

Załącznik 2

**do Wniosku o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki
medyczne**

dr n. med. Piotr Nehring

AUTOREFERAT

PRZEDSTAWIAJĄCY OPIS DOROBKU ORAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Warszawa 2025 r.

Spis treści

1.	IMIĘ I NAZWISKO.	3
2.	POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE LUB ARTYSTYCZNE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....	3
3.	INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH.	3
4.	OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE.....	3
4.1.	TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	3
4.2.	SZCZEGÓŁOWY OPIS CELU NAUKOWEGO, METODYKI PRZETWARZANIA DANYCH I UZYSKANYCH WYNIKÓW.....	5
5.	OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH BĘDĄCYCH KLUCZOWYMI Z PUNKTU WIDZENIA DOTYCHCZASOWEJ KARIERY ZAWODOWEJ Z UWZGLĘDNIENIEM WSPÓŁPRACY KRAJOWEJ I MIEDZYNARODOWEJ.	31
6.	DOROBK DYDAKTYCZNY I POPULARYZATORSKI	33
6.1.	OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE	33
6.2.	OSIĄGNIĘCIA ORGANIZACYJNE	35
7.	DODATKOWE INFORMACJE DOTYCZĄCE KARIERY ZAWODOWEJ HABILITANTA - UKOŃCZONE KURSY, SZKOLENIA, WARSZTATY, STAŻE	36
7.1.	NAGRODY I WYRÓŻNIENIA	36
7.2.	CZŁONKOSTWO RAD REDAKCYJNYCH	36
7.3.	DYPLOMY UMIEJĘTNOŚCI	36

1. Imię i nazwisko.

Piotr Nehring

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

W roku 2012 habilitant ukończył studia na I Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i uzyskał tytuł zawodowy lekarza.

W 2018 roku habilitant uzyskał tytuł doktora nauk medycznych za pracę pt. *Zmienność w obrębie genu osteoprotegeryny jako czynnik ryzyka zespołu stopy cukrzycowej* w wykonywana w ramach Studium Doktoranckiego I Wydziału Lekarskiego na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym.

W 2020 roku habilitant uzyskał tytuł specjalisty w dziedzinie gastroenterologii nadawany przez Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi po złożeniu Państwowego Egzaminu Specjalistycznego.

W 2021 roku habilitant uzyskał certyfikat akredytacji specjalizacji europejskiej w dziedzinie gastroenterologii nadawany przez *European Section and Board of Gastroenterology and Hepatology* (ESBGH Fellowship).

W 2022 roku habilitant uzyskał tytuł specjalisty w dziedzinie chorób wewnętrznych nadawany przez Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi po złożeniu Państwowego Egzaminu Specjalistycznego.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

W latach 2013-2020 habilitant był zatrudniony w ramach etatu rezydenckiego początkowo w Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Chorób Przemiany Materii i później w nowo powstałej Klinice Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego równocześnie uczęszczając do Studium Doktoranckiego I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

W latach od 2018 - 2020 habilitant był zatrudniony na stanowisku asystenta, a od 2020 roku na stanowisku adiunkta, w grupie pracowników naukowo-dydaktycznych w Klinice Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

4. Osiągnięcia naukowe

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe w rozumieniu 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.), habilitant przedkłada cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych: *Genetyczne*

czynniki ryzyka uchyłkowatości jelita grubego w populacji ogólnej. W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. **Nehring P**, Gromadzka G, Giermaziak A, Jastrzębski M, Przybyłkowski A. Genetic variants of tissue inhibitors of matrix metalloproteinase 1 (rs4898) and 2 (rs8179090) in diverticulosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2021 Dec 1;33(1S Suppl 1):e431-e434. doi: 10.1097/MEG.0000000000002122. PMID: 33731593. (IF = 2,586)

Wkład autorski: Współtwórca hipotezy badawczej i metodyki przetwarzania danych. Rekrutacja pacjentów i zbieranie danych. Przetworzenie danych. Analiza statystyczna. Analiza genetyczna. Przygotowanie artykułu.

2. **Nehring P**, Gromadzka G, Jastrzębski M, Przybyłkowski A. *Genetic Variants in Matrix Metalloproteinases MMP3 (rs3025058) and MMP9 (rs3918242) Associated with Colonic Diverticulosis*. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Nov 17;59(11):2031. doi: 10.3390/medicina59112031. (IF = 2,4)

Wkład autorski: Współtwórca hipotezy badawczej i metodyki przetwarzania danych. Rekrutacja pacjentów i zbieranie danych. Przetworzenie danych. Analiza statystyczna. Analiza genetyczna. Przygotowanie artykułu.

3. **Nehring P**, Placha G, Przybyłkowski A. *Collagen (rs3134646) and AGHRP (rs4662344) genetic variants may predispose to colonic diverticulosis*. *Adv Med Sci*. 2025 Apr 22;S1896-1126(25)00023-9. doi: 10.1016/j.advms.2025.04.001. (IF = 2,5)

Wkład autorski: Współtwórca hipotezy badawczej. Twórca metodyki przetwarzania danych. Rekrutacja pacjentów i zbieranie danych. Przetworzenie danych. Analiza statystyczna. Analiza genetyczna. Przygotowanie artykułu.

4. **Nehring P**, Przybyłkowski A. *Genetic Determinants of Colonic Diverticulosis – A Systematic Review*. *Genes*. 2025, 16, 581. doi: 10.3390/genes16050581 (IF = 2,8)

Wkład autorski: Twórca strategii wyszukiwania. Wyszukiwanie i selekcja artykułów. Przetworzenie danych. Przygotowanie artykułu.

5. Jastrzębski M, **Nehring P**, Joniec-Maciejak I, Wawer A, Przybyłkowski A. *Serotonin Metabolism and Serotonin Receptors Expression Are Altered in Colon Diverticulosis*. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Nov 3;59(11):1945. doi: 10.3390/medicina59111945 (IF = 2,4)

Wkład autorski: Współtwórca metodyki przetwarzania danych. Rekrutacja pacjentów. Analiza statystyczna. Przetworzenie danych. Przygotowanie artykułu.

W ramach przedstawionego cyklu publikacji wykazano wpływ analizowanych wariantów genetycznych macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix*, ECM) na ryzyko powstawania uchyłków jelita grubego w populacji ogólnej. Badania podkreślają kluczową rolę zaburzeń ECM, aktywności metaloproteinaz oraz genów strukturalnych

w patogenezie uchyłkowatości jelita grubego. Wyniki te dostarczają istotnych dowodów na genetyczne podłoże tej choroby i otwierają nowe możliwości w zakresie diagnostyki i terapii ukierunkowanej. Badania były częściowo finansowane ze środków statutowych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i w ramach grantu wewnętrznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (1WZ/1/M/GW/N/21/21) pt.: *Wpływ wariantów wybranych genów na ryzyko uchyłkowatości jelita grubego*, realizowanego we współpracy międzyośrodkowej z Collegium Medicum Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie i Laboratorium Kliniki Chorