

OCENA

Całokształtu dorobku naukowo-badawczego oraz osiągnięcia naukowego zatytułowanego:

„Czynniki genetyczne związane z odległym rokowaniem chorych po zawale serca” dr n. med. Anny Szpakowicz w związku z wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.

Dane biograficzne i zatrudnienie

Dr n. med. Anna Szpakowicz uzyskała dyplom lekarza w 2005 roku w Akademii Medycznej w Białymstoku. Wtedy to podjęła prace jako lekarz stażysta w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Akademii Medycznej w Białymstoku. Następnie uzyskała rezydenturę z chorób wewnętrznych, która realizowała w Klinice Kardiologii AM Białystok w latach 2007-2012.

Na przełomie lat 2007/2008 pracowała jako stypendystka w ramach stypendium naukowo-badawczego DAAD w Zakładzie Kardiologii Molekularnej Szkoły Medycznej w Hanowerze.

Po ukończeniu tego stypendium podjęła studia doktoranckie na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku uwieńczone rozprawą doktorską pt.: „Czynniki wpływające na pięcioletnie rokowanie chorych z zawałem serca leczonych inwazyjnie” obronioną w 2012 roku (Promotor: prof. dr hab. med. Włodzimierz Musiał).

W 2013 roku Habilitantka uzyskała specjalizację z chorób wewnętrznych, a następnie podjęła szkolenie specjalizacyjne w dziedzinie kardiologii w Klinice Kardiologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. W pracy klinicznej interesuje się intensywną opieką kardiologiczną, chorobami krążenia płucnego i echokardiografią. W zakresie opieki ambulatoryjnej pracuje w Poradni Niewydolności Serca.

Dorobek naukowy

Dr Anna Szpakowicz jest autorem lub współautorem 32 pełnotekstowych publikacji, jednego listu do redakcji o charakterze pracy oryginalnej i 37 streszczeń zjazdowych. Na Jej łączny dorobek naukowy składają się:

28 prac oryginalnych, których sumaryczny IF wynosi 50,4315, a liczba punktów MniSzW 539 (23 z nich są opublikowane w czasopismach posiadających IF, 5 z nich stanowi szczególne osiągnięcie naukowe);

3 opisy przypadków o sumarycznym IF 1,059, z liczbą punktów MNiSzW 33; 2 z nich są opublikowane w pismach z IF

1 praca poglądowa (w suplemencie czasopisma)

1 list do redakcji, o charakterze pracy oryginalnej IF 3,575, liczba MNiSzW: 32

37 streszczeń ze zjazdów naukowych, w tym 27 ze zjazdów międzynarodowych.

Habilitantka nie przedstawiła Swojego dorobku w podziale na dorobek przed doktoratem i po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, niemniej od 2013 roku opublikowała 10 prac oryginalnych (jedna w druku), w których w 5 jest pierwszym Autorem (stanowią one szczególne osiągnięcie naukowe), co niewątpliwie świadczy o istotnym zwiększeniu dorobku naukowego po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych w 2012 roku.

Całkowity IF publikacji wynosi 55.12, a liczba punktów MNiSzW 604. Liczba cytowań z bazy Web of Science (core collection) wynosi 111, a wskaźnik Hirscha wynosi 6.

Działalność naukowa

Główne kierunki działalności naukowej i klinicznej habilitantki dotyczą głównie rokowania w choroby wieńcowej, roli interleukiny 6 i jej receptorów w patogenezie chorób układu krążenia oraz badań nad patogenezą i leczeniem nadciśnienia tętniczego.

- Wartość rokownicza parametrów klinicznych u chorych po zawale serca.

W tej dziedzinie Habilitantka ma istotne osiągnięcia. Już w czasie studiów przygotowywała analizy przydatności skali TIMI oraz prostego indeksu ryzyka (simple risk index) w ocenie ryzyka zgonu w skali roku (*Kozieradzka A. i wsp., Kard.Pol.2007;65:799-95, Kozieradzka A. i wsp., Polski Przegląd Kardiol. 2006;8:95-99*). Po ukończeniu studiów Habilitantka poszukując parametrów klinicznych wpływających na 5-letnie rokowanie chorych po zawale serca zweryfikowała wyniki dużych badań klinicznych w rejestrze obejmującym kolejnych pacjentów, a więc nie poddanych żadnym kryteriom wykluczającym. Habilitantka potwierdziła występowanie tzw. „paradoksu otyłości” w odległej obserwacji chorych z zawałem serca (*Kozieradzka A. i wsp., Am. J. Cardiol. 2009;103:435 (list do Redakcji)*), stwierdzając, że u chorych po zawale serca indeks masy ciała (BMI) negatywnie koreluje ze śmiertelnością 30-dniową. Ponadto wykazała, że powyższe zjawisko jest również obecne w obserwacji 5-letniej (iloraz ryzyka 0,89). W kolejnej z prac Habilitantka udowodniła, że powszechnie znane i stosowane skale stratyfikacji ryzyka zgonu w okresie 30 dni po zawale, jak GRACE czy TIMI risk score, zachowują wysoką wartość prognostyczną w okresie 5 lat i w związku z tym mogą mieć praktyczne zastosowanie w ambulatoryjnej opiece medycznej (*Kozieradzka A. i wsp., Int. J Cardiol. 2011; 148:70-75*). Ponadto, jako drugi autor dowiodła przydatności skal CHA2DS2 -VASc i R2CHA2DS2-VASc (*Kiliszek M., Szpakowicz A. i wsp., Pol. Arch Med. Wewn. 2015;125:545-52*) w przewidywaniu śmiertelności ogólnej w obserwacji odległej pacjentów po ACS, oraz jako dalszy współautor oznaczeń BNP oraz dynamiki zmian obniżonego odcinka ST (czyli tzw. lustrzanego odbicia) w stratyfikacji ryzyka u pacjentów z STEMI. W kolejnym projekcie, również jako 4-ty Współautor oceniała wyniki leczenia pacjentów ze STEMI powikłanym wstrząsem kardiogennym. Śmiertelność wewnątrzszpitalna wyniosła 44%, a istotnymi predyktorami zgonu były wiek i hipotensja (*Kaminski KA, ... Szpakowicz A., Adv Med. Sci 2014;59:156-160*).

W kolejnej pracy jako 3-ci Współautor Habilitantka wykazała, że pacjenci wypisani ze szpitala z rozpoznaniem obrzęku płuc charakteryzują się bardzo wysoką śmiertelnością (rzędu 45% w skali 2 lat i 70% w okresie 5 lat) (*Marcinkiewicz M, ..., Szpakowicz A., i wsp. Kardiologia Pol 2013;71:712-20*). W różnicowaniu przyczyn obrzęku płuc wykazano, że obrzęk płuc wywołany świeżym zawałem serca wiązał się niższym ryzykiem zgonu w porównaniu do innych etiologii, co Badacze słusznie wiążą ze skutecznym leczeniem reperfuzyjnym w tej grupie chorych.

- Czynniki genetyczne a rokowanie u chorych po zawale serca (prace nie wchodzące w skład szczegółnego osiągnięcia naukowego).

Dziedziną genetyki chorób układu krążenia Habilitantka zajęła się już w czasie studiów w ramach działalności w Studenckim Kole Naukowym przy Klinice Kardiologii. Pierwszym badanym czynnikiem genetycznym był polimorfizm A1/A2 genu glikoproteiny IIIa (podjednostka integrynowego receptora GPIIb/IIIa na powierzchni płytek krwi). Celem prac była weryfikacja opublikowanych danych, a mianowicie związku allelu A2 z występowaniem zawału serca oraz cukrzycy typu 2. W populacji chorych ze STEMI Habilitantka nie potwierdziła żadnego z powyższych doniesień (*Kozieradzka A. i wsp., Acta Diabetol 2007;44:30-3* i *Kozieradzka A. i wsp., Kardiologia Pol. 2006;64:350-5*).

W kolejnej pracy (*Kozieradzka A. i wsp., Adv Med. Sci 2012; 57:106-11*) nie wykazała związku pomiędzy polimorfizmem rs1801133 genu MTHFR (reduktazy 5,10-tetrahydrofolianu) a 5-letnią śmiertelnością po zawale serca.

W jednej z 5 prac realizowanych we współpracy z WUM jako Współautor Habilitantka wykazała, że polimorfizm rs10757278 locus 9p21 był związany z występowaniem napadowego migotania przedsionków u pacjentów w ostrej fazie STEMI (*Kiliszek M., Szpakowicz A., i wsp., Heart Vessels 2016; 10:1590-4*). Autorzy ponadto wykazali, że allel predysponujący do zawału serca (G) w podgrupie chorych z arytmia występował z niższą częstością, co jest zgodne z wynikami opisanymi w szczególnym osiągnięciu naukowym (*Szpakowicz A., PLoS One 2014;9:e104635*), gdzie allele zwiększające ryzyko wystąpienia zawału serca, wiązały się paradoksalnie z lepszym rokowaniem.

- Na uwagę zasługuje udział Habilitantki w pracach dotyczących roli interleukiny 6 i jej rozpuszczalnych receptorów w patogenezie chorób układu krążenia, a w szczególności w chorobie wieńcowej i nadciśnieniu tętniczym płucnym.

W pierwszej z serii prac dotyczących tego tematu Habilitantka, jako Współautor wykazała, że w niedokrwionym mięśniu sercowym stężenie sIL6R jest wyższe w aorcie niż w zatoce wieńcowej, a po skutecznej rewaskularyzacji powyższy gradient zanika (*Kamiński KA, ...Kozieradzka A, Atherosclerosis 2009;206:581-7*). Wskazuje to na możliwość wiązania sIL6R przez serce w warunkach niedokrwienia. Ponadto wyższe stężenie IL6 oraz wyższy gradient przezsercowy sIL6R pozytywnie korelowały z występowaniem powikłań

wewnątrzszpitalnych w grupie chorych z zawałem serca. W kolejnej pracy wykazała zmienność dobowego wytwarzania interleukiny 6 u pacjentów ze STEMI (pacjenci przyjmowani do szpitala w godzinach popołudniowych mieli wyższe stężenie IL6 w porównaniu do chorych przyjmowanych z rana) (Bonda T.,... Kozieradzka A., i wsp. *Cytokine* 2010;50:204-209). Z kolei u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową, przezskórna interwencja z założeniem stentu wiązała się ze wzrostem stężenia IL6, zarówno w zatoce wieńcowej, jak i w aorcie, a jednocześnie powodowała powstanie istotnego przezsercowego gradientu stężenia sgp130, przy czym wyższe wartości obserwowano w zatoce wieńcowej (Kamiński KA, Kozieradzka A.,... *Angiology* 2009;60:322-8). To z kolei sugeruje wydzielanie sgp130 przez serce w tej sytuacji klinicznej.

Rolę IL-6 i jej rozpuszczalnych receptorów Habilitantka badała również w populacjach u chorych z tętniczym nadciśnieniem płucnym (TNP), (Jasiewicz M., Szpakowicz A., i wsp. *Cytokine* 2015;76:187-92), wykazując wyższe stężenie zarówno IL-6, jak i sIL-6R w tej populacji w porównaniu do grupy kontrolnej, a stężenie IL-6, a nie jej receptorów było powiązane ze zwiększonym ryzykiem i wcześniejszym wystąpieniem pogorszenia klinicznego w trakcie obserwacji.

- Ponadto Habilitantka brała udział w badaniach dotyczących patogenyzy i leczenia nadciśnienia tętniczego.

W jednym badaniu Habilitantka wykazała, że podawanie atorwastatyny w wysokiej dawce chorym z nadciśnieniem tętniczym i prawidłowymi stężeniami cholesterolu wiązało się z umiarkowanym efektem hipotensyjnym (Kuklińska AM, ... Kozieradzka A., i wsp. *Blood Press* 2010;19:260-6), a spadkowi ciśnienia tętniczego nie towarzyszyły zmiany w zakresie parametrów stresu oksydacyjnego ani stanu zapalnego (Kuklińska AM, ... Kozieradzka A, i wsp. *Pharmacol Rep.* 2010;62:883-90). Ponadto Habilitantka wykazała, że rozpoznanie nadciśnienia tętniczego wiąże się z obniżoną całkowitą zdolnością antyoksydacyjną oraz podwyższonym stężeniem białka C-reaktywnego oznaczonego wysokoczułym testem (hs-CRP) (Kuklińska AM, ... Kozieradzka A. i wsp. *Adv Med. Sci* 2009;54:225-32).

Te prace badawcze były realizowane w ramach projektów badawczych finansowanych przez MNiSzW, PTK i firmę Servier. Do nich należą:

1. Grant MNiSW, nr N N402 529139, „Czynniki genetyczne wpływające na odległe rokowanie chorych z zawałem serca leczonych inwazyjnie”, 2010-2013. Rola- wykonawca, osoba odpowiedzialna za przygotowanie wniosku (Kierownik: prof. dr hab. W.J. Musiał).
2. Grant Servier pod patronatem Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, 2011-2013, „Czynniki genetyczne wpływające na odległe rokowanie chorych z zawałem serca leczonych inwazyjnie”. Rola- kierownik projektu.
3. Grant MNiSW 2P05B01826, „Ocena roli układu interleukiny 6 oraz stresu oksydacyjnego w niedokrwionym i reperfundowanym mięśniu sercowym - badania kliniczno-doświadczalne” . 2004-2006. Rola- wykonawca.

4. Grant MNiSW N 402 075 31/2290, „Prospektywna ocena hipotensyjnego efektu atorwastatyny u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i bez hipercholesterolemii”, 2007-2009. Rola-wykonawca.

5. Grant NCN nr 2011/01/N/NZ5/04361: "Nowe mechanizmy patofizjologiczne w tętniczym nadciśnieniu płucnym i ich potencjalne znaczenie rokownicze", 2011-2014. Rola-wykonawca.

- Odbyte staże w krajowych lub zagranicznych ośrodkach naukowych lub akademickich, współpraca naukowa zagraniczna i krajowa

Jednym z najważniejszych doświadczeń w drodze zawodowej Habilitantki było dziesięciomiesięczne stypendium naukowo-badawcze w Zakładzie Kardiologii Molekularnej Szkoły Medycznej w Hanowerze (10.2007-07.2008 r.), finansowane przez DAAD (Niemiecką Centralę Wymiany Akademickiej). Pod opieką prof. Denise Hilfiker-Kleiner realizowała projekt Grant Leduqe Foundation, Transatlantic Network of Excellence, 2005-2008: "The effect of cardiospecific CCN1 overexpression on cardiac phenotype at baseline and after myocardial infarction in a mouse model" jako wykonawca. Zdobyła w tym czasie szereg umiejętności praktycznych i doświadczeń: - praca ze szczepami myszy transgenicznych, - wykonywanie echa serca u myszy, - barwienie immunohistochemiczne preparatów miokardium, ocena preparatów - mikroskopia fluorescencyjna i konfokalna, - techniki oceny zawartości włókien kolagenowych w miokardium, mikroskopia polaryzacyjna, - techniki: Western blot, ELISA.

W dorobku Habilitantki na uwagę zasługują prace realizowane we współpracy z Kliniką Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Warszawie, 3 spośród nich, w których Habilitantka jest pierwszym Autorem wchodzi w skład szczególnego osiągnięcia naukowego, natomiast w dwóch pozostałych Habilitantka jest drugim Autorem.

Habilitantka ponadto ma doświadczenie w prowadzeniu badań klinicznych w roli badacza, głównie w tematyce żylnych choroby zatorowo-zakrzepowej (badania PEITHO, CASSIOPEA, AMPLIFY, APEX, EINSTEIN-CHOICE, ISCHEMIA, SOKRATES, ARENA).

Od 2013 roku Habilitantka jest członkiem Konsorcjum GENIUS-CHD, które łączy ponad 50 grup badawczych z całego świata i zajmuje się analizą wpływu czynników genetycznych na odległe rokowanie w chorobie niedokrwiennej serca (kierownik konsorcjum: Patel Riyaz). Wyniki uzyskane dzięki finansowaniu z 2 powyższych grantów będą częścią metaanalizy obejmującej ponad 70 tysięcy pacjentów.

- Ocena szczególnego osiągnięcia naukowego

Na szczególne osiągnięcie naukowe składa się cykl 5 prac spójnych tematycznie o łącznym IF 12.684, z liczbą punktów MNiSzW:145. Habilitantka postawiła sobie za cel przeprowadzenie

badan dotyczących związku 8 wybranych polimorfizmów ze śmiertelnością odległą po zawale serca. Tematyka badań jest ważna, powstaje obecnie coraz więcej prac dotyczących tzw wskaźnika ryzyka genetycznego (ang. genetic risk score), a więc takiego ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej, które jest stałe, niezależne od wieku. Ważne jest wybór wariantów genetycznych do oceny, „zważenie” ich wpływu i porównanie w różnych grupach etnicznych. Wskaźniki ryzyka genetycznego wybiera się z badań asocjacyjnych genomu ludzkiego, metaanaliz, w których wykazano przydatność genetycznych markerów w przewidywaniu rokowania chorób sercowo-naczyniowych i identyfikacji różnych scenariuszy klinicznych, w których mogą one być przydatne. Niemniej jak na razie informacje te mają ograniczoną wartość kliniczną, niewiele dodają ponad znaczenie tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Podkreśla się konieczność poszukiwania nowych genetycznych markerów, które pozwoliłyby na ocenę wpływu czynników genetycznych na rokowanie w populacjach wysokiego ryzyka, a także na ocenę ich wpływu na progresję miażdżycy i lepszą stratyfikację chorych średniego ryzyka. Poszukuje się ponadto nowych sposobów łączenia tradycyjnych i nowych genetycznych czynników ryzyka.

Habilitantka trafnie podjęła zatem „gorący” temat do badań. Na podstawie opublikowanych badan asocjacyjnych (GWAS), uwzględniając częstości występowania alleli ryzyka choroby niedokrwiennej serca / zawału serca oraz ilorazy ryzyka wystąpienia choroby, wytypowała 20 SNP o najkorzystniejszych parametrach, spośród których oznaczenia 8 są podstawą publikacji wchodzących w skład szczególnego osiągnięcia naukowego. Są to: *locus* 9p21 (rs1333049, rs10757278, rs4977574), *PHACTR1* (rs12526453), *SLC5A3/MRPS6/KCNE2* (rs9982601), *PONI* (rs854560, rs662) oraz *IL6R* (rs2228145). Żaden z nich nie był wcześniej badany w kontekście wpływu na śmiertelność 5-letnią po zawale serca. Badany materiał stanowiło 652 pacjentów z rozpoznaniem STEMI. Celem wiarygodnej oceny związku polimorfizmów z odległym rokowaniem, Habilitantka wykluczyła z badania chorych, którzy zmarli w ciągu pierwszych 48 godzin od momentu przyjęcia do szpitala. Wszyscy pacjenci objęci analizą mieli wykonaną koronarografię w ciągu 12 godzin od początku objawów lub w ciągu 24 godzin, w przypadku utrzymywania się dolegliwości dławicowych. Ocenianym punktem końcowym była śmiertelność całkowita w 5-letniej obserwacji. W pracy dotyczącej polimorfizmu rs2228145 medianę czasu obserwacji wydłużyła do około 8 lat. Dane dotyczące zgonów pozyskiwała ze zbiorów meldunkowych PESEL Urzędu Wojewódzkiego w Białymstoku. W przypadku 9 osób były one niedostępne w związku z migracją poza granice województwa podlaskiego. Ostatecznie analizą genetyczną objęła pozostałych 643 pacjentów.

Krew do badań genetycznych była pobrana do próbek zawierających EDTA. DNA izolowano przy pomocy zestawu komercyjnego DNA Blood Mini firmy A&A Biotechnology. Polimorfizmy genów oznaczano z użyciem zestawu TaqMan (TaqMan SNP Genotyping System, Applied Biosystems) z wykorzystaniem 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

Pierwsza praca wchodząca w skład szczególnego osiągnięcia naukowego

[Szpakowicz A, Kiliszek M, Pepinski W, Waszkiewicz E, Franaszczyk M, Skawronska M, Ploski R, Niemcunowicz-Janica A, Dobrzycki S, Opolski G, Musial WJ, Kaminski KA. Polymorphism of 9p21.3 locus is associated with 5-year survival in high-risk patients with myocardial infarction. *PLoS One*. 2014 Aug 8;9(8):e104635. doi:10.1371/journal.pone.0104635. PubMed PMID: 25105296; PubMed Central PMCID:PMC4126747] dotyczy oceny związku 3 polimorfizmów w locus 9p21 (rs1333049, rs10757278, rs4977574) z odległym rokowaniem chorych po zawale serca. Habilitantka przeprowadziła retrospektywną analizę danych pochodzących z dwóch niezależnych kohort pacjentów ze STEMI (grupa podstawowa i walidacyjna). W pierwszej grupie było 589 pacjentów, u których jakość materiału genetycznego pozwalała na oznaczenie genotypów (25,3% kobiet, średni wiek 62,5 roku, śmiertelność 5-letnia 16,6%). Gdy analizowała śmiertelność w całej grupie badanej, nie wykazała istotnych statystycznie różnic między genotypami. Natomiast w podgrupie 238 chorych z wysokim ryzykiem zgonu na podstawie skali GRACE risk score (≥ 155 punktów) homozygoty związane z wyższym ryzykiem ACS lub heterozygoty w odniesieniu do polimorfizmu rs10757278 miały lepsze rokowanie 5-letnie. Dane te zostały zweryfikowane w niezależnej grupie walidacyjnej liczącej 365 osób, wykazując wyraźny trend w kierunku lepszego rokowania u homozygot GG, potwierdzający wcześniejsze obserwacje (wartość $p = 0,09$, test log-rank). Na uwagę zasługuje fakt, że Habilitantka opublikowała źle zinterpretowane wyniki tej pracy wcześniej [Szpakowicz A, Pepinski W, Waszkiewicz E, Maciorkowska D, Skawronska M, Niemcunowicz-Janica A, Milewski R, Dobrzycki S, Musial WJ, Kaminski KA. Polymorphism of 9p21.3 locus is associated with 5-year survival in high-risk patients with myocardial infarction. *PLoS One*. 2013 Sep 12;8(9):e72333. doi: 10.1371/journal.pone.0072333. Retraction in: *PLoS One*. 2014;9(4):e95513. PubMed PMID: 24069144; PubMed Central PMCID: PMC3772090], a praca została wycofana przez Autorów po ponownej ocenie i wskazaniu, że to allel A jest allelem podwyższonego ryzyka zgonu, a nie allel G jak opublikowano w pierwszej wersji pracy. Fakt, że Habilitantka zdecydowała się na taki krok świadczy dobrze o Jej rzetelności prowadzenia badań naukowych, stawianiu na pierwszym miejscu jakości danych, a nie własnej kariery.

W ramach kontynuacji tego projektu Habilitantka bierze udział w pracach konsorcjum GENIUS-CHD, jednym z głównych celów konsorcjum jest weryfikacja związku locus 9p21 z rokowaniem w chorobie niedokrwiennej serca.

Druga praca [Szpakowicz A, Kiliszek M, Pepinski W, Waszkiewicz E, Franaszczyk M, Skawronska M, Ploski R, Niemcunowicz-Janica A, Burzynska B, Tulacz D, Maciejak A, Kaminski MJ, Opolski G, Musial WJ, Kaminski KA. The rs12526453 Polymorphism in an Intron of the *PHACTR1* Gene and Its Association with 5-Year Mortality of Patients with Myocardial Infarction. *PLoS One*. 2015 Jun 18;10(6):e0129820. doi: 10.1371/journal.pone.0129820. PubMed PMID: 26086777; PubMed Central PMCID: PMC4472810] dotyczy polimorfizmu rs12526453 (C/G) zlokalizowanego w intronie genu *PHACTR1* (phosphatase and actin regulator 1), który ma istotny związek z występowaniem choroby wieńcowej, w tym zawału serca (allel ryzyka- C). Habilitantka wykazała, że pacjenci

z genotypem CC, związanym z wyższym ryzykiem zawału serca charakteryzowali się paradoksalnie lepszym rokowaniem w okresie 5 lat w porównaniu do osób z pozostałymi genotypami (odsetek zgonów 13,1% vs. 18,3%, $p=0,017$, test F Cox'a). W niezależnej grupie walidacyjnej liczącej 348 chorych potwierdziła powyższą zależność: w ciągu 3 lat obserwacji wśród osób z genotypem CC prawdopodobieństwo zgonu było istotnie statystycznie niższe (10,1% vs. 17%, $p=0,031$). Poszukując mechanizmów tłumaczących te wyniki wykonano analizę transkryptomyczną w grupie 46 chorych ze STEMI (23 homozygoty CC i 23 osoby o genotypie C/G lub GG, dobrane pod względem płci i wieku). Homozygoty CC wykazywały 2,8-krotnie wyższą ekspresję genu *NLRP2*, (kodującego białko NLRP2, modulatora reakcji zapalnej o złożonej funkcji), zarówno w pierwszej dobie zawału (S.E. 1,3–5,6; $p<0,001$), jak i po upływie 4-6 dni (S.E. 1,4–5,4; $p<0,001$). Uzyskane wyniki wskazują na zależność między polimorfizmem rs12526453 a odległą śmiertelnością po zawale serca. Prawdopodobne jest, że to właśnie zmiany ekspresji genu *NLRP2* warunkują wpływ badanego polimorfizmu na rokowanie. Paradoksalnie, genotyp związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zawału serca (homozygota CC) warunkował niższą śmiertelność w okresie 5 lat. Być może polimorfizm rs12526453 inaczej wpływa na szlaki molekularne i wywiera różne efekty w zależności od sytuacji klinicznej.

W trzeciej pracy [Szpakowicz A, Kiliszek M, Pepiński W, Waszkiewicz E, Franaszczyk M, Skawrońska M, Dobrzycki S, Niemcunowicz-Janica A, Ploski R, Opolski G, Musiał WJ, Kamiński KA. The rs9982601 polymorphism of the region between the *SLC5A3/MRPS6* and *KCNE2* genes associated with a prevalence of myocardial infarction and subsequent long-term mortality. *Pol Arch Med Wewn.* 2015;125(4):240-8. PubMed PMID: 25697262] Habilitantka oceniała polimorfizm rs9982601 (C/T) rejonu między genami *SLC5A3/MRPS6* i *KCNE2*, gdyż w badaniach GWAS był związany z występowaniem zawału serca w młodym wieku (allel ryzyka – T). W tej pracy oceniała polimorfizm rs9982601 w kontekście powiązań z odległą śmiertelnością po zawale serca oraz zweryfikowała jego związek z zawałem serca w populacji polskiej. Badanie miało charakter 2-ośrodkowy, stąd większa liczebność grupy badanej niż w pozostałych pracach- analizą objęła 981 pacjentów (średni wiek 62,8 lat; 26,4% kobiet). Habilitantka wykazała, że w podgrupie chorych wysokiego ryzyka (≥ 155 punktów według skali ryzyka GRACE), homozygoty niskiego ryzyka CC miały istotnie lepsze przeżycie w porównaniu do pozostałych genotypów (HR = 0,64; 95% CI 0,43–0,96; $p = 0,03$). Dodatkowo wykazała związek tego polimorfizmu rs9982601 (C/T) z występowaniem zawału serca.

Praca przed opublikowaniem była przedstawiona w prezentacji plakatowej podczas Kongresu Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego w Amsterdamie, gdzie jako jeden z najwyżej ocenionych abstraktów otrzymała tytuł „Best Poster”.

Czwartą pracą cyklu habilitacyjnego było badanie opublikowane w *Heart and Vessels*: [Szpakowicz A, Pepiński W, Waszkiewicz E, Maciorkowska D, Skawrońska M, Niemcunowicz-Janica A, Dobrzycki S, Musiał WJ, Kamiński KA. The influence of renal function on the association of rs854560 polymorphism of paraoxonase 1 gene with long-term prognosis in patients after myocardial infarction. *Heart Vessels.* 2016 Jan;31(1):15-22. doi: 10.1007/s00380-014-0574-8. PubMed PMID: 25155309; PubMed Central PMCID: PMC4698374]. Kolejne z wytypowanych polimorfizmów do oceny dotyczą genu *PONI*

(paraoksonazy 1), kodującego enzym związany z cząstką HDL i warunkującego jej właściwości antyoksydacyjne. Czynniki warunkującymi aktywność enzymu są również polimorfizmy tego genu: rs662 (A/G) oraz rs854560 (T/A), przy czym z niższą aktywnością wiążą się w obu przypadkach genotypy AA, a aktywność PON1 jest obniżona u pacjentów z chorobą wieńcową i z przewlekłą chorobą nerek (25-27). Celem kolejnej z cyklu prac była ocena wpływu polimorfizmów rs662 i rs854560 genu *PON1* na 5-letnie rokowanie chorych po zawale serca. Genotypowanie wykonano u 634 pacjentów. Przy analizie całej grupy badanej, żaden z polimorfizmów nie wykazywał istotnego związku ani z charakterystyką kliniczną chorych, ani z ich 5-letnim rokowaniem. Natomiast w podgrupie chorych z filtracją kłębuszkową poniżej mediany (eGFR<78,6 ml/min/1,73m²), homozygoty AA polimorfizmu rs854560 miały wyższe prawdopodobieństwo zgonu niż osoby o innym genotypie (OR= 1,66, 95 % CI 1,0007–2,78). Habilitantka wyjaśnia ten fakt prawdopodobnie niższą aktywnością PON1 w tej grupie chorych oraz wynikającym z tego nasileniem stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonna. Nie obserwowano takiej zależności w przypadku polimorfizmu rs662.

Piąta praca składająca się na szczególne osiągnięcie naukowe dotyczy polimorfizmu rs2228145 genu receptora interleukiny 6 (*IL6R*) i jego związku z odległym rokowaniem u chorych po zawale serca [Szakowicz A., Pepinski W., Waszkiewicz E., Skawronska M., Niemcunowicz-jnaica A, Musiał W.J., Kamiński KA. The rs2228145 polymorphism in the interleukin-6 receptor and its association with long-term prognosis after myocardial infarction in a pilot study. Arch Med Sci. In Press. DOI: 10.5114/aoms.2016.58636.

Polimorfizm rs2228145 (A/C) genu receptora interleukiny 6 (*IL6R*) Habilitantka oceniła w grupie 553 chorych, nosiciele allelu C mają niższe parametry odpowiedzi zapalnej i niższe ryzyko choroby niedokrwiennej serca. Nie wpływał on istotnie na charakterystykę kliniczną pacjentów. W przypadku tej analizy obserwację wydłużyła do około 8 lat (mediana 2875 dni). W tym czasie zmarło 30,9% pacjentów. Homozygoty wysokiego ryzyka (AA) wykazywały trend statystyczny w kierunku zwiększonego prawdopodobieństwa zgonu w porównaniu do nosicieli allelu C (iloraz ryzyka OR = 1,34, 95% CI: 0,93–1,93, p = 0,1). Stwierdzony trend w kierunku wyższej śmiertelności u homozygot AA stanowi podstawę do przeprowadzenia badań na większą skalę. Podobnie jak w przypadku polimorfizmów *locus* 9p21, powyższe wyniki Habilitantka zweryfikuje w ramach działalności konsorcjum GENIUS-CHD.

W podsumowaniu Habilitantka stwierdza, że niektóre czynniki genetyczne są pomocne w stratyfikacji ryzyka u chorych po zawale serca, a zwłaszcza polimorfizmy: *locus* 9p21, rs12526453 (intronu genu *PHACTR1*), rs9982601 (rejonu między genami *SLC5A3/MRPS6* i *KCNE2*), rs854560 (*PON1*) oraz potencjalnie rs2228145 (*IL6R*). Związek danego polimorfizmu z rokowaniem może dotyczyć jedynie szczególnych scenariuszy klinicznych. W przypadku *locus* 9p21 i polimorfizmu *KCNE2/SLC5A3/MRPS6* byli to chorzy wysokiego ryzyka na podstawie skali GRACE risk score, natomiast w przypadku polimorfizmu *PON1* chorzy z obniżoną filtracją kłębuszkową. Genotypy predysponujące do zawału serca, po wystąpieniu choroby mogą wiązać się z lepszym rokowaniem. Taki paradoks obserwowano w przypadku polimorfizmów *PHACTR1* oraz *locus* 9p21. Mechanizmy tłumaczące związek wymienionych polimorfizmów z rokowaniem po zawale serca są niejasne, a w przypadku

polimorfizmu rs9982601 rejonu *SLC5A3/MRPS6/KCNE2* nieznane. Habilitantka stwierdza, że mogą one być jedynie markerami ryzyka, a nie czynnikami ryzyka niekorzystnego rokowania. Jest to ograniczenie charakterystyczne również dla badań asocjacyjnych całego genomu, na podstawie których wybrano SNP do analizy w tym cyklu prac.

W podsumowaniu mojej recenzji chciałabym stwierdzić, że dr n med. Anna Szpakowicz jest bardzo dobrze wyszkolonym lekarzem z istotnym dorobkiem naukowym, w szczególności dotyczącym rokowania u chorych po zawale serca. Ma doświadczenie naukowe w zakresie różnych dziedzin kardiologii: od kardiologii eksperymentalnej, molekularnej do badań klinicznych i populacyjnych. Jest zatem wszechstronną Badaczką, która samodzielnie podejmuje ważne tematy badawcze. Osiągnięcie naukowe przedstawione do oceny stanowi istotny przyczynek do wiedzy na temat wpływu czynników genetycznych, zwłaszcza u chorych wysokiego ryzyka, czy też z niewydolnością nerek na rokowanie po zawale serca. Praca ta ma istotne walory poznawcze, jest nowatorska. W związku z powyższym stwierdzam, że dorobek Habilitantki i osiągnięcie naukowe spełniają kryteria określone w art. 16 Ustawy.

Wernowca 27.10.2016

Prof. dr hab. n. med.
Zofia T. Bilińska
KARDIOLOG
3623516