

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Agata Chmurzyńska
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:
 - mgr inż. biotechnolog, specjalizacja - diagnostyka genetyczna; Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu; 2002 r.
 - dr nauk biologicznych, specjalność - genetyka; Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; 2006r.
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:
 - adiunkt (wrzesień 2007 – obecnie) Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Higieny Żywnienia Człowieka, Zakład Podstaw Nauki o Żywieniu
 - asystent (październik 2006 – wrzesień 2007) Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Katedra Higieny Żywnienia Człowieka, Zakład Podstaw Nauki o Żywieniu
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):
 - a) Osiągnięcie pod tytułem **„Badania nad wpływem prenatalnych i postnatalnych czynników żywieniowych na metabolizm metioniny i gospodarkę lipidową szczurów”** tworzy cykl następujących publikacji:
 1. Chmurzynska A., Malinowska A. (2011) Protein- and cysteine-deficient diet of the dam influences growth patterns and methylation of the *PPARα* gene in rat offspring. *Journal of Applied Animal Research* 39(1): 1-3.
 2. Chmurzynska A., Stachowiak M., Gawecki J., Pruszyńska-Oszmerek E., Tubacka M. (2012) Protein and folic acid content in the maternal diet determine lipid metabolism and response to high-fat feeding in rat progeny in an age-dependent manner. *Genes and Nutrition* 7(2):223-34.
 3. Chmurzynska A., Stachowiak M., Pruszyńska-Oszmerek E., (2012) Maternal protein and folic acid intake during gestation does not program leptin transcription or serum concentration in rat progeny. *Genes and Nutrition* 7(2):217-22.
 4. Chmurzynska A., Malinowska A. (2011) Homocysteine homeostasis in the rat is maintained by compensatory changes in CBS, BHMT, and PEMT gene transcription occurring in response to maternal protein and folic acid intake during pregnancy and fat intake after weaning. *Nutrition Research* 31:572-578.
 5. Chmurzyńska A. (2010) Fetal programming – link between early nutrition, DNA methylation and complex diseases. *Nutrition Reviews* 68(2):87-98.

Łącznie:

- impact factor – 12,42
- punkty MNiSW - 91

Wkład wnioskodawcy w ww. publikacje obejmuje: autorstwo hipotez i koncepcji badań, udział w wykonaniu doświadczeń oraz większości oznaczeń, analizę i opracowanie wyników, wyciągnięcie wniosków i napisanie manuskryptów (załączono oświadczenia współautorów).

- b) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wprowadzenie

Niektóre koncepcje dotyczące wpływu prenatalnych i postnatalnych czynników żywieniowych na metabolizm metioniny i gospodarkę lipidową zaprezentowano w publikacji: Chmurzyńska A. (2010) Fetal programming – link between early nutrition, DNA methylation and complex diseases. *Nutrition Reviews* 68(2):87-98.

Fenotyp definiuje się jako obserwowalną cechę organizmu. Ze względu na postęp nauki zakres pojęciowy tego słowa znacznie się rozszerzył w ostatnich dziesięcioleciach, a mianem fenotypu określa się już nie tylko cechy opisujące morfologię organizmów, ale również parametry charakteryzujące ich funkcjonowanie na poziomie ogólnoustrojowym, komórkowym i molekularnym.

Ostateczna wartość każdej cechy fenotypowej u poszczególnych osób/osobników zależy od czynników genetycznych i pozagenetycznych oraz interakcji pomiędzy tymi czynnikami. W przypadku różnych cech zakres udziału tych komponentów może być różny. Czynnikiem genetycznym wpływającym na fenotyp jest genotyp, czyli specyficzny dla każdego osobnika układ alleli. Funkcjonowanie genów, a tym samym ich udział w warunkowaniu cech, może być modyfikowany poprzez różne mechanizmy regulacji ekspresji, spośród których należy wymienić mechanizmy epigenetyczne, np. kondensację chromatyny czy metylację DNA. Postuluje się, że mechanizmy epigenetyczne pośredniczą w oddziaływaniach genotyp-środowisko. Z drugiej strony, na warunkowanie fenotypu wpływają czynniki pozagenetyczne, a wśród nich najważniejszymi są składniki pokarmowe dostarczane z pożywieniem. Wpływ składników pokarmowych na organizm jest niezwykle złożony, chociażby ze względu na: mnogość różnych cząsteczek chemicznych, które wchodzi w skład pokarmu; interakcje, które zachodzą pomiędzy składnikami pokarmowymi; wielośrodokowe oddziaływanie składników pokarmowych na organizm; zależność wpływu składnika pokarmowego od jego ilości i czasu działania na organizm. Ponadto reakcja organizmu na składniki pokarmowe, czyli „zdolność składników pokarmowych do modyfikowania fenotypu” zależy od czynników wewnętrznych organizmu, takich jak wiek, płeć i stan metaboliczny, które również, w mniejszym lub większym stopniu, zależą od genotypu. Zatem pomiędzy genotypem i składnikami pokarmowymi zachodzą wielopłaszczyznowe, dynamiczne interakcje, których skutkiem jest tzw. fenotyp żywieniowy.

Przebieg szlaków metabolicznych oraz intensywność poszczególnych reakcji biochemicznych jest więc wypadkową czynników genetycznych i środowiskowych, dzięki czemu funkcjonowanie organizmu dostosowuje się do aktualnej dostępności składników pokarmowych i prowadzi do utrzymania homeostazy. Dowiedziono jednak, że metabolizm zależy również w dużym stopniu od dostępności składników pokarmowych w trakcie życia prenatalnego. Programowanie płodowe to termin, mianem którego określa się zjawisko polegające na tym, że warunki rozwoju płodowego, w tym szczególnie sposób żywienia matki, determinują funkcjonowanie (fenotyp) jej potomstwa w

późniejszym życiu. Zaobserwowano, że nawet stosunkowo niewielkie modyfikacje rodzaju i ilości składników pokarmowych spożywanych przez matkę w okresie ciąży mogą mieć kolosalne znaczenie dla zdrowia jej potomstwa. Programowanie płodowe jest przykładem tzw. efektu matki, który definiowany jest jako wpływ genotypu lub fenotypu matki na fenotyp potomstwa.

Programowanie płodowe jest swego rodzaju wyborem określonej ścieżki rozwojowej, wyznaczonej i ograniczonej przez genotyp, a jego istotą to, że składniki pokarmowe biorą udział w tworzeniu środowiska wewnątrzmacicznego. Jednakże sposób w jaki oddziałują na płód, zależy też od matki, która pośredniczy w ich przekazywaniu. Nie można pominąć faktu, że środowisko wewnątrzmaciczne zależy również od genotypu, budowy anatomicznej lub stanu fizjologicznego matki. Z tego względu należy przypuszczać, że za programowanie płodowe odpowiedzialne są wszystkie mechanizmy związane z regulacją wzrostu i rozwoju organizmu, a można do nich zaliczyć m.in. trwałe zmiany metylacji DNA. Metylacja DNA to jedna z epigenetycznych modyfikacji DNA, polegająca na przyłączeniu grup metylowych do określonych cytozyn w obrębie DNA, co może mieć wpływ na konformację cząsteczki i regulować jej dostępność dla białek zaangażowanych w ekspresję genów. Metylacja DNA jest procesem zależnym od składników pokarmowych, które biorą w nim udział jako kofaktory i donory grup metylowych, np. metioniny, choliny, folianów, witaminy B₆ i witaminy B₁₂, uczestniczących w metabolizmie grup jednowęglowych. Co więcej, ustanowienie wzorów metylacji następuje w życiu płodowym. Z tego względu środowisko wewnątrzmaciczne może wpływać na metylację DNA płodu, a przez to na profil ekspresji genów i warunkowanie cech rozwijającego się organizmu. Konsekwencje programowania można więc obserwować jako określoną wartość cechy fenotypowej, którą może być np. morfologia organizmu czy poszczególnych jego narządów, ale także metabolizm, a co za tym idzie podatność na różne choroby.

Metabolizm grup jednowęglowych jest zatem ściśle związany z programowaniem płodowym, a obejmuje współzależne szlaki przemian metioniny i folianów. Metionina, jako aminokwas egzogeny, dostarczana jest z pożywieniem i może zostać wbudowana w białka lub podlegać przekształceniom do S-adenozylometioniny (SAM). SAM jest głównym donorem grup metylowych dla wielu związków chemicznych, w tym DNA i białek. Demetylacja SAM przez różne metylotransferazy, m.in. N-metylotransferazę fosfatydyloetanolaminy (PEMT), prowadzi do jej przekształcenia do S-adenozylhomocysteiny (SAH), która może być hydrolizowana do adenozyliny i homocysteiny. Metylotransferaza 5-metylenotetrahydrofolianu – enzym, w którego centrum aktywnym znajduje się kobalamina – przeprowadza reakcję hydrolizy homocysteiny, która jest głównym szlakiem regeneracji metioniny. Donorem grupy metylowej w tej reakcji jest 5-metylotetrahydrofolian, przekształcany do tetrahydrofolianu. Alternatywnie homocysteina może być remetylowana przez metylotransferazę homocysteinowo-betainową (BHMT). Usuwanie homocysteiny z tego cyklu zachodzi poprzez przekształcenie jej przez beta syntazę cystationiny (CBS) do cystationiny, a później do cysteiny.

Przebieg reakcji biochemicznych tworzących cykl grup jednowęglowych zależy jest od szeregu czynników: genotypu w obrębie różnych genów związanych z tym metabolizmem, aktywności enzymów przeprowadzających reakcje tego szlaku, ale także podaży różnych składników pokarmowych, w szczególności metioniny, choliny, folianów, witaminy B₆ i witaminy B₁₂. Nie wiadomo jednak czy metabolizm grup jednowęglowych podlega programowaniu płodowemu.

W ostatnim czasie zwrócono uwagę na istnienie zależności pomiędzy metabolizmem grup jednowęglowych a metabolizmem lipidów. Jednym z potencjalnych szlaków, w których się one

krzyżują jest przekształcanie fosfatydyloetanolaminy do fosfatydylocholiny, związane z przekształcaniem SAM do SAH. Reakcja ta związana jest przede wszystkim z formowaniem i wydzielaniem z wątroby lipoprotein o bardzo małej gęstości (VLDL), a w mniejszym stopniu wpływa na pulę cholinej dostępnej w organizmie.

Hipoteza badawcza i cel badań

Mając powyższe na uwadze, postawiono dwie podstawowe hipotezy badawcze:

- zawartość białka i kwasu foliowego w diecie ciężarnych samic szczura może wpłynąć na gospodarkę lipidową oraz metabolizm grup jednowęglowych u ich potomstwa
- zawartość białka i kwasu foliowego w diecie ciężarnych samic szczura może wpłynąć na reakcję ich potomstwa na dietę wysokotłuszczową (zawartość tłuszczu w diecie postnatalnej może modyfikować skutki programowania płodowego).

Celami szczegółowymi pracy były:

- Ocena wpływu zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na parametry ogólnożywniowe i wzrostowe szczurów.
- Ocena wpływu niedoboru białka w diecie matki na metylację genu receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomalne alfa (*PPAR α*) w wątrobie i tkance tłuszczowej szczurów.
- Ocena wpływu zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na poziom transkrypcji w wątrobie i tkance tłuszczowej genów kodujących białka będące głównymi regulatorami metabolizmu lipidów: *PPAR α* , *PPAR γ* , wątrobowego receptora X alfa (*LXR α*), a także na stężenia biomarkerów gospodarki lipidowej.
- Ocena wpływu zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na poziom transkrypcji genu leptyny (*Lep*) w brzusznej tkance tłuszczowej, jej stężenie w osoczu krwi oraz globalny poziom metylacji DNA w tkance tłuszczowej szczurów.
- Ocena wpływu zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na poziom transkrypcji genów kodujących enzymy uczestniczące w metabolizmie homocysteiny w wątrobie: N-metylotransferazy fosfatydyloetanolaminy (*PEN1*), beta syntazy cystationiny (*CBS*), S-metylotransferazy homocysteinowo-betainowej (*BHMT*) oraz na stężenie homocysteiny w osoczu krwi szczurów.

Przeprowadzono dwa doświadczenia na szczurach laboratoryjnych szczepu wsobnego Wistar. W pierwszym doświadczeniu samicom w okresie ciąży oraz laktacji podawano dietę kontrolną lub dietę doświadczalną niedoborową w białko i cysteinę. Koncepcje badawcze kontynuowano i rozwinęto w drugim doświadczeniu, w którym samice w okresie ciąży zostały losowo przydzielone do jednej z czterech grup i karmione dietami przygotowanymi na bazie standardowej paszy AIN-93G: dietą o prawidłowej zawartości białka i kwasu foliowego, dietą o obniżonej zawartości białka i prawidłowej zawartości kwasu foliowego, dietą o obniżonej zawartości białka i suplementowanej kwasem foliowym, dietą o prawidłowej zawartości białka i suplementowanej kwasem foliowym. Po odsadzeniu potomstwo tych matek przydzielono losowo do grupy karmionej dietą o prawidłowej

zawartości tłuszczu lub do grupy karmionej dietą wysokotłuszczową na bazie smalcu. Część potomstwa karmiono dietami doświadczalnymi do 10-tygodnia życia, a drugą część do 16-tygodnia życia.

Wyniki:

Wpływ niedoboru białka i cysteiny w diecie matki w okresie ciąży i laktacji na wzrost szczurów i metylację genu PPAR α

Stwierdzono, że niedobór białka i cysteiny w diecie matki w okresie ciąży i laktacji związany był z niższą masą ciała 4-tygodniowych szczurów w porównaniu do szczurów, których matki karmione były dietą o prawidłowej zawartości białka. Jednak już w 10-tygodniu życia zwierzęta obu grup nie różniły się masą ciała, mimo braku różnic w spożyciu diety. Badane zwierzęta nie różniły się też poziomem metylacji genu *PPAR α* w wątrobie (stwierdzono wyłącznie allele niezmetylowane). W przypadku metylacji *PPAR α* w tkance tłuszczowej u potomstwa matek karmionych dietą niedoborową w białko zidentyfikowano tylko allele niezmetylowane. Natomiast u potomstwa matek karmionych dietą o prawidłowej zawartości białka występowały zarówno allele niezmetylowane, jak i zmetylowane.

Publikacja: Chmurzynska A., Malinowska A. (2011) Protein- and cysteine-deficient diet of the dam influences growth patterns and methylation of the *PPAR α* gene in rat offspring. *Journal of Applied Animal Research* 39(1): 1-3.

Wpływ zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na gospodarkę lipidową szczurów

Stwierdzono, że suplementacja kwasem foliowym diety ciężarnych samic wiązała się z niższym stężeniem glukozy i cholesterolu całkowitego we krwi u ich 10-tygodniowego potomstwa, a także niższą masą ciała i ilością brzusznej tkanki tłuszczowej oraz niższym stężeniem cholesterolu całkowitego u potomstwa 16-tygodniowego. Niedobór białka w diecie matki nie miał wpływu na badane parametry biochemiczne krwi potomstwa. Ani zawartość białka, ani kwasu foliowego w diecie matki nie wpłynęły na stężenie insuliny u potomstwa. Suplementacja kwasem foliowym diety matki w okresie ciąży spowodowała obniżenie poziomu transkrypcji genów *PPAR α* , *PPAR γ* i *LXR α* w wątrobie szczurów. Niedobór białka w diecie matki spowodował wzrost poziomu transkrypcji genu *PPAR α* w wątrobie oraz redukcję poziomu transkrypcji *LXR α* w tkance tłuszczowej. Poziom transkrypcji *PPAR α* i *PPAR γ* w wątrobie oraz *LXR α* w tkance tłuszczowej zależał również od interakcji pomiędzy prenatalnymi i postnatalnymi czynnikami żywieniowymi. Transkrypcja *PPAR γ* w wątrobie korelowała ze spożyciem kalorii, masą ciała i masą tkanki tłuszczowej, podczas gdy poziom transkrypcji *PPAR γ* w tkance tłuszczowej był skorelowany z niższym spożyciem kalorii i niższą masą ciała. Stężenie cholesterolu całkowitego było skorelowane z poziomem transkrypcji *LXR α* w wątrobie. Reakcja na dietę wysokotłuszczową w życiu postnatalnym zależała od żywienia *in utero*, co obserwowano m.in. jako zmieniony poziom transkrypcji genów *PPAR α* i *PPAR γ* . Otrzymane wyniki świadczą o tym, że poziom białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży może wpływać istotnie na gospodarkę lipidową potomstwa, jednak skutki tego wpływu zależą również od zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej oraz wieku szczurów. Suplementacja kwasem foliowym diety matki o

zbilansowanej zawartości aminokwasów siarkowych może mieć pozytywny wpływ na fenotyp potomstwa w zakresie odkładania tkanki tłuszczowej. Wpływ ten nie jest zależny od zawartości białka w diecie matki. Chociaż badane geny są głównymi regulatorami metabolizmu lipidów (czyli dostosowanie organizmu do podaży różnych składników pokarmowych, w tym lipidów zależy m.in. od funkcjonowania tych genów), to w zastosowanym układzie doświadczalnym profil ich ekspresji w wątrobie i tkance tłuszczowej zależał w większej mierze od diety matki w okresie ciąży, aniżeli od aktualnego spożycia tłuszczów. Nie w każdym przypadku wartość badanych parametrów można w prosty sposób powiązać z profilem transkrypcji genów.

Publikacja: Chmurzynska A., Stachowiak M., Gawecki J., Pruszyńska-Oszmałek E., Tubacka M. (2012) Protein and folic acid content in the maternal diet determine lipid metabolism and response to high-fat feeding in rat progeny in an age-dependent manner. *Genes and Nutrition*7(2):223-34.

Wpływ zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na poziom transkrypcji genu *Lep* w brzusznej tkance tłuszczowej i stężenie leptyny we krwi szczurów

Chociaż poziom transkrypcji genu *Lep* w brzusznej tkance tłuszczowej różnił się u badanych grup, to jednak nie stwierdzono istotnego wpływu żadnego z czynników doświadczalnych. Spożywanie diety wysokotłuszczowej w okresie postnatalnym wiązało się ze zwiększeniem poziomu leptyny we krwi, jednak reakcja zwierząt na tę dietę nie zależała od diety matki w okresie ciąży. Poziom globalnej metylacji DNA w tkance tłuszczowej był o ok. 30% niższy u zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową. Uzyskane wyniki wskazują, że zawartość białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży nie wpływa znacząco na stężenie leptyny u jej potomstwa, co świadczy o tym, że w zastosowanym układzie doświadczalnym leptyna nie odgrywa istotnej roli w programowaniu metabolizmu lipidów.

Publikacja: Chmurzynska A., Stachowiak M., Pruszyńska-Oszmałek E., (2012) Maternal protein and folic acid intake during gestation does not program leptin transcription or serum concentration in rat progeny. *Genes and Nutrition*7(2):217-22.

Wpływ zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na metabolizm metioniny szczurów

Stwierdzono, że suplementacja kwasem foliowym diety matki w okresie ciąży wywoływała obniżenie poziomu transkrypcji genów *PEMT*, *BHMT* i *CBS* w wątrobie szczurów. Wykazano również występowanie interakcji pomiędzy zawartością białka i kwasu foliowego w diecie matki, a także interakcji pomiędzy wszystkimi czynnikami żywieniowymi (zawartość białka i kwasu foliowego w diecie matki, zawartość tłuszczu w diecie po odsadzeniu) w oddziaływaniu na poziom transkrypcji badanych genów. Najniższy poziom ekspresji obserwowano u potomstwa matek karmionych dietą o prawidłowej zawartości białka i suplementowaną kwasem foliowym. Poziom homocysteiny był o ok. 15% wyższy u samców aniżeli u samic, jednak ani dieta matki w okresie ciąży, ani dieta po odsadzeniu nie miały istotnego wpływu na ten parametr. Zaobserwowano nieistotną statystycznie tendencję do obniżenia stężenia homocysteiny u osobników o najniższym poziomie ekspresji badanych genów. Wyniki świadczą o tym, że zawartość białka i kwasu foliowego w diecie matki może wpływać

programującą na poziom transkrypcji genów *PEMT*, *BHMT* i *CBS* w wątrobie szczurów. Jednak ostateczny poziom transkrypcji dostosowany jest również do zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej. Prawdopodobnie ze względu na regulację ekspresji genów na poziomie translacji oraz allosteryczną regulację funkcjonowania enzymów, drastyczne różnice w poziomie transkrypcji badanych genów nie przełożyły się na różnice w stężeniu homocysteiny pomiędzy badanymi grupami zwierząt.

Publikacja: Chmurzynska A., Malinowska A. (2011) Homocysteine homeostasis in the rat is maintained by compensatory changes in CBS, BHMT, and PEMT gene transcription occurring in response to maternal protein and folic acid intake during pregnancy and fat intake after weaning. *Nutrition Research* 31:572-578.

Uzyskane wyniki mają przede wszystkim znaczenie poznawcze, jednakże mogą w przyszłości przyczynić się do modyfikacji zaleceń żywieniowych dla kobiet ciężarnych, po ich potwierdzeniu w interwencyjnych badaniach klinicznych.

c) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Od 2000 roku jestem zaangażowana w działalność badawczą w zespole prof. dr hab. Marka Świtońskiego (Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt - KGiPHZ, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu), a od roku 2006 prowadzę ją przede wszystkim jako członek zespołu prof. dr hab. Jana Gawęckiego (Zakład Podstaw Nauki o Żywieniu, Katedra Higieny Żywności Człowieka - KHŻCz, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu). Pozwoliło mi to wypracować własny warsztat badawczy oraz ukształtować oryginalne zainteresowania badawcze, które koncentrują się obecnie wokół żywieniowych i genetycznych uwarunkowań metabolizmu składników pokarmowych.

Od początku swojej kariery naukowej zajmowałam się głównie tzw. badaniami asocjacyjnymi, czyli poszukiwaniem zależności pomiędzy polimorfizmem genów a fenotypem. Moje zainteresowania dotyczyły uwarunkowań masy ciała i masy tkanki tłuszczowej. Badania z tego zakresu prowadziłam na różnych gatunkach zwierząt, m.in. świni domowej, która jest jednym z gatunków modelowych do badań nad zmiennością indywidualną w zakresie ilości tkanki tłuszczowej oraz nad otyłością u ludzi.

W ramach badań własnych, temat: „Struktura i polimorfizm genów czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w proces adipogenezy i białek wiążących kwasy tłuszczowe” oraz projektu zamawianego „Polimorfizm i ekspresja genu leptyny (*LEP*) i receptora leptyny (*LEPR*) oraz ich związek z cechami użytkowości rzeźnej świń” prowadziłam badania, których celem była analiza wpływu polimorfizmu genów związanych z gospodarką lipidową na zmienność otluszczenia świń. Badania przeprowadzone były na licznej grupie - ponad 400 zwierząt reprezentujących różne rasy. Zwierzęta te utrzymywane były w ujednoliconych warunkach i karmione jednakową paszą *ad libitum*. Oceniono szereg parametrów charakteryzujących gospodarkę lipidową zwierząt, takich jak np. grubość brzusznej, podskórnej i wewnątrzmięśniowej tkanki tłuszczowej, tempo przyrostu masy ciała czy efektywność żywienia. Moim zadaniem było m.in. poszukiwanie polimorficznych wariantów genu *CREB* (ang. cAMP-response element binding protein). Gen ten koduje czynnik transkrypcyjny związany m.in. z adipogenezą. Stwierdzony w przeprowadzonych analizach brak polimorfizmu w

obrębie części kodującej tego genu świadczy o jego konserwatyźmie. Poza tym analizowałam geny kodujące białka wiążące kwasy tłuszczowe (ang. *fatty acid-binding protein*, FABP). Białka FABP biorą udział m.in. w transporcie kwasów tłuszczowych przez błony komórkowe i w obrębie komórki. Analizowałam polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnej w intronie pierwszym genu *FABP4*, który podlega ekspresji w tkance tłuszczowej. Analiza statystyczna wykazała istnienie asocjacji pomiędzy niektórymi allelami a cechami odtuszczenia. Zależności te były rasowo-specyficzne, co może świadczyć o sprzężeniu tych alleli z jakimś nieznanym polimorfizmem, który jest bezpośrednią przyczyną zmienności. Badałam również gen *FABP3*, podlegający ekspresji przede wszystkim w mięśniu sercowym i zidentyfikowałam trzy nowe miejsca polimorficzne typu SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*) w regionie regulatorowym genu. Przeprowadzona analiza asocjacyjna dla nowych polimorfizmów oraz trzech wcześniej znanych polimorfizmów typu RFLP (ang. *restriction fragment length polymorphism*) nie wykazała asocjacji pomiędzy polimorfizmami RFLP a cechami odtuszczenia. W jednej z badanych ras polimorfizm regionu regulatorowego wiązał się z grubością podskórnej tkanki tłuszczowej. Wyniki te wskazują, że zmienność ww. genów nie wpływa znacząco na badane cechy.

Załącznik nr 3, pozycje: A4, A6, A10, B1, C1-C3, E2, E3, F4, F6, F9

Moje zainteresowania obejmują też zastosowania bioinformatyki w badaniach molekularnych, w związku z tym zaproponowałam wykorzystanie genomiki porównawczej w selekcji konkretnych regionów genomu, które później poddawane są analizie molekularnej. Celem badań była analiza porównawcza regionów chromosomowych różnych gatunków ssaków, w których zlokalizowane są geny *FABP3* i *FABP4*. Postawiona została hipoteza, że polimorfizm sekwencji konserwatywnych międzygatunkowo (MCS) może mieć duże znaczenie dla warunkowania fenotypu. W związku z tym stworzyłam dokładne mapy analizowanych regionów i wskazałam szereg MCS oraz podjęłam także próbę identyfikacji ich funkcji. U wszystkich badanych gatunków, powyżej miejsc startu transkrypcji genu *FABP4* zidentyfikowano MCS, który pełni funkcje wzmacniacza. Następnie przeprowadziłam poszukiwanie polimorfizmu w obrębie wzmacniacza genu *FABP4* świni domowej i zidentyfikowałam cztery polimorfizmy typu SNP. Jeden z nich przetestowany został na grupie ponad 150 zwierząt. Analiza statystyczna nie wykazała związku pomiędzy tym polimorfizmem a cechami odtuszczenia.

Załącznik nr 3, pozycja: A10, F11

Chociaż obecnie nie jest to już główny aspekt moich zainteresowań, to współpracując cały czas z KGiPHZ, w latach 2009-2010 uczestniczyłam w badaniach, które są kontynuacją moich wcześniejszych prac. Celem badań była analiza regionu genomu świni, w którym wcześniejsze badania wykazały obecność genu o dużym wpływie na ilość odkładanej tkanki tłuszczowej. Przeanalizowany został gen kodujący czynnik transkrypcyjny LMX1A (ang. *LIM homeobox transcription factor 1 alpha*), który aktywuje m.in transkrypcję genu insuliny. W przeanalizowanym fragmencie genu, obejmującym promotor, 5'UTR, ekson 1 i fragment intronu 1 zidentyfikowano tylko jedną substytucję, zlokalizowaną w intronie 1. Badania asocjacyjne przeprowadzono na grupie ponad 700 zwierząt różnych ras. Otrzymane wyniki sugerują, że polimorfizm ten nie wpływa znacząco na odkładanie tkanki tłuszczowej.

Załącznik nr 3, pozycje: A12

Badania nad genetycznymi uwarunkowaniami masy ciała prowadziłam również na różnych gatunkach z rodziny psowatych. Celem prowadzonych przeze mnie badań była analiza części strukturalnej genu leptyny u czterech gatunków z rodziny psowatych: psa (16 różnych ras), lisa pospolitego, lisa polarnego i jenota. Leptyna wydzielana przez adipocyty odgrywa niezwykle istotną rolę w utrzymaniu homeostazy energetycznej organizmu i regulacji pobierania pokarmu. Przeanalizowałam część strukturalną tego genu i nie stwierdziłam żadnych różnic pomiędzy badanymi rasami psów. Jednakże w eksonie 3 występowało sześć substytucji (trzy typu ciche podstawienia, trzy typu zmiany sensu) różnicujących badane gatunki zwierząt. Wyniki te świadczą o tym, że zróżnicowanie masy ciała psów różnych ras nie zależy od polimorfizmu genu leptyny.

Załącznik nr 3, pozycje: A1, F1, F2

W efekcie ww. badań poznano szereg sekwencji genowych, które umieszczono w bazie GenBank (załącznik nr 3, pozycje: D1-D7).

W latach 2000-2009 zaangażowana byłam także w inne prace prowadzone w KGiPHZ, m.in. nad zaburzeniami determinacji płci u zwierząt. Prowadziłam np. analizę przypadku odwróconej płci u kłaczy, czy przypadku zespołu odwróconej płci u owczarka niemieckiego (załącznik nr 3, pozycje: A2, A5, F3). Dzięki współpracy z dr hab. Izabelą Szczerbal brałam udział w badaniach dotyczących lokalizacji chromosomowej wybranych genów w genomie świni. Ich celem była lokalizacja chromosomowa różnych genów związanych z adipogenezą i gospodarką lipidową (załącznik nr 3, pozycje: A7-A9, E4, F12). Z kolei w ramach projektu „Ekspresja genów, poziom anomalii chromosomowych oraz apoptoza w oocytach i zarodkach bydłęcych poddanych dojrzewaniu i zapłodnieniu in vitro”, kierowanego przez dr hab. Dorotę Cieślak, prowadziłam analizę polimorfizmu genów związanych z apoptozą.

Od 2006 roku, czyli od momentu zatrudnienia w KHŻCz, moje zainteresowania badawcze poszerzyłam o zagadnienia związane z żywieniem i metabolizmem składników pokarmowych. W sumie pozwoliło mi to zebrać stosunkowo unikalną wiedzę i umiejętności, które umożliwiają mi prowadzenie badań dotyczących metabolizmu składników pokarmowych, przede wszystkim w odniesieniu do gospodarki lipidowej organizmu, a ostatnio również w powiązaniu z metabolizmem metioniny i folianów. W latach 2008-2011 prace badawcze realizowałam w ramach kierowanego przeze mnie projektu własnego pt. „Wpływ niedoboru białka w okresie prenatalnym na metylację DNA i ekspresję genów związanych z gospodarką lipidową” oraz badań dla Młodej Kadry - projekt pt. „Ocena wpływu zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży na stężenia metabolitów metioniny i metylację DNA w wątrobie szczurów”. W wyniku tych projektów powstały artykuły tworzące cykl habilitacyjny, ale także prace, które są ich rozwinięciem i kontynuacją (załącznik nr 3, pozycje: A13-A17, C5, E6, E7, E9, F13, F14, F16, F17, F20).

W ostatnim czasie prowadziłam badania nad programowaniem płodowym metabolizmu metioniny. Celem tych badań było określenie stężenia SAM i SAH oraz globalnej metylacji DNA w wątrobach szczurów, których matki w okresie ciąży spożywały dietę o zróżnicowanej zawartości białka i kwasu foliowego. Wyniki wskazały, że na stężenie SAM w wątrobie 10-tygodniowych szczurów miała wpływ płęć. Z kolei stężenie SAH w wątrobie szczurów zależało od zawartości białka w diecie matki w okresie ciąży oraz od zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej. Na stosunek zawartości SAM do SAH, który określa tzw. potencjalną zdolność komórki do metylacji różnych związków chemicznych, główny wpływ miała płęć zwierząt. Nie stwierdzono wpływu żadnego z

czynników doświadczalnych (płci, zawartości białka i/lub kwasu foliowego w diecie matki, zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej) na poziom globalnej metylacji DNA szczurów. Nie stwierdzono też korelacji pomiędzy stosunkiem zawartości SAM do SAH a globalną metylacją DNA w wątrobie. Stężenia SAM i SAH mają duże znaczenie dla przebiegu cyklu grup jednowęglowych, od którego może zależeć między innymi kumulacja homocysteiny w krwiobiegu związana ze zwiększeniem ryzyka chorób sercowo naczyniowych, a także wzrost zagrożenia niealkoholowym stłuszczeniem wątroby jako skutku niedoboru SAM.

Badalam też wpływ zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na metylację genów *Lep*, *LXRα* oraz *PPARγ* w wątrobie i brzusznej tkance tłuszczowej szczurów. Przeprowadzona analiza metylacji genów *Lep*, *LXRα* oraz *PPARγ* metodą MS-PCR (ang. *methylation-specific polymerase chain reaction*) oraz HRM (ang. *high resolution melting*) wskazuje, że czynniki żywieniowe (prenatalne i postnatalne) nie wpłynęły znacząco na metylację badanych genów. W przypadku niektórych genów duże znaczenie może mieć płeć.

We współpracy z zespołem prof. dr hab. Zbigniewa Krejpcio przeprowadziłam badania nad wpływem zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki oraz zawartości tłuszczu w diecie postnatalnej na tkankową zawartość żelaza, cynku i miedzi u szczurów. W badaniach tych stwierdzono, że zawartość tłuszczu w diecie postnatalnej jest związana z akumulacją żelaza oraz obniżeniem poziomu cynku i miedzi w wątrobie, a także obniżeniem zawartości miedzi w nerkach. Niedobór białka oraz suplementacja kwasem foliowym diety matki związane były ze zwiększeniem zawartości cynku w wątrobie i nerkach. Ponadto, suplementacja diety matki kwasem foliowym wiązała się z obniżeniem poziomu miedzi w nerkach u jej potomstwa. Wyniki te wskazują, że zawartość białka i kwasu foliowego w diecie ciężarnych samic szczura może wpływać na tkankową zawartość żelaza, cynku i miedzi u ich potomstwa (załącznik nr 3, pozycja A14)

Swoje doświadczenie w badaniach asocjacyjnych mogłam wykorzystać do zaplanowania badań nad genetycznymi i żywieniowymi uwarunkowaniami metabolizmu homocysteiny u osób starszych. Ich celem było określenie wpływu spożycia folianów i witamin B₆ i B₁₂ oraz genotypu w obrębie wybranych genów kodujących enzymy związane z metabolizmem metioniny na metabolizm homocysteiny u osób powyżej 60 roku życia. Stwierdzono m.in., że spożycie folianów w badanej grupie było stosunkowo wysokie, co przekładało się na wysokie stężenia folianów we krwi. Towarzyszyło temu relatywnie niskie stężenie homocysteiny. U kobiet krótkoterminowa suplementacja kwasem foliowym w dawce 400 µg/dzień skutkowała redukcją stężenia homocysteiny, a poziom redukcji uzależniony był od polimorfizmu C677T genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*). Jednakże suplementacja kwasem foliowym wiązała się również ze wzrostem stężenia glukozy oraz spadkiem stężenia cholesterolu frakcji HDL. Wyniki te wskazują, że suplementacja kwasem foliowym, wykorzystywana jako terapia redukująca stężenie homocysteiny, może wpływać na inne aspekty funkcjonowania organizmu np. na metabolizm lipidów. Ponadto efektywność tej interwencji może zależeć od płci, genotypu oraz wyjściowych parametrów charakteryzujących metabolizm metioniny (załącznik nr 3, pozycje A18, C4, E5, E8, E10).

Prowadziłam też prace dotyczące oceny spożycia folianów oraz witamin B₆ i B₁₂ przez różne grupy populacyjne. Celem badań było oszacowanie spożycia ww. witamin przez kobiety ciężarne oraz osoby powyżej 60 roku życia metodą bieżącego notowania lub FFQ. Oceniono wpływ takich czynników jak

miejsce zamieszkania czy poziom wiedzy o roli tych witamin na ich spożycie (załącznik nr 3, pozycje: A11, F15, F21-F23).

Zestawienie dotyczące dorobku publikacyjnego

Rodzaj publikacji	Liczba	Punkty MNiSW	IF
Oryginalne prace twórcze	17	326	22,112
- w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej	4	59	8,34
Artykuły przeglądowe	5	94	5,274
- w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej	1	32	4,077
Rozdziały w monografiach i podręcznikach akademickich	2	6	-
łącznie	24	426	27,386
Komunikaty naukowe opublikowane w czasopiśmie recenzowanych	10		
Pozostałe komunikaty naukowe	23		
Artykuły popularno-naukowe	2		

Współczynnik h=8, liczba cytowań: 262

Udział w projektach badawczych:

- Udział w badaniach finansowanych przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej w latach 2000-2003 (subsydium naukowe prof. dr hab. M. Światońskiego, kontrakt 13/2000).
- Badania własne, temat: Struktura i polimorfizm genów czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w proces adipogenezy i białek wiążących kwasy tłuszczowe; 2004-2005; wykonawca.
- Polimorfizm i ekspresja genu leptyny (LEP) i receptora leptyny (LEPR) oraz ich związek z cechami użytkowości rzeźnej świń; PBZ-KBN-036/P06/14; wykonawca.
- Ekspresja genów, poziom anomalii chromosomowych oraz apoptoza w oocytach i zarodkach bydłęcych poddanych dojrzewaniu i zapłodnieniu in vitro (PBZ-KBN-084/P06/2002), wykonawca.
- Wpływ niedoboru białka w okresie prenatalnym na metylację DNA i ekspresję genów związanych z gospodarką lipidową. 2008-2011, MNiSW, N N312 151034; kierownik projektu.
- Ocena wpływu zawartości białka i kwasu foliowego w diecie matki w okresie ciąży na stężenia metabolitów metioniny i metylację DNA w wątrobie szczurów; badania dla Młodej Kadry, 2011; kierownik projektu.

Recenzje

- Artykułów naukowych dla następujących czasopism: Archives Tierzucht (1), BMC Molecular Biology (1), Comparative Biochemistry and Physiology (1), Clinica Chimica Acta (1), Current Zoology (1), Journal of Applied Genetics (6), Livestock Science (2), Nutrition Research (2), PLoS One (1), FASEB J (1), Asian Journal of Andrology (1), Biological Trace Element Research (1), International Journal of Molecular Sciences (1), Nutrition (5), African Journal of Biotechnology (1), Human Reproduction (1), Genes and Nutrition (1), Food and Chemical Toxicology (1)
- Książek (1), wydawnictwo Elsevier
- Projektów badawczych – STW-Danone Partnership (Holandia), ZonMW (The Netherlands Organisation for Health Research and Development), Narodowe Centrum Badań i Rozwoju

Otrzymane nagrody i stypendia:

- Stypendium Ministra Edukacji Narodowej na rok akademicki 2001/2002.
- Wyróżnienie w dziedzinie „genetyka” w Konkursie na Najlepszą Pracę Magisterską organizowanym przez Polskie Towarzystwo Zootechniczne (2003).
- Nagroda za najlepszą prezentację Młodego Genetyka podczas I Polskiego Kongresu Genetyki, Gdańsk, 6-9 września 2004r. w sesji genetyka zwierząt.
- Stypendium konferencyjne organizatorów konferencji - 6th *Community Wide Experiment on the Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction (CASP6)*, Gaeta, Włochy, 4-8grudnia 2004.
- Stypendium krajowe dla młodych naukowców Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (2005).
- Stypendium krajowe dla młodych naukowców Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej (2006).
- Stypendium Naukowe Miasta Poznania dla młodych naukowców (2006r.)
- Wyróżnienie pracy doktorskiej przez Radę Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu.
- Nagroda za najlepszą prezentację Młodego Genetyka podczas II Polskiego Kongresu Genetyki, Warszawa, 18-20 września 2007r., w sesji genetyka zwierząt.
- Dyplom uznania Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych Polskiej Akademii Nauk za prace badawcze w roku 2007 (2008r.).
- Nagroda Polskiego Towarzystwa Genetycznego za najlepszą pracę opublikowaną w 2007 roku z zakresu genetyki zwierząt (2008r.).
- Nagroda zespołowa II stopnia JM Rektora UP za oryginalne i twórcze osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami naukowymi (2007 i 2008r.).
- Nagroda zespołowa III stopnia JM Rektora UP za osiągnięcia organizacyjne i opracowanie programu nauczania (2009r.).
- Nagroda zespołowa I stopnia JM Rektora UP za oryginalne i twórcze osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami naukowymi (2010r.).

Udział w konferencjach naukowych w kraju i za granicą:

- XXI zjazd Polskiego Towarzystwa Genetycznego, Poznań 11-13 czerwca 2001
- III Ogólnopolskie Seminarium Kół Naukowych Studentów Biotechnologii, Gdańsk 18-20 września 2001
- *Perspectives of structural and computational biology and their practical applications*, Poznań 25-26 listopada 2002
- *X Ogólnopolska Konferencja Cytogenetyczna*, Poznań 5-6 czerwca 2003
- *Sixth International Congress of The Polish Neuroscience Society*, Warszawa, lipiec 2003
- International conference: Genetic polymorphisms affecting health and production traits in farm animals, Jastrzębiec, 2-3 października 2003
- *XXI Genetic Days*, Wrocław, 1-3 września 2004
- *Polski Kongres Genetyki*, Gdańsk, 6-9 września 2004
- Postępy genetyki molekularnej bydła i trzody chlewnej, Poznań, 4-5 listopada 2004
- *6th Community Wide Experiment on the Critical Assessment of Techniques for Protein Structure Prediction (CASP6)*, Gaeta, Włochy, 4-8 grudnia 2004
- *Polish-German seminar on Modern approaches to animal breeding*, Poznań, 17-18 listopada 2005
- *1st BioScience Partnering Event*, Poznań 30-31 marca 2006
- *II Polski Kongres Genetyki*, Warszawa 18-20 września 2007
- *VIII Krajowe Warsztaty Żywieniowe*, Marózek 2-4 września 2008
- *NuGO week*, Montecatini Terme, Włochy, 31.08-03.09.2009
- III Polski Kongres Genetyki, Lublin, 12-15 września 2010
- IV International Congress of Nutrigenomics and Nutrigenetics, 18-20 listopada 2010, Pampeluna, Hiszpania
- *Advances and controversies in B vitamins and choline*, 5-8 marca 2012, Leipzig, Niemcy

Liczba referatów wygłoszonych na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych: 6

Chmuryńska