powoduje podwyższony poziom rodników tlenowych. Uszkodzenie komórek przez te wysoce reaktywne cząsteczki leży u podłoża procesów patologicznych prowadzących do rozwoju cukrzycy, czy nowotworów. Wydaje się, że insulinooporność, czy dysfunkcja trzustkowych komórek beta są więc związane ze stresem oksydacyjnym [43]. Badane przeze mnie geny transferaz-S glutationu należą do mechanizmów antyoksydacyjnych [44,45]. Wpływ polimorfizmów genów *GST* na zwiększone ryzyko wystąpienia T2D oraz jej powikłań wykazano kilkakrotnie w ciągu ostatnich lat [39,45-49].

Na tej podstawie opracowałam projekt, którego celem było **zbadać częstość polimorfizmu genów *GST* w populacji chorych na T2D w porównaniu do osób zdrowych i sprawdzić, czy ten polimorfizm jest czynnikiem ryzyka T2D**. Do badania typu case-control zrekrutowałam grupę 200 niespokrewnionych, dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 2 potwierdzoną diagnozą specjalisty diabetologa na podstawie kryteriów ADA (American

Diabetes Association) [50]. Cięża, choroby nowotworowe, zespół Cushing'a i inne zaburzenia prowadzące do podwyższenia glikemii stanowiły kryterium wyłączenia z badania. Grupa kontrolna obejmowała 221 osób bez zdiagnozowanych stanów hiperglikemii aktualnie, lub w przeszłości i bez występowania T2D w rodzinie, również z wyłączeniem wspomnianych stanów. Osoby te dopasowano wiekiem do momentu diagnozy T2D w grupie badanej. Grupa kontrolna różniła się od badanej pod względem rozkładu płci, dlatego wyniki przeanalizowano również dla każdej płci osobno. Szczegółowa metodyka zawierająca zastosowane techniki genetyczne oraz metody statystyczne, a także charakterystykę demograficzną grup została przedstawiona w publikacji [51].

Wstępne wyniki, porównujące występowanie genotypów *GSTT1null* i *GSTM1null* w populacji badanej vs kontrolnej, zostały zaprezentowane w październiku 2019 na międzynarodowym Kongresie „Asia Diabetes 2019” w Kuala Lumpur, w Malezji, w formie posteru „Polymorphism of *GSTM1* and *GSTT1* genes and Diabetes Mellitus Type II occurrence – preliminary study”. Zaobserwowana częstotliwość badanych polimorfizmów nie różniła się od danych epidemiologicznych dla rasy kaukaskiej. W przypadku genów *GSTM1* i *GSTT1* homozygotyczna delecja występowała nieznacznie częściej w populacji chorych na T2D. Analiza obu delecji łącznie (*GSTM1null* i *GSTT1null*) ujawniła wyraźniejszą przewagę częstości w grupie chorych, jednak przy tej liczebności grup przewaga prawie 5 punktów procentowych nie była istotna statystycznie. Tendencja ta wymaga więc potwierdzenia na większej kohorcie.

Większość przypadków cukrzycy typu 2 diagnozowanych jest po 40 r.ż. zarówno w Polsce, jak i na całym świecie [47,52,53]. Co więcej, amerykańska organizacja do walki z cukrzycą (US Preventive Service Task Force) rekomenduje skrinning w kierunku cukrzycy osób powyżej 40 r.ż. z nadwagą i otyłością. Fakt ten oraz zalecenie znajdują odbicie w moich wynikach. Mianowicie, w grupie badanej, w której wiek nie stanowił ograniczenia w rekrutacji, średnia wieku diagnozy T2D w grupie pacjentów wyniosła 54.1 lat, średnie BMI zaś 30.9 [51]. Analizując wiek zrekrutowanych grup zauważyłam jednak, że 8% pacjentów z T2D zachorowało w wieku młodszym niż 40 lat. Obserwacja ta skłoniła mnie do analizy wpływu polimorfizmu badanych genów w podziale na podgrupy wiekowe. Wykazałam, że **częstotliwość genotypów *GSTP1Val/Val*, *GSTM1null* oraz *GSTT1null* jest wyższa u chorych, u których T2D zdiagnozowano przed 40-tym rokiem życia** w porównaniu do pacjentów z później zdiagnozowaną cukrzycą i do grupy kontrolnej. Wraz ze wzrostem kombinacji polimorfizmów w genotypie rosła różnica częstotliwości pomiędzy analizowanymi podgrupami, przy czym należy zaznaczyć, że BMI nie różniło się istotnie, a więc nadmierna

masa ciała, będąca czynnikiem sprzyjającym cukrzycy, nie wpływała jednak na wiek zachorowania. Uzyskane wyniki wskazujące, że polimorfizm genów *GST* może być czynnikiem ryzyka zachorowania na cukrzycę typu 2 w wieku młodszym niż średnia populacyjna, opublikowałam w pracy: **Klusek J, Błońska-Sikora E, Witczak B, Orlewska K, Klusek J, Gluszek S, Orlewska E. Glutathione S-transferases gene polymorphism influence on the age of diabetes type 2 onset. BMJ Open Diabetes Research and Care 2020;8:e001773. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001773.**

Obie jednostki chorobowe będące przedmiotem mojego naukowego zainteresowania: T2D i RJG należą do chorób cywilizacyjnych o wysokiej zachorowalności oraz śmiertelności na całym świecie. Fakt, że u wielu spośród zrekrutowanych pacjentów z rakiem występuje cukrzyca typu 2 jako choroba współistniejąca, sugeruje związek pomiędzy tymi jednostkami chorobowymi. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że pacjenci z cukrzycą mają o 27% wyższe ryzyko rozwoju RJG w stosunku do nie-diabetyków [54]. Zjawisko to nie zostało w pełni wyjaśnione. Sugeruje się, że związek ten opiera się na wspólnych patomechanizmach zaangażowanych w rozwój obu chorób, takich jak przewlekły stan zapalny, stres oksydacyjny, zmiany w mikrobiocie, czy nadwaga. Ponadto czynnikami sprzyjającymi RJG są hiperglikemia, hiperinsulinemia, czy insulinooporność obserwowane w cukrzycy [54]. Nie można wykluczyć również predyspozycji genetycznych wiążących te dwie choroby. W badaniach analizujących polimorfizmy genów sprzyjające rozwojowi cukrzycy, lub nowotworów, wielokrotnie pojawiają się te same czynniki genetyczne [55-57]. Są to na przykład geny związane z metabolizmem węglowodanów, lub tłuszczów, regulacją ekspresji genów, transportem jonów, czy wreszcie procesami detoksyfikacyjnymi w komórce [56,57]. Ponieważ w toku moich badań zaobserwowałam wpływ polimorfizmów genów *GST* na różne aspekty zarówno w cukrzycy, jak i w raku jelita grubego, a ponadto doniesienia literaturowe wskazują na powiązania genotypu *GST* z obiema jednostkami chorobowymi [55] postawiłam tezę stanowiącą kolejny cel szczegółowy mojego osiągnięcia: **Czy polimorfizm genów *GST* może być czynnikiem powodującym zwiększone ryzyko zachorowania na RJG pacjentów z cukrzycą?** Dysponując bazą danych i bankiem krwi obwodowej chorych, przeanalizowałam częstość polimorfizmów genów *GSTP1*, *GSTT1* i *GSTM1* w podziale na 4 grupy: I – pacjenci z T2D i RJG; II – pacjenci z T2D bez RJG; III – pacjenci bez T2D, z RJG; IV- kontrola bez obu jednostek chorobowych. Badanie genetyczne obejmowało polimorfizm genu *GSTP1* typu SNP Ile105Val oraz homozygotyczne delecje genów *GSTT1* i *GSTM1* (genotypy *GSTT1*null i *GSTM1*null). Średni wiek pacjentów biorących udział w badaniu wynosił 66 lat, czyli znacznie powyżej populacyjnego wieku zachorowania na T2D, a także na RJG w Europie. Grupy były

też jednolite pod względem rozkładu płci. Analiza częstotliwości polimorfizmów genów GST w grupie pacjentów z cukrzycą typu 2 i rakiem jelita grubego w porównaniu do pacjentów z cukrzycą typu 2 bez raka, nie wykazała istotnych statystycznie różnic. Nie było również istotnych statystycznie różnic w dystrybucji polimorfizmów genów GST pomiędzy diabetykami lub/i chorymi na RJG a grupą bez obu tych schorzeń. Uzyskane wyniki opublikowałam w pracy **Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Orlewska K, Madej Ł, Klusek J, Cedro A, Gluszek S, Wawrzycka I, Orlewska E, 2021. "GST gene family polymorphism and the risk of colorectal cancer in patients with type 2 diabetes". *Medical Studies/Studia Medyczne* 37 (3): 218-225. doi:10.5114/ms.2021.109529**. Na wykazany w badaniu brak korelacji pomiędzy polimorfizmem genów GST, a zwiększeniem ryzyka rozwoju RJG u diabetyków mogły mieć wpływ dodatkowe czynniki, na przykład leczenie metforminą, lub tiazolidinedionami, które wywołuje efekt chemoprewencyjny w stosunku do raka jelita grubego [58-60]. Również czynniki dietetyczne mogły zakłócić wpływ genotypu na ryzyko kancerogenezy. Dlatego uzyskane wyniki skłaniają mnie przede wszystkim do rozszerzenia analizy na dodatkowe geny i czynniki środowiskowe oraz uwzględnienie ich wzajemnych korelacji w dalszym poszukiwaniu patomechanizmów wiążących cukrzycę typu 2 z rakiem jelita grubego.

Na końcu pragnę przedstawić prace, które stały się inspiracją do przeprowadzonych badań w zakresie genetycznych i dietetycznych czynników ryzyka RJG i cukrzycy typu 2, dlatego uważam je za istotne elementy mojego osiągnięcia naukowego. Światowe doniesienia naukowe analizowane przeze mnie podczas opracowywania dwóch prac przeglądowych w początkowym okresie mojego zatrudnienia na stanowisku adiunkta w UJK, stały się bowiem podstawą do wyprowadzenia tezy badawczej, a także polem do przedyskutowania moich własnych wyników prac oryginalnych.

W pierwszej kolejności przegląd literatury pozwolił mi uzyskać obraz aktualnego stanu wiedzy w temacie wpływu diety na rozwój raka jelita grubego i innych nowotworów przewodu pokarmowego (**Klusek J, Gluszek S, Koziel D. What is new in gastrointestinal cancer prevention - a review of the literature 2009-2010. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2011;6(2):78-84. doi:10.5114/pg.2011.21717**). Przeanalizowane badania nasuwają wniosek, że do nowych wyników należy podchodzić z umiarkowanym entuzjazmem, gdyż wiele substancji, które wydają się mieć dobroczynne działanie w danym aspekcie, w innym mogą zaszkodzić. Przegląd takich niefortunnych zaleceń przedstawiono w *American Journal of Epidemiology* (2010) [61], gdzie opisano w chronologicznej kolejności „odkryć” różne witaminy (w tym β -karoten) jako nowych bohaterów w profilaktyce raka,

stosunkowo szybko detronizowanych jednak przez nowsze badania [62]. Wyniki opisywane w mojej pracy chociaż nie dają podstaw do nowych zaleceń, to rozszerzają wiedzę na temat mechanizmów, leżących u podłoża zaleceń już stosowanych w zakresie profilaktyki dietetycznej nowotworów.

W kolejnej pracy włączonej do osiągnięcia naukowego analizowałam aspekt genetyczny predyspozycji do zachorowania na raka jelita grubego na podstawie dostępnych doniesień naukowych. Przegląd aktualnych badań przedstawiony w pracy **Klusek J, Gluszek S, Klusek J. Selected mutations with high risk of colorectal cancer. Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny. 2012;7(1):1-6** dotyczył głównie mutacji niosących ze sobą duże ryzyko rozwoju postaci dziedzicznej RJG (geny APC, KRAS, MUTYH, MMR). Wywołane przez nie zmiany w szlakach biochemicznych prowadzące do kancerogenezy są stosunkowo dobrze poznane. Niemniej to jednak tzw. raki sporadyczne stanowią większość zachorowań (ok 70% przypadków RJG) [63] i tu indywidualne podejście profilaktyczne wydaje się mieć największe znaczenie. W przypadku niedziedzicznych nowotworów, genetyczne predyspozycje do rozwoju raka jelita grubego należy traktować jako kombinację zmian w genach o niskiej penetracji, które w sposób tylko umiarkowany zwiększają ryzyko zachorowania.

Obie prace pozwoliły mi na szerokie spojrzenie na epidemiologię i patomechanizmy chorób nowotworowych, co było ważnym aspektem do późniejszego ostrożnego i wyważonego wnioskowania w interpretacji moich własnych wyników oraz w realizacji celów badawczych.

4.3.3. Podsumowanie

Choroby będące przedmiotem moich badań są ważne z punktu widzenia epidemiologicznego, klinicznego i ekonomicznego. Pomimo stosowanych obecnie zaleceń profilaktycznych ich zachorowalność nie zmniejsza się, a statystyka występowania i śmiertelności z ich powodu, szczególnie w krajach rozwiniętych stale rośnie. Dlatego też dokładne poznanie patomechanizmów na molekularnym poziomie oraz czynników zwiększających ryzyko zachorowania wydaje się bardzo istotne dla celów rozszerzonej profilaktyki a także potencjalnej indywidualizacji leczenia.

Podsumowując moje dotychczasowe osiągnięcie naukowe, w ciągu ostatnich 10-ciu lat przeanalizowałam korelację pomiędzy polimorfizmami genów *GST* i spożyciem czerwonego mięsa na ryzyko i rozwój wybranych chorób cywilizacyjnych. Zbadałam częstotliwość

polimorfizmów genów GST w reprezentatywnej populacji polskiej, dostarczając empirycznych danych odnośnie występowania określonych genotypów w jednolitej kohorcie rasy kaukaskiej. Zgodnie z danymi z niedawno utworzonej ogólnopolskiej bazy danych genetycznych „Nasze genomy”, populacja polska jest genetycznie homogenna i wywodzi się od jednolitych genetycznie przodków z centralnej Europy, z niskim procentem domieszki genetycznej [64]. Wykazałam, że w reprezentatywnej grupie (w sumie genotypowanie objęło ponad 700 osób) mieszkańców województwa świętokrzyskiego, częstotliwość poszczególnych alleli genów GST jest jednoznaczna z danymi epidemiologicznymi dla Europy na podstawie bazy NCBI [65].

Przeanalizowałam korelację genotypów o teoretycznym znaczeniu w patomechanizmie dwóch chorób cywilizacyjnych – cukrzycy typu 2 i raka jelita grubego - z ich wystąpieniem i przebiegiem. Stwierdziłam istotne statystycznie zależności pomiędzy polimorfizmami genów GST, a inwazyjnością raka jelita grubego, metastazą, wiekiem zachorowania na cukrzycę oraz trudnościami w uzyskaniu oczekiwanych wskaźników leczenia - poziomu HbA1c w przebiegu cukrzycy typu 2. Wykazałam więc, że są to geny o potencjalnym znaczeniu w ryzyku i przebiegu tych dwóch chorób cywilizacyjnych. Wyniki te, opublikowane w czasopiśmie o światowym zasięgu, dostarczają danych, które w przyszłości mogą przyczynić się do doprecyzowania metod i zaleceń profilaktycznych a także personalizacji leczenia.

Wykazałam - w populacji polskiej - wysokie spożycie czerwonego mięsa, uznawanego za czynnik sprzyjający kancerogenezie w jelicie grubym. Wykazałam wpływ polimorfizmu genów GST na ryzyko rozwoju raka jelita grubego u osób o wysokim spożyciu czerwonego mięsa. Dane te wskazują na konieczność gwałtownej zmiany nawyków żywieniowych Polaków, oraz intensywnej edukacji dietetycznej, szczególnie w kontekście profilaktyki chorób nowotworowych i cukrzycy.

Zaobserwowałam znaczenie palenia tytoniu jako czynnika ryzyka rozwoju RJG. Palenie tytoniu od dawna uznane jest za czynnik ryzyka chorób nowotworowych. Uzyskane przez mnie wyniki potwierdzają silny związek dymu tytoniowego z rakiem jelita grubego.

Wykazałam, że sam polimorfizm GST nie jest czynnikiem wiążącym w sposób bezpośredni i oczywisty obie jednostki chorobowe. Należy więc dalej poszukiwać molekularnych mechanizmów, poprzez które cukrzyca typu 2 może zwiększać ryzyko zachorowania na raka jelita grubego.

Wyniki przedstawione w ramach mojego osiągnięcia naukowego poszerzają dotychczasową wiedzę podstawową dotyczącą patomechanizmów dwóch ważnych

epidemiologicznie i ekonomicznie chorób cywilizacyjnych, jednocześnie wykazują potencjał komercjalizacyjny poprzez budowanie podstaw do przyszłych rekomendacji w zakresie profilaktyki i leczenia spersonalizowanego.

4.3.4. Piśmiennictwo

1. Klusek J, Głuszek S, Kozieł D. What is new in gastrointestinal cancer prevention - a review of the literature 2009-2010. *Gastroenterology Review/ Przegląd Gastroenterologiczny*. 2011;6(2):78-84. doi:10.5114/pg.2011.21717.
2. Klusek J, Głuszek S, Klusek J. Selected mutations with high risk of colorectal cancer. *Gastroenterology Review/ Przegląd Gastroenterologiczny*. 2012;7(1):1-6. doi:10.5114/pg.2012.27215.
3. Perisetti A, Goyal H, Tharian B, Inamdar S, Mehta JL. Aspirin for prevention of colorectal cancer in the elderly: friend or foe?, *Ann Gastroenterol*, 2021, 34 (1):1-11, doi:10.20524/aog.2020.0556.
4. Thanikachalam K, Khan G. Colorectal cancer and Nutrition, *Nutrients*, 2019,11(1):164, doi.org/10.3390/nu11010164.
5. Chan D, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: Meta-analysis of prospective studies, *PlosOne*, 2011, 6(6):e20456;
6. Fan Y, Jin X, Man Ch, Gao Z, Wang X. Meta-analysis of the association between the inflammatory potential of diet and colorectal cancer risk. *Oncotarget*. 2017;nr: 1-9.
7. Jarosz M, Sekuła W, Rychlik E. Trends in Dietary Patterns, Alcohol Intake, Tobacco Smoking, and Colorectal Cancer in Polish Population in 1960-2008, *BioMed Research International*, 2013,doi:10.1155/2013/183204.
8. Ho V, Peacock S, Massey TE, et al. Meat-derived carcinogens, genetic susceptibility and colorectal adenoma risk. *Genes Nutr*, 2014, 9, 430, doi: 10.1007/s12263-014-0430-6
9. Klusek J, Głuszek S, Klusek J. GST gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer development, *Contemporary Oncology*, 2014, 18(4):219-221.
10. Hezova R, Bienertova-Vasku J, Sachlova M, Brezkova V, Vasku A, Svoboda M, Radova L, Kiss I, Vyzula R, Slaby O. Common polymorphisms in GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and susceptibility to colorectal cancer in the Central European population, *European Journal of Medical Research*, 2012, 17, 1:17.
11. Kassab A, Msolli A, Lakhdar R, Gharbi O, Miled A. Polymorphisms of glutathione –S-transferases M1, T1, P1 and susceptibility to colorectal cancer in a sample of the Tunisian population, *Med. Oncol*, 2014, 31(1):760.
12. Wang J, Joshi AD, Corral R, Siegmund KD, Le Marchand L, Martinez ME, Haile RW, Ahnen DJ, Sandler RS, Lance P, Stern MC. Carcinogen metabolism genes, red meat and poultry intake, and colorectal cancer risk. *Int J Cancer*. 2012, 130(8):1898-1907, doi:10.1002/ijc.26199.
13. Stoian A, Bănescu C, Bălașa RI, Moțășăianu A, Stoian M, Moldovan VG, Voidăzan S, Dobreanu M. Influence of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms on type 2 Diabetes Mellitus and diabetic sensorimotor peripheral neuropathy risk, *Disease Markers*, 2015, doi: 10.1155/2015/638693.
14. Raza ST, Abbas S, Ahmad A, Ahmed F, Zaidi ZH, Mahdi F. Association of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) and FTO gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus cases in northern India, *BJMG*, 2014, 17(1):47-54, DOI: 10.2478/bjmg-2014-0027.

15. Moasser E, Azarpira N, Shirazi B, Saadat M, Geramizadeh B. Genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase M1 and T1 genes with risk of diabetic retinopathy in Iranian population. *Iran J Basic Med Sci*, 2014, 17 (5): 351-356.
16. Gönül N, Kadioglu E, Kocabaş NA, Ozkaya M, Karakaya AE, Karahalil B. The role of GSTM1, GSTT1, GSTP1 and OGG1 polymorphisms in type 2 diabetes mellitus risk: a case-control study in Turkish population. *Gene*.2012, 505:121-7.
17. Orlewski J, Orlewska E. Effects of genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) on the risk of diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Pol Arch Med Wew*, 2015, 125 (9):649-658.
18. <https://idf.org/our-network/regions-members/europe/members/152-poland.html> dostęp 22.06.2022
19. Gonzalez N, Prieto I, del Puerto-Nevado L, et al. 2017 update on the relationship between diabetes and colorectal cancer: epidemiology, potential molecular mechanisms and therapeutic implications. *Oncotarget*, 2017, 8(11):18456-18485.
20. Smolińska K, Paluszkiewicz P. Risk of colorectal cancer in relation to frequency and total amount of red meat consumption. Systematic review and meta-analysis, *Arch Med Sci*, 2010,6(4):605-610,doi: 10.5114/aoms.2010.14475.
21. Singh RR, Reindl KM. Glutathione S-Transferases in Cancer. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Apr 29;10(5):701. doi: 10.3390/antiox10050701. PMID: 33946704; PMCID: PMC8146591.
22. Saeed HM, Alanazi MS, Nounou HA, Shalaby MA, Semlali A, Azzam N, Aljebreen A, Alharby O, Parine NR, Shaik J. Cytochrome P450 1A1, 2E1 and GSTM1 gene polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer in the Saudi population, *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2013, 14(6): 3761-3768.
23. Gorukmez O, Yakut T, Gorukmez O, Sag SO, Topak A, Sahinturk S, Kanat O. Glutathione S-transferase T1, M1 and P1 Genetic Polymorphisms and Susceptibility to Colorectal Cancer in Turkey, *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(8):3855-3859.
24. Wormhoudt LW, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes, Relevance to xenobiotic metabolism and toxicity, *Crit. Rev. Toxicol.* 1999, 29: 59—124;
25. Koh WP, Nelson HH, Yuan JM, Van den Berg D, Jin A, Wang R, Yu MC. Glutathione S-transferase (GST) gene polymorphisms, cigarette smoking and colorectal cancer risk among Chinese in Singapore, *Carcinogenesis*, 2011, 32(10): 1507-1511.
26. Li J, Xu W, Liu F, Huang S, He M. GSTM1 polymorphism contribute to colorectal cancer in Asian populations: a prospective meta-analysis, *Scientific Reports*, 2015, 5:12514, DOI:10.1038/SREP12514;
27. Economopoulos KP, Sergeantanis TN, GSTM1, GSTT1, STP1, GSTA1 and colorectal cancer risk: A comprehensive meta-analysis, *Eur J Cancer*, 2010, 46(9):1617-31.
28. Safarinejad MR, Shaffiei N, Safarinejad SH. Glutathione S-transferase gene polymorphisms (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and prostate cancer: a case-control study in Tehran, Iran, *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 2011, 14:105-113.
29. Gonzalez CA, Lopez-Carrillo L. Helicobacter pylori, nutrition and smoking interactions: their impact in gastric carcinogenesis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 6-14.
30. Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975, 15: 617-631.
31. Aykan NF, Red meat and colorectal cancer, *Oncology Reviews*, 2015, 9:288.
32. Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzycka I, Lewitowicz P, Chrapek M, Głuszek S. GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms and colorectal cancer risk in Polish nonsmokers. *Oncotarget*. 2018 Apr 20;9(30):21224-21230. doi: 10.18632/oncotarget.25031. PMID: 29765533; PMCID: PMC5940415.
33. Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzycka I, Chrapek M, Lewitowicz P, Radowicz-Chil A, Klusek J, Głuszek S. Nutritional factors modulating the risk of colorectal cancer in people with

- polymorphism of the S-glutathione transferase genes, *Nutrients*. 2019; 11 (7):1682, DOI: 10.3390/nu11071682.
34. Zhu H, Yang X, Zhang C, Zhu C, Tao G, Zhao L, Tang S, Shu Z, Cai J, Dai S, Qin Q, Xu L, Cheng H, Sun X. Red and processed meat intake is associated with higher gastric cancer risk: A metaanalysis of epidemiological observational studies, *Plos One*, 2013, 8(8):e70955.
 35. Zhao Z, Yin Z, Zhao Q. Red and processed meat consumption and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis, *Oncotarget*, 2017 8(18): 30563-30575.
 36. Farvid MS, Sidahmed E, Spence ND, Mante Angua K, Rosner BA, Barnett JB. Consumption of red meat and processed meat and cancer incidence: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol*. 2021 Sep;36(9):937-951. doi: 10.1007/s10654-021-00741-9. Epub 2021 Aug 29. PMID: 34455534.
 37. Reed J, Bain S, Kanamarlapudi V. A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2021 Aug 10;14:3567-3602. doi: 10.2147/DMSO.S319895. PMID: 34413662; PMCID: PMC8369920.
 38. <https://www.idf.org/our-network/regions-members/europe/members/152-poland.html> dostęp 17.01.2023.
 39. Stoian A, Bănescu C, Bălașa RI, Moțățăianu A, Stoian M, Moldovan VG, Voidăzan S, Dobreanu M. Influence of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms on type 2 Diabetes Mellitus and diabetic sensorimotor peripheral neuropathy risk, *Disease Markers*, 2015, doi:10.1155/2015/638693
 40. Laakso M. Biomarkers for type 2 diabetes. *Mol Metab*. 2019 Sep;27S(Suppl):S139-S146. doi: 10.1016/j.molmet.2019.06.016. PMID: 31500825; PMCID: PMC6768493.
 41. Langenberg C, Lotta LA. Genomic insights into the causes of type 2 diabetes. *Lancet*. 2018 Jun 16;391(10138):2463-2474. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31132-2. PMID: 29916387.
 42. Mahajan A, Taliun D, Thurner M, Robertson NR, Torres JM, Rayner NW, Payne AJ, Steinthorsdottir V, Scott RA, Grarup N, Cook JP, Schmidt EM, Wuttke M, Sarnowski C, Mägi R, Nano J, Gieger C, Trompet S, Lecoeur C, Preuss MH, Prins BP, Guo X, Bielak LF, Below JE, Bowden DW, Chambers JC, Kim YJ, Ng MCY, Petty LE, Sim X, Zhang W, Bennett AJ, Bork-Jensen J, Brummett CM, Canouil M, Ec Kardt KU, Fischer K, Kardia SLR, Kronenberg F, Läll K, Liu CT, Locke AE, Luan J, Ntalla I, Nylander V, Schönherr S, Schurmann C, Yengo L, Bottinger EP, Brandslund I, Christensen C, Dedoussis G, Florez JC, Ford I, Franco OH, Frayling TM, Giedraitis V, Hackinger S, Hattersley AT, Herder C, Ikram MA, Ingelsson M, Jørgensen ME, Jørgensen T, Kriebel J, Kuusisto J, Ligthart S, Lindgren CM, Linneberg A, Lyssenko V, Mamakou V, Meitinger T, Mohlke KL, Morris AD, Nadkarni G, Pankow JS, Peters A, Sattar N, Stančáková A, Strauch K, Taylor KD, Thorand B, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Tuomilehto J, Witte DR, Dupuis J, Peyser PA, Zeggini E, Loos RJF, Froguel P, Ingelsson E, Lind L, Groop L, Laakso M, Collins FS, Jukema JW, Palmer CNA, Grallert H, Metspalu A, Dehghan A, Köttgen A, Abecasis GR, Meigs JB, Rotter JJ, Marchini J, Pedersen O, Hansen T, Langenberg C, Wareham NJ, Stefansson K, Gloyn AL, Morris AP, Boehnke M, McCarthy MI. Fine-mapping type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. *Nat Genet*. 2018 Nov;50(11):1505-1513. doi: 10.1038/s41588-018-0241-6. Epub 2018 Oct 8. PMID: 30297969; PMCID: PMC6287706.
 43. Felisbino K, Granzotti JG, Bello-Santos L, Guiloski IC. Nutrigenomics in Regulating the Expression of Genes Related to Type 2 Diabetes Mellitus. *Front Physiol*. 2021 Jul 21;12:699220. doi: 10.3389/fphys.2021.699220. PMID: 34366888; PMCID: PMC8334860.
 44. Teichman K, Kotfis K, Sieńko J. Biomarkers and Mechanisms of Oxidative Stress-Last 20 Years of Research with an Emphasis on Kidney Damage and Renal Transplantation. *Int J Mol Sci*. 2021 Jul 27;22(15):8010. doi: 10.3390/ijms22158010. PMID: 34360776; PMCID: PMC8347360.

45. Gönül N, Kadioglu E, Kocabaş NA, Ozkaya M, Karakaya AE, Karahalil B. The role of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and OGG1 polymorphisms in type 2 diabetes mellitus risk: a case-control study in a Turkish population. *Gene*. 2012 Aug 15;505(1):121-7. doi: 10.1016/j.gene.2012.05.025.
46. Bitarafan F, Khodaeian M, Tabatabaei-Malazy o, Amoli MM. Influencing of antioxidants' gene variants on risk of diabetes mellitus and its complications: A systematic review, *Minerva Endocrinol*. 2017, doi:10.23736/S0391-1977.17.02632-3.
47. Selph S, Dana T, Blazina I, Bougatsos C, Patel H, Chou R. Screening for type 2 diabetes mellitus: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2015;162(11):765-776
48. Banerjee M, Vats P, Kushwah AS, Srivastava N. Interaction of antioxidant gene variants and susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci*. 2019 Oct;76(4):166-171. doi: 10.1080/09674845.2019.1595869. Epub 2019 May 21. PMID: 30900957.
49. Raza S, Abbas S, Ahmad A, Ahmed F, Zaidi Zh, Mahdi F. Association of Glutathione-S-Transferase (GSTM1 and GSTT1) and FTO Gene Polymorphisms with Type 2 Diabetes Mellitus Cases in Northern India. *Balkan J Med Genet*. 2014 Dec 11;17(1):47-54. doi: 10.2478/bjmg-2014-0027. PMID: 25741215; PMCID: PMC4347477.
50. American Diabetes Association; Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1 January 2010; 33 (Supplement_1): S62–S69. <https://doi.org/10.2337/dc10-S062>.
51. Klusek J, Błońska-Sikora E, Witczak B, et al., Glutathione S-transferases gene polymorphism influence on the age of diabetes type 2 onset. *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2020;8:e001773. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001773.
52. Polakowska M, Piotrowski W. Incidence of diabetes in the Polish population, Results of the Multicenter Polish Population Health Status Study –WOBASZ, *Pol Arch Med Wew*. 2010, 121(5): 156-163.
53. Carstensen B, Rønn PF, Jørgensen ME. Prevalence, incidence and mortality of type 1 and type 2 diabetes in Denmark 1996-2016. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020 May;8(1):e001071. doi: 10.1136/bmjdr-2019-001071. PMID: 32475839; PMCID: PMC7265004.
54. Gonzalez N, Prieto I, del Puerto-Nevado L, et al. 2017 update on the relationship between diabetes and colorectal cancer: epidemiology, potential molecular mechanisms and therapeutic implications. *Oncotarget*, 2017, 8(11):18456-18485..
55. Mehrnoosh Khodaeian, Samaneh Enayati, Ozra Tabatabaei-Malazy, Mahsa M. Amoli, "Association between Genetic Variants and Diabetes Mellitus in Iranian Populations: A Systematic Review of Observational Studies", *Journal of Diabetes Research*, vol. 2015, Article ID 585917, 21 pages, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/585917>.
56. Khodaeian M, Enayati S, Tabatabaei-Malazy O, Amoli MM. Association between genetic variants and diabetes mellitus in Iranian populations: A systematic review of observational studies. *J Diab Res*, 2015, 585917,1-21, doi: 10.1155/2015/585917.
57. Piechowska AM, Wawszczak M, Cedro A, Głuszek S. Suppressor genes as molecular markers of colorectal cancer – a review of the latest reports. *Medical Studies/Studia Medyczne*. 2020;36(1):35-45. doi:10.5114/ms.2020.94087.
58. Higurashi T, Nakajima A. Metformin and colorectal cancer. *Front Endocrinol* 2018; 9: 622.
59. Liu F, Yan L, Wang Z, Lu Y, Chu Y, Li X, Liu Y, Rui D, Nie S, Xiang H. Metformin therapy and risk of colorectal adenomas and colorectal cancer in type 2 diabetes mellitus patients: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8: 16017-16026.
60. Liu Y, Jin PP, Sun XC, Hu TT. Thiazolidinediones and risk of colorectal cancer in patients with diabetes mellitus: a meta-analysis. *Saudi J Gastroenterol* 2018; 24: 75-81.
61. Byers T. Anticancer vitamins du Jour – The ABCED's so far. *Am J Epidemiol* 2010; 1:1-3
62. Druesne-Pecollo N, Latino-Martel P, Norat T, et al. Beta-carotene supplementation and cancer risk: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2010; 127: 172.

63. Gil J, Stembalska A, Łaczmańska I i wsp. Sporadyczny rak jelita grubego – czynniki modulujące indywidualną wrażliwość na zachorowanie. *Wspolcz Onkol* 2010; 14: 211-6.
64. Kaja, E.; Lejman, A.; Sielski, D.; Sypniewski, M.; Gambin, T.; Dawidziuk, M.; Suchocki, T.; Golik, P.; Wojtaszewska, M.; Mroczek, M.; Stępień, M.; Szyda, J.; Lisiak-Teodorczyk, K.; Wolbach, F.; Kołodziejaska, D.; Ferdyn, K.; Dąbrowski, M.; Woźna, A.; Żytkiewicz, M.; Bodora-Troińska, A.; Elikowski, W.; Król, Z.J.; Zaczynski, A.; Pawlak, A.; Gil, R.; Wierzba, W.; Dobosz, P.; Zawadzka, K.; Zawadzki, P.; Sztromwasser, P.—A Database of Polish Variant Allele Frequencies. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 4532. <https://doi.org/10.3390/ijms23094532>.
65. L. Phan, Y. Jin, H. Zhang, W. Qiang, E. Shekhtman, D. Shao, D. Revoe, R. Villamarin, E. Ivanchenko, M. Kimura, Z. Y. Wang, L. Hao, N. Sharopova, M. Bihan, A. Sturcke, M. Lee, N. Popova, W. Wu, C. Bastiani, M. Ward, J. B. Holmes, V. Lyoshin, K. Kaur, E. Moyer, M. Feolo, and B. L. Kattman. "ALFA: Allele Frequency Aggregator." National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 10 Mar. 2020, www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/docs/gsr/alfa/.

09.05.2023



data i podpis

4.4. Pozostałe osiągnięcia naukowe

Poza pracami włączonymi do osiągnięcia naukowego, realizuję dodatkowe tematy badawcze będąc członkiem różnych zespołów, również o charakterze międzynarodowym. Mój dorobek naukowy poza głównym osiągnięciem obejmuje obecnie 18 prac oryginalnych, 11 przeglądowych oraz 2 rozdziały w monografiach o sumarycznej punktacji **IF 41.194, MEiN 1186**.

Główne nurty tych badań obejmują następujące tematy:

4.4.1 Męski czynnik niepłodności

Moje zainteresowania naukowe skierowane były między innymi na problem niepłodności zależnej od czynnika męskiego. Statystycznie 8-12% par na świecie ma trudności w uzyskaniu potomstwa, z czego szacunkowo połowa przyczyn niepłodność zależy od czynnika męskiego. Standardowe postępowanie diagnostyczne nie zawsze prowadzi do ujawnienia przyczyny niemożności zajścia w ciążę partnerki. Dlatego poszukiwanie czynników wpływających na jakość nasienia wydaje się ważnym tematem w medycynie prokreacyjnej. W 2010 roku ukończyłam kurs doskonalący „Diagnostyka niepłodności męskiej” oraz szkolenie z komputerowej analizy nasienia (SCA/CASA), co pozwoliło mi na prowadzenie badań w tej tematyce.

Przedstawione w pracach zagadnienia obejmują morfologiczne i biochemiczne parametry nasienia wpływające na płodność, a także charakterystykę genów o potencjalnym znaczeniu dla jakości nasienia męskiego.

Klusek J, Głuszek S, Klusek J. Zależność pomiędzy aktywnością kwaśnej fosfatazy w plemnikach i plazmie nasienia, a parametrami nasienia rutynowo ocenianymi w diagnostyce niepłodności męskiej, *Studia Medyczne*, 2012, 26 (2):15-18,

MEiN 4

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu do publikacji, poprawie całego artykułu w odpowiedzi na recenzje i korespondencji z redakcją.

Witczak B, Klusek J, Klusek J. Genetic aspects of male infertility, *Studia Medyczne*, 2014, 30(4):276-279,

MEiN 3

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa przygotowaniu manuskryptu do publikacji, poprawie całego artykułu w odpowiedzi na recenzje i korespondencji z redakcją.

4.4.2. Znaczenie komórkowego stresu oksydacyjnego

Stres oksydacyjny rozumiany jako nierównowaga pomiędzy produkcją wolnych rodników a ich eliminacją, postrzegany jest obecnie jako przyczyna, lub patomechanizm wielu schorzeń, w tym cukrzycy i chorób nowotworowych. Zjawisko to pojawia się w różnych kontekstach w wielu projektach, w których biorę udział od wczesnych lat zatrudnienia w UJK, jak również we współpracy z innymi jednostkami naukowymi. Przedstawione poniżej prace przeglądowe traktują o znaczeniu diety w utrzymywaniu potencjału antyoksydacyjnego organizmu, o udziale wolnych rodników w homeostazie ustroju oraz reakcjach komórek na stres. Prace te dały mi szerokie spojrzenie na zjawisko stresu oksydacyjnego w procesach fizjologicznych oraz patologicznych ustroju i w dużym stopniu przyczyniły się do wyłonienia tezy badawczej omawianej w osiągnięciu naukowym.

Klusek J, Klusek J. Antyoksydanty w diecie człowieka, Edukacja biologiczna i środowiskowa, 2011, 3: 13-21;

MEiN 2

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu do publikacji i korespondencji z redakcją.

Tomasik E, Klusek J, Klusek J, Kamińska A. Reakcje komórek na stres adaptacyjny, Edukacja biologiczna i środowiskowa, 2012, 1:14-23,

MEiN 4

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa współtworzeniu manuskryptu .

Tomasik E, Klusek J, Klusek J, Kamińska A. Rola rodników tlenowych w procesach metabolicznych zwierząt, Edukacja biologiczna i środowiskowa, 2012, 1:5-13,

MEiN 4

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Klusek J, Klusek J. Antyoksydanty pochodzenia roślinnego. Zdrowie w ujęciu środowiskowym, społecznym i edukacyjnym. red. nauk. Jarosław Chmielewski, Ilona Żeber-

Dzikowska, Warszawa : Instytut Ochrony Środowiska - Państwowy Instytut Badawczy 2019, 77-89.

MEiN 20

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

4.4.3. Czynniki sprzyjające chorobom układu pokarmowego

W ramach powyższego tematu badawczego brałam udział w pracach różnych zespołów analizując czynniki modyfikowalne oraz niemodyfikowalne wpływające na układ pokarmowy. W poniższych publikacjach przedstawiono między innymi wpływ różnych czynników diety na układ pokarmowy. Analizie zostały poddane mechanizmy poalkoholowych uszkodzeń przewodu pokarmowego. Przewlekłe spożywanie alkoholu etylowego wpływa niekorzystnie na fizjologię i biochemię układu pokarmowego. Skutkami tych dysfunkcji są uszkodzenia jego tkanek i zaburzenia funkcji m.in. wątroby i trzustki. Chroniczne przyjmowanie etanolu doprowadza do zapaleń trzustki, zaburzenia motoryki przewodu pokarmowego i nieprawidłowego wchłaniania tłuszczów. Przedstawiono dietetyczne zalecenia w profilaktyce raka jelita grubego, jak również genetyczne aspekty tej choroby: polimorfizm genetyczny jako istotny czynnik ryzyka RJG oraz problem niestabilności mikrosatelitarnej w gruczolakach okrężnicy, będących stanami przedrakowymi. W ramach powyższego tematu analizowano również otyłość, jako problem cywilizacyjny oraz chirurgiczny.

Należy podkreślić, że część tych publikacji była efektem mojej współpracy naukowej ze studentami, którzy pod moją opieką przygotowywali prace dyplomowe.

Kozieł D, Matykiewicz J, Klusek J, Wawrzycka I, Głuszek S. Opieka okołoooperacyjna nad chorymi na otyłość – doświadczenia własne, *Studia Medyczne*, 2011, 24 (4):35-44;

MEiN 4

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Klusek J, Klusek J. Alkohol a układ pokarmowy, *Kosmos* 2012, 61(1):169-175; **MEiN 4**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Klusek J, Głuszek S, Klusek J. GST gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer development, Contemporary Oncology, 2014, 18(4):219-221, **MEiN 15**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Kamińska D, Klusek J, Klusek J. Role of diet in primary prevention of colorectal cancer, Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis. Studia ad Didacticam Biologiae Pertinentia, 2016, 215(6):20-30; **MEiN 4**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Klusek J, Lalewicz M, Klusek J, Otyłość jako choroba cywilizacyjna, Ochrona, prewencja i profilaktyka zdrowia, red. nauk. Jarosław Chmielewski, Aleksandra Kasperczyk, Monika Szpringer, Warszawa : Instytut Ochrony Środowiska - Państwowy Instytut Badawczy, 2017, 173-182.

MEiN 20

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Lewitowicz P, Głuszek S, Kozieł D, Horecka-Lewitowicz A, Chrapek M, Wolak P, Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A. Conventional colon adenomas harbor various disturbances in microsatellite stability and contain micro-serrated foci with microsatellite instability, PloSONE, 2017,12(2) 1-13, DOI: 10.1371/journal.pone.0172381

IF 2,766 MEiN 40

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Nawacki, Ł.; Kozłowska-Geller, M.; Wawszczak-Kasza, M.; Klusek, J.; Znamirowski, P.; Głuszek, S. Iatrogenic Injury of Biliary Tree—Single-Centre Experience. Int. J. Environ. Res. Public Health 2023, 20, 781. <https://doi.org/10.3390/ijerph20010781>

IF 4,614 MEiN 140

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

4.4.4. Genetyczne i społeczne aspekty COVID-19

Od wybuchu pandemii COVID-19, spowodowanej zakażeniem koronawirusem Sars-Cov-2, byłam zaangażowana w badania związane z tym tematem. Pierwsze prace obejmowały zagadnienia epidemiologiczne oraz wpływ choroby na jakość życia pacjentów. Wraz z zespołem badawczym analizowaliśmy też czynniki o potencjalnym znaczeniu dla ciężkości objawów i przebiegu zakażenia wirusem Sars-Cov-2, a także śmiertelność z powodu COVID-19 w Polsce na tle Europy. Prace te powstały na podstawie analizy danych statystycznych z dostępnych baz i raportów. Manifestacja zakażenia wirusem Sars-Cov-2 zwłaszcza w początkowych falach pandemii obejmowała bardzo szerokie spektrum: od bezobjawowej infekcji, po ostrą niewydolność oddechową, skutkującą nierzadko zgonem. Co więcej, trudno było jednoznacznie prognozować przebieg choroby COVID-19 u pacjenta zakażonego koronawirusem. Poznanie indywidualnych czynników ryzyka przebiegu choroby stało się obiektem wielu badań na całym świecie. Wśród czynników genetycznych potencjalne znaczenie dla ciężkości choroby COVID-19 mogą mieć geny związane z równowagą oksydoredukcyjną komórek. Stres oksydacyjny jest bowiem jednym z istotnych elementów patogenezы wirusowych chorób układu oddechowego, może również prowadzić do zwłóknienia płuc, jednego z najczęstszych powikłań choroby COVID-19. Zgodnie z danymi literaturowymi do genów związanych ze stresem oksydacyjnym należą geny transferaz glutationu GST. Na tej podstawie, w roku 2021 przygotowałam z zespołem projekt badawczy dotyczący polimorfizmu genów GST w prognozowaniu przebiegu choroby COVID-19. Nadzorowałam rekrutację 200 pacjentów ze zróżnicowanym przebiegiem zakażenia wirusem Sars-Cov-2 i przeprowadziłam analizy genetyczne w tej grupie. W badaniu stwierdziliśmy, że polimorfizm genu GSTP1, podobnie jak podwyższone BMI i podwyższony poziom glukozy na czczo mogą być czynnikami zwiększającymi ryzyko ciężkiego przebiegu COVID-19, co przedstawiono w pracy: **Orlewska, K.; Klusek, J.; Zarębska-Michaluk, D.; Kocańda, K.; Oblap, R.; Cedro, A.; Witczak, B.; Klusek, J.; Śliwczyński, A.; Orlewska, E. Association between Glutathione S-Transferases Gene Variants and COVID-19 Severity in Previously Vaccinated and Unvaccinated Polish Patients with Confirmed SARS-CoV-2 Infection. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2023, 20, 3752.**

Uzyskane w ramach realizowanych badań wyniki przyczyniają się do zrozumienia epidemiologii, patomechanizmów, oraz czynników prognostycznych, w przebiegu zakażenia wirusem Sars-Cov-2, a także oddziaływania pandemii COVID-19 na indywidualnego pacjenta oraz społeczeństwo.

Orlewska K, Klusek J. COVID-19 in Poland: potential associations with epidemiology, population and healthcare quality. Archives of Medical Science. 2020. doi:10.5114/aoms.2020.98236.

IF-2,807 MNiSW 70

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa współtworzeniu manuskryptu.

Orlewska K, Orlewski P, Klusek J. Factors potentially influencing case fatality rate in different stages of COVID-19 outbreak in Europe. Arch Med Sci, 2021, DOI: <https://doi.org/10.5114/aoms/136046>

IF 2,807 MEiN 70

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Orlewska, K.; Kozieł, D.; Klusek, J.; Orlewska, E. Burden of COVID-19 Mortality and Morbidity in Poland in 2020. Int. J. Environ. Res. Public Health 2022, 19, 5432. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095432>

IF 3,39 MEiN 140

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Orlewska, K.; Klusek, J.; Zarębska-Michaluk, D.; Kocańda, K.; Oblap, R.; Cedro, A.; Witczak, B.; Klusek, J.; Śliwczyński, A.; Orlewska, E. Association between Glutathione S-Transferases Gene Variants and COVID-19 Severity in Previously Vaccinated and Unvaccinated Polish Patients with Confirmed SARS-CoV-2 Infection. Int. J. Environ. Res. Public Health **2023**, 20, 3752. <https://doi.org/10.3390/ijerph20043752>

IF 4,616 MEiN 140

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badawczej i metodologii badań, organizacji i nadzorze nad rekrutacją pacjentów, przeprowadzeniu badań (częściowa analiza genetyczna), opracowaniu bazy danych, krytycznej analizie wyników i współtworzeniu manuskryptu.

4.4.5. Polimorfizm genów NOS w chorobach cywilizacyjnych

Aktualnie w moich badaniach nad wpływem polimorfizmu genów na ryzyko i przebieg cywilizacyjnych chorób dietozależnych rozszerzyłam analizowany panel genów, skupiając się na polimorfizmach genów NOS (z ang: Nitric Oxide Synthase) kodujących enzymy zaangażowane w produkcję tlenku azotu (NO). Jest to krótkotrwała cząsteczka odpowiadająca

za wazodylatację, relaksację mięśni gładkich oraz procesy odpornościowe, jednak podwyższony poziom NO może uszkadzać tkanki, podwyższać proliferację komórek, indukować cytotoksyczność i angiogenezę, a więc sprzyjać kancerogenezie. Indukowalna syntaza tlenu azotu (iNOS) kodowana przez gen NOS2 ulega ekspresji podczas procesu zapalnego i produkuje więcej NO niż pozostałe syntazy tlenu azotu łącznie. Jednym z najczęstszych polimorfizmów genu NOS2 w Europie jest SNP rs2297518, który powoduje substytucję aminokwasu seryny na leucynę w pozycji 608 łańcucha aminokwasowego. Substytucja ta, zlokalizowana w centrum aktywnym enzymu, wpływa na aktywność katalityczną białka iNOS, stąd genotyp rs2297518 skutkuje podwyższoną produkcją NO w komórkach, chociaż nie wpływa na ekspresję genu NOS2. W tym mechanizmie polimorfizm genu NOS2 (rs2297518) może podwyższać stres oksydacyjny w komórkach. Przeprowadzone przez mnie w ostatnim czasie genotypowanie grupy pacjentów z RJG i grupy kontrolnej ujawniło różnice w częstotliwości tego polimorfizmu w podziale na raki lewostronne i prawostronne. Aktualnie przygotowuję do druku publikację opisującą tę zależność (**Klusek J, Oblap R, Lewitowicz P, Orlewska E, Witczak B, Klusek J, Marzec MT, Kozłowska-Geller M, Nawacki M, Wawszczak-Kasza M, Gluszek S. NOS-2 polymorphism and colorectal cancer localization...**)

Zgodnie z doniesieniami literaturowymi geny NOS i ich polimorfizmy potencjalnie mogą wpływać również na rozwój cukrzycy typu 2 oraz jej powikłań. Obecnie prowadzę analizy genetyczne również dla tej grupy chorych.

5. Istotna aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni

5.1. Zakres międzynarodowej współpracy naukowej

Od dwóch lat moja aktywność naukowa obejmuje badania realizowane we współpracy z Uniwersytetem Kopenhaskim w Danii. W roku 2021 (26.07-30.10) odbyłam staż naukowy w Wydziale Nauk Biomedycznych Uniwersytetu Kopenhaskiego (UCPH, Dania), który zapoczątkował kooperację pomiędzy naszymi Instytutami w kilku projektach. W ramach stażu uczestniczyłam w pracach zespołu badającego patomechanizmy cukrzycy na poziomie molekularnym. W oparciu o wstępne wyniki badań przyjmującego laboratorium, planowany program stażu obejmował sekwencjonowanie promotora genu PSMB8 (kodującego podjednostkę proteasomu) celem analizy możliwych wariacji (single nucleotide

polymorphism; SNP) w populacji pacjentów z typem 2 cukrzycy i odpowiednich kontroli. Następnie, zaobserwowane SNP'y były analizowane *in silico* pod kątem potencjalnego wpływu na wiązanie czynników transkrypcyjnych oraz w bazie danych przyjmującego laboratorium, aby określić ich korelacje z poziomem ekspresji PSMB8 w próbkach pacjentów z cukrzycą. Zadania te przyczyniły się do poszerzenia mojego doświadczenia w zakresie najnowszych technologii stosowanych w genetyce medycznej (sekwencjonowanie genów, „knock-out” genowy z udziałem CRISPR/Cas9, etc.). Ponadto włączyłam się w prace międzynarodowego zespołu kierowanego przez dr'a Michała Marca (Associate Professor, Panum Institute, Biomedicine Department, UCPH), nad czynnikami wpływającymi na poziom i fałdowanie proinsuliny w warunkach hodowli komórkowych. Rozpoczętą w ramach mojego stażu współpracę z zespołem mogłam kontynuować w kolejnym roku, 2022-gim, dzięki zatrudnieniu dr'a Marca na stanowisku profesora wizytującego w Collegium Medicum UJK, który aktywnie włączył się w moje aktualne badania naukowe, w wyniku czego, we współpracy z Uniwersytetem Kopenhaskim powstał nowy projekt badawczy dotyczący sprawdzenia tezy, czy polimorfizm genu *GSTP1* może podwyższać ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 u osób zdrowych i jaki jest potencjalny mechanizm tego zjawiska. Wcześniejsze badania pokazały, że istnieje statystycznie istotna zależność pomiędzy genotypem *GSTP1* 105Val, a poziomem HbA1c u pacjentów z T2D. Wykazałam, że polimorfizm genu *GSTP1* sprzyja rozwojowi cukrzycy typu 2 w młodszym wieku. Ponadto, zgodnie z szacunkami IDF (International Diabetes Federation) prawie połowa przypadków cukrzycy pozostaje niezdiagnozowana. Wydaje się więc uzasadnioną próba oceny wpływu tego polimorfizmu na ryzyko rozwoju cukrzycy u osób, które nie mają zdiagnozowanych zaburzeń glikemii. Badając związek poziomu HbA1c z genotypem *GSTP1* będziemy mogli przyczynić się do wyłonienia grupy podwyższonego genetycznie ryzyka T2D, jak również potencjalnie wykryć niezdiagnozowane przypadki cukrzycy, lub stanu przedcukrzycowego. Poziom hemoglobiny glikowanej HbA1c we krwi jest długofalową miarą glikemii, która, u osób zdrowych, zależna jest przede wszystkim od diety. Aby wykazać ewentualny wpływ profilu genetycznego na HbA1c, należy w analizie uwzględnić aspekt diety. Niemniej, polimorfizm genu *GSTP1* poprzez potencjalne upośledzanie aktywności enzymatycznej kodowanej transferazy glutationowej może podwyższać stres tlenowy i uszkadzać komórki beta w trzustce. W ten sposób może wpływać na poziom glukozy we krwi. Jak dotąd w swoich badaniach analizowałam polimorfizm o potwierdzonej wysokiej częstotliwości w Europie oraz sugerowanym w doniesieniach literaturowych wpływie na aktywność enzymatyczną kodowanej transferazy glutationowej (rs1695). Gwałtowny rozwój i rozbudowanie w ostatnich latach Pracowni Genetyki Medycznej

w Collegium Medicum UJK, jak również odbycie przez mnie kursów i szkoleń z zakresu techniki NGS (z ang: Next Generation Sequencing) umożliwia mi aktualnie zbadanie sekwencji całego genu GSTP1 w poszukiwaniu również innych polimorfizmów, które mogą mieć istotne znaczenie w patomechanizmie chorób cywilizacyjnych. Nawiązanie współpracy naukowej z Instytutem Biomedycznym w Uniwersytecie Kopenhaskim, pozwoli mi też na empiryczne sprawdzenie wpływu wykrytych potencjalnie polimorfizmów na ekspresję genu, trwałość i funkcjonalność produktu białkowego, poprzez wykreowanie mutantów w badaniach na modelowych liniach komórkowych. Ta część badań realizowana będzie pod kierunkiem dr'a Marca, którego doświadczenie jest kluczowe dla powodzenia badań *in vitro*. Wniosek, o finansowanie projektu został złożony pod moim kierownictwem w konkursie Opus24 Narodowego Centrum Nauki w grudniu 2022 roku. **Klusek J, Orlewska E, Głuszek S, Orlewska K, Marzec MT, Współzależność pomiędzy polimorfizmem genu GSTP1 (jego ekspresją, trwałością w komórce i aktywnością enzymatyczną w stosunku do genotypu wild w modelowych komórkach) i dietą, a poziomem HbA1c u osób zdrowych; grant NCN, Opus 24, 15.12.2022; nr wniosku w systemie OSF: No568251.** Ponadto uczestniczy w badaniach nad polimorfizmem genów NOS w raku jelita grubego (temat opisany w podrozdziale 4.4.6)

Z kolei mój wkład w realizację tematów badawczych zespołu Instytutu Biomedycznego UCPH, obejmował udział w projekcie dotyczącym potencjalnego udziału białek opiekuńczych w patomechanizmie cukrzycy. Naukowcy coraz częściej podkreślają, że nieprawidłowe fałdowanie prohormonu insuliny (proinsuliny, PI) może być ważnym zjawiskiem we wczesnych etapach rozwoju cukrzycy, poprzez dekompensację produkcji insuliny w stosunku do potrzeb organizmu.

W ramach tych badań analizowany był wpływ zaburzeń fałdowania proinsuliny na aktywację reakcji zapalnej w komórkach beta trzustki. Postawiona hipoteza zakłada, że nieprawidłowe fałdowanie proinsuliny w siateczce śródplazmatycznej może zmieniać prezentację antygenów MHC I komórek beta trzustki, a przez to zwiększać ich podatność na reakcje autoimmunologiczne. W badaniach wykorzystano szczurze hodowle komórkowe, w których zastosowano „knock-out” genowy białka opiekuńczego GRP94, biorącego udział w prawidłowym fałdowaniu proinsuliny. Pod nieobecność białka GRP94 w komórkach β poddanych ekspozycji na cytokiny prozapalne wykazano podwyższoną ekspresję antygenów zgodności tkankowej oraz zmianę peptydów wiążących MHC-I. Zmiany te aktywują reakcje zapalne i uwrażliwiają komórki β na atak immunologiczny.

Uzyskane wyniki, wskazujące, że stres komórek β trzustki spowodowany zaburzeniami metabolizmu może powodować ekspozycję antygenów promujących reakcję autoimmunologiczną i w konsekwencji promować rozwój cukrzycy, opublikowano w pracy:

Khilji, M.S.; Faridi, P.; Pinheiro-Machado, E.; Hoefner, C.; Dahlby, T.; Aranha, R.; Buus, S.; Nielsen, M.; Klusek, J.; Mandrup-Poulsen, T.; Pandey, K.; Purcell, A.W.; Marzec, M.T. Defective Proinsulin Handling Modulates the MHC I Bound Peptidome and Activates the Inflammasome in β -Cells. *Biomedicines* 2022, 10, 814. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10040814>

Drugi temat badawczy, realizowany przez międzynarodowy zespół, w którym brałam udział dotyczy roli białka opiekuńczego FKBP2 (białko wiążące FK506) w fałdowaniu proinsuliny. Proces ten jest wieloetapowy, obejmuje między innymi izomeryzację reszt prolinowych z formy *cis* do *trans*, co jest niezbędne do prawidłowego fałdowania białka. Hipoteza badawcza zakłada, że białko FKBP2, jako izomeraza proliny obecna w siateczce śródplazmatycznej odpowiada za ten wczesny etap. W badaniach *in vitro* wykazano, że w modelowych komórkach β , „knock-out” genu FKBP2 zwiększa zaburzenia fałdowania proinsuliny oraz podwyższa poziom sekrecji niedojrzałej insuliny z komórek. W konsekwencji, podwyższony stres w komórkach β może nasilać ich apoptozę, co powoduje niedobór insuliny i początek cukrzycy. Podsumowując, badanie to wykazało kluczową rolę białka FKBP2 jako izomerazy proinsuliny w komórkach β trzustki oraz znaczenie izomeryzacji proliny w procesie fałdowania PI. Uzyskane wyniki, opublikowane w pracy: **Hoefner C, Bryde TH, Pihl C, Tiedemann SN, Bresson SE, Hotiana HA, Khilji MS, Santos TD, Puglia M, Pisano P, Majewska M, Durzynska J, Klindt K, Klusek J, Perone MJ, Bucki R, Häggglund PM, Gourdon PE, Gotfryd K, Urbaniak E, Borowiak M, Wierer M, MacDonald PE, Mandrup-Poulsen T, Marzec MT. FK506-Binding Protein 2 Participates in Proinsulin Folding. *Biomolecules*. 2023; 13(1):152. <https://doi.org/10.3390/biom13010152>** mogą w przyszłości posłużyć podczas opracowywania nowych biomarkerów wczesnej cukrzycy, jak również nowego celu terapeutycznego podwyższania poziomu insuliny u chorych, poprzez poprawę fałdowania proinsuliny.

Nasza współpraca naukowa przejawiała się również aktywnym udziałem dr'a Michała Marca we współorganizowanej przeze mnie międzynarodowej konferencji diabetologicznej w Collegium Medicum UJK, gdzie w swojej prelekcji zaprezentował aktualny temat badawczy realizowany w Instytucie Biomedycznym UCPH wraz z najnowszymi wynikami.

Podsumowując, w projektach realizowanych we współpracy z Uniwersytetem Kopenhaskim uzyskałam wyniki poszerzające dotychczasową wiedzę w zakresie patogenezy

cukrzycy typu 2. Rozpoczęta w lipcu 2021 roku współpraca zaowocowała, jak dotąd, 2 publikacjami o łącznej punktacji **MEiN 200** oraz **IF 10,32**, wystąpieniem na międzynarodowej konferencji naukowej oraz złożeniem do NCN wspólnego wniosku o 4-letni projekt badawczy.

Khilji, M.S.; Faridi, P.; Pinheiro-Machado, E.; Hoefner, C.; Dahlby, T.; Aranha, R.; Buus, S.; Nielsen, M.; Klusek, J.; Mandrup-Poulsen, T.; Pandey, K.; Purcell, A.W.; Marzec, M.T. Defective Proinsulin Handling Modulates the MHC I Bound Peptidome and Activates the Inflammasome in β -Cells. *Biomedicines* 2022, 10, 814. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10040814>

IF 6.16 MEiN 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na krytycznej analizie danych oraz przygotowaniu manuskryptu.

Hoefner C, Bryde TH, Pihl C, Tiedemann SN, Bresson SE, Hotiana HA, Khilji MS, Santos TD, Puglia M, Pisano P, Majewska M, Durzynska J, Klindt K, Klusek J, Perone MJ, Bucki R, Hägglund PM, Gourdon PE, Gotfryd K, Urbaniak E, Borowiak M, Wierer M, MacDonald PE, Mandrup-Poulsen T, Marzec MT. FK506-Binding Protein 2 Participates in Proinsulin Folding. *Biomolecules*. 2023; 13(1):152. <https://doi.org/10.3390/biom13010152>

IF 4.16 MEiN 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na krytycznej analizie danych oraz przygotowaniu manuskryptu.

5.1.1. Staże naukowe krajowe

Nawiązywanie kontaktów z innymi badaczami i poznawanie specyfiki pracy naukowej w różnych laboratoriach w Polsce i za granicą jest ważnym elementem mojego rozwoju naukowego już od czasu studiów. Jeszcze jako studentka biotechnologii, odbyłam wakacyjny staż (06-07.2004) w Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu (ówczesny Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt), gdzie miałam okazję zapoznać się z najnowszymi ówczynie metodami badań genetycznych, ale przede wszystkim, obserwując pracę mojego opiekuna naukowego stażu, profesora Artura Jóźwika (ówczynie doktora n. rol.) zainteresowałam się zagadnieniami fizjologii zwierząt. W długofalowym efekcie stażu, po ukończeniu studiów, otrzymałam propozycję udziału w projekcie badawczym

w zakresie tej specjalności w Instytucie Biologii UJK, która zaowocowała przygotowaniem przez mnie dysertacji na temat wpływu metali ciężkich na aktywność enzymów lizosomowych w wątrobie i nerce królików i uzyskaniem stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie fizjologii. Kontynuacją tej współpracy był mój udział w badaniach nad koncentracją cholesterolu w tkankach myszy poddanych różnym czynnikom stresowym. Jako członek zespołu badawczego, uczestniczyłam w badaniach laboratoryjnych polegających na spektrofotometrycznej analizie poziomu cholesterolu, trójglicerydów i innych wskaźników, u myszy poddanych wcześniej odpowiednim eksperymentom. Cholesterol jest cząsteczką o istotnym znaczeniu fizjologicznym. Jest modulatorem płynności błon biologicznych, prekursorem hormonów steroidowych, bierze udział w endocytozie oraz w komunikacji międzykomórkowej. Charakterystyka funkcji tej cząsteczki w procesach fizjologicznych i patologicznych, opisana w pracy przeglądowej, stanowiła podstawę do dyskusji nad zmianami poziomu cholesterolu w wyniku poddawania myszy oddziaływaniu czynników stresogennych w późniejszych pracach doświadczalnych. W badaniu zaobserwowano zmiany koncentracji cholesterolu w tkankach wątroby i nerki myszy, w wyniku działania stresorów w postaci: alkoholu, nadmiaru glukagonu, niskobiałkowej diety i głodzenia. Wyniki, obrazujące zróżnicowane reakcje adaptacyjne organizmu zależne od tkanki, czynnika stresogennego a także genotypu badanych zwierząt przedstawiono w dwóch kolejnych pracach oryginalnych.

Klusek J, Seta E, Świdarska-Kołacz G, Jóźwik A, Klusek J, Kołataj A. The effect of adrenaline on the concentration of triacylglycerol and cholesterol in the liver and kidney of mice selected for high body weight and kept on two levels of dietary protein, *Animal Science Papers and Reports*, 2007, 25, 3: 183-189;

MEIN 40

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeprowadzeniu częściowych analiz biochemicznych, przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu

Klusek J, Klusek J, Kamińska A, Kołataj A. Czy cholesterol to tylko miazdżycza?, *Edukacja biologiczna i środowiskowa*, 2011, 3:5-13;

MEiN 2

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Klusek J, Witek B, Klusek J, Tomasik E, Kamińska A, Kołataj A. The influence of glucagon on the concentration of triacylglycerols and cholesterol in the liver and kidney of mice, Archives of Animal Breeding, 2013, 56:480-486, doi:10.7482/0003-9438-56-046,

MEiN 20

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeprowadzeniu częściowych analiz biochemicznych, przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

Klusek J, Klusek J, Tomasik E, Witczak B, Kołataj A. Concentration of triacyloglicerols and cholesterol in liver, kidneys and muscles od mice following exposure to ethyl alcohol, Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis, Studia ad Didacticam Biologiae, 2019; IX : 13- 21; 10.24917/20837276.9.2

MEiN 40

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na przeprowadzeniu częściowych analiz biochemicznych, przeglądzie literatury i doborze piśmiennictwa oraz współtworzeniu manuskryptu.

W późniejszym czasie, już jako adiunkt w ówczesnym Instytucie Pielęgniarstwa i Położnictwa Wydziału Nauk o Zdrowiu UJK, w trakcie tworzenia Pracowni Badań Genetycznych (2013r.) odbyłam staż naukowy w Zakładzie Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii. Staż ten zaowocował dalszą współpracą z zespołem Zakładu w realizowanym przez mnie projekcie NCN, zakończoną wspólnymi publikacjami włączonymi do osiągnięcia naukowego [Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzycka I, Lewitowicz P, Chrapek M, Głuszek S. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and colorectal cancer risk in Polish nonsmokers. *Oncotarget*. 2018; 9: 21224-21230 DOI:10.18632/oncotarget.25031; Klusek J, Nasierowska-Guttmejer A, Kowalik A, Wawrzycka I, Chrapek M, Lewitowicz P, Radowicz-Chil A, Klusek J, Głuszek S. Nutritional factors modulating the risk of colorectal cancer in people with polymorphism of the S-glutathione transferase genes, *Nutrients*. 2019; 11 (7):1682, DOI: 10.3390/nu11071682].

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

6.1. Działalność dydaktyczna i współpraca naukowa ze studentami

Od początku mojego zatrudnienia w Uniwersytecie Jana Kochanowskiego w Kielcach, ówczesnie w Katedrze Pielęgniarstwa i Położnictwa Instytutu Nauk o Zdrowiu, realizuję szereg zajęć dydaktycznych ze studentami. Prowadzę wykłady i ćwiczenia z przedmiotów: Fizjologia Człowieka, Genetyka, Epidemiologia Genetyczna i Molekularna, na kierunkach: Pielęgniarstwo, Położnictwo, Ratownictwo medyczne, Dietetyka, czy Zdrowie Publiczne. Pod moją opieką studenci przygotowują również prace licencjackie. W trakcie mojej kariery akademickiej, zajęcia dydaktyczne prowadziłam również w trzech uczelniach prywatnych: Wszechnicy Świętokrzyskiej w Kielcach, Wyższej Szkole Ekonomii i Prawa w Kielcach oraz Wyższej Szkole Rehabilitacji w Warszawie, co pozwoliło mi na uzyskanie bogatego doświadczenia w pracy ze studentami z różnych środowisk i kierunków. Niejednokrotnie studentów wykazujących potencjał naukowy włączam do współpracy, która, jak dotąd zakończyła się publikacją naukową w poniższych przypadkach:

Kamińska D, Klusek J, Klusek J. Role of diet in primary prevention of colorectal cancer, *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis. Studia ad Didacticam Biologiae Pertinentia*, 2016, 215(6):20-30;

Klusek J, Lalewicz M, Klusek J, Otyłość jako choroba cywilizacyjna, *Ochrona, prewencja i profilaktyka zdrowia*, red. nauk. Jarosław Chmielewski, Aleksandra Kasperczyk, Monika Szpringer, Warszawa : Instytut Ochrony Środowiska - Państwowy Instytut Badawczy, 2017, 173-182.

6.2. Działalność organizacyjna i popularyzatorska

Wyrazem mojej działalności organizacyjnej na arenie międzynarodowej był udział w organizacji oraz poprowadzenie pierwszej międzynarodowej konferencji w dziedzinie diabetologii w Collegium Medicum UJK, która odbyła się 1.06.2022. pod tytułem „**Current Opinion in Diabetes – challenges and hopes for the 21st century**”. Organizatorem Konferencji było Collegium Medicum, UJK, patronatem honorowym wydarzenie objęły

organizacje: Polskie Towarzystwo Diabetologiczne, Polskie Towarzystwo Lekarskie, Towarzystwo Internistów Polskich, Rektor UJK, IFMSA Poland oraz Poradnia diabetologiczna Witamed. W Wydarzeniu wzięli udział wybitni Specjaliści w zakresie medycyny z Danii, Australii oraz z Polski. Forma hybrydowa konferencji pozwoliła na aktywne uczestnictwo słuchaczy z Polski i z zagranicy. Jako członek trzyosobowego komitetu organizacyjnego byłam odpowiedzialna za współtworzenie programu konferencji, zaproszenie prelegentów, nadzór nad stroną internetową wydarzenia (<https://currentdiabetes.ujk.edu.pl/>) oraz pozyskanie patronatu honorowego i medialnego nad konferencją.

Inicjatywę organizacyjną wykazuję od początku zatrudnienia w UJK. W ramach XII Kieleckiego Festiwalu Nauki, w 2012 roku, zorganizowałam krajową konferencję „Profilaktyka Chorób Społecznych i Metabolicznych” z aktywnym udziałem studentów pielęgniarstwa oraz warsztaty dotyczące udzielania pierwszej pomocy dla młodzieży „Nie boję się pomagać” z udziałem studentów ratownictwa medycznego.

Jako zastępca Dyrektora do spraw nauki w Instytucie Nauk o Zdrowiu UJK brałam aktywny udział w pracach przygotowujących jednostkę do parametryzacji naukowej za okres 2018-2021. Jestem członkiem komisji oceniającej wnioski o projekty badawcze składane w dyscyplinie nauki o zdrowiu. Nadzoruję, pod względem formalnym, realizację projektów prowadzonych w tej dyscyplinie w CM UJK oraz biorę aktywny udział w ocenie raportów z badań. Biorę również udział w okresowej ocenie naukowej pracowników, nadzoruję wnioskowanie o nagrody naukowe i organizacyjne na poziomie wydziału, a jako członek Komisji ds. Nagród i Orderów UJK, również na poziomie Uniwersytetu.

Aktualnie jestem członkiem komitetu organizacyjnego ogólnopolskiej konferencji „67 Kliniczne Dni Buska-Zdroju” (11-13.05.2023, Uzdrowisko Busko-Zdrój). Jest to konferencja o dużym ogólnopolskim znaczeniu i wieloletniej tradycji.

W ramach działalności popularyzującej nauki o zdrowiu oraz instytucję Collegium Medicum UJK, w czerwcu 2022 zorganizowałam wizytę podopiecznych Przedszkola Zygzak w Collegium Medicum przybliżającą dzieciom podstawowe zasady profilaktyki zdrowotnej. W trakcie zwiedzania Wydziału dzieci wzięły udział w warsztatach z udzielania pierwszej pomocy w Wieloprofilowym Centrum Symulacji Medycznej, praktycznych zajęciach z anatomii poprowadzonych przez studentów CM oraz wygłoszonym przez mnie wykładzie na temat fizjologii serca.

7. Informacje dodatkowe

7.1. Udział w badaniach klinicznych

Od 2012 roku, w Poradni Diabetologicznej Witamed w Kielcach, pełnię funkcję koordynatora ośrodka w badaniach klinicznych II i III fazy. Przez ten czas wzięłam udział w 7 komercyjnych badaniach klinicznych z dziedziny diabetologii:

Symbol	Temat	Faza kliniczna	Sponsor	Czas trwania
TZP-102-CL-G003	Ocena bezpieczeństwa i skuteczności doustnego stosowania raz dziennie produktu TZP-102 w gastroparezie cukrzycowej	I Ib	Tranzyme, Inc.	04.2012-12.2012
TZP-102-CL-G004	Ocena bezpieczeństwa i skuteczności doustnego stosowania trzy razy dziennie produktu TZP-102 u diabetyków z opóźnionym opróżnianiem żołądka	I Ib	Tranzyme, Inc.	09.2012-12.2012
MK-3102-024	Ocena bezpieczeństwa, tolerancji i skuteczności stosowania produktu MK-3102, jako dodatkowego leczenia u pacjentów z cukrzycą typu 2 z niedostatecznie kontrolowaną glikemią w terapii metforminą	III	Merck & Co., Inc.	08.2013-04.2016
RM-131-009	Ocena bezpieczeństwa i skuteczności produktu RM-131 podawanego pacjentom z umiarkowaną i ciężką gastroparezą cukrzycową	I Ib	Rhythm Pharmaceuticals, Inc.	07.2015-08.2016
EFC15082 Gemelli M	Badanie porównujące preparat SAR3441402 Mix 70/30 z preparatem NovoMix®30 u dorosłych pacjentów z cukrzycą stosujących mieszanki analogowe insuliny	III	Sanofi-Aventis Sp. Z o.o.	07.2019-4.12.2020
TAK-906-2002 AVANZAR	Ocena skuteczności i bezpieczeństwa działającego obwodowo antagonisty receptora dopaminowego D2/D3, TAK-906 podawanego dwa razy dziennie doustnie, w leczeniu dorosłych uczestników z gastroparezą objawową idiopatyczną lub cukrzycową	I Ib	TAKEDA Pharmaceutical Company Limited	07.2019-03.2021

NN9535-4321 FLOW	wpływ semaglutynu w porównaniu do placebo na progresję niewydolności nerek u pacjentów z cukrzycą typu 2 i przewlekłą chorobą nerek	IIIb	Novo Nordisk Pharma Sp. z o.o.	07.2019	- obecnie
-------------------------	---	------	--------------------------------	---------	--------------

Moja rola w powyższych badaniach polega przede wszystkim na prowadzeniu dokumentacji badania, organizacji i nadzorowaniu przebiegu wizyt pacjentów w ośrodku zgodnie z protokołem badania, raportowaniu zdarzeń niepożądanych, uzupełnianiu elektronicznych baz danych, a także odpowiedzialności za produkt leczniczy w ośrodku. Jako koordynator ośrodka jestem zobligowana do odbywania licznych szkoleń związanych z prowadzeniem badań, w tym regularnego aktualizowania certyfikatu GCP (z ang: good clinical practice). Prowadzenie badań klinicznych i naukowych jest pod wieloma względami podobne. Wymagają one określenia jasnej tezy badawczej i przejrzystych punktów końcowych, kryteriów włączenia i wyłączenia pacjentów dostosowanych do celów badania, rzetelności w prowadzeniu dokumentacji, a także efektywnej pracy zespołowej. Analiza protokołów badań komercyjnych, z którymi na co dzień pracuję w Poradni przekłada się na bardziej precyzyjne opracowywanie projektów badań naukowych na Uczelni. Poprzez pracę w zespole Poradni Witamed, znacznie rozwinęły się moje umiejętności projektowania badań naukowych, dobierania próby badanej i kontrolnej, czy współpracy w grupie badawczej.

Podsumowując, ponad 10-letnie doświadczenie w komercyjnych badaniach klinicznych wraz ze szkoleniami w ramach pełnionej funkcji, przekłada się na stałe podwyższanie jakości mojej pracy badawczej w Uczelni.

08.05.2023
data i podpis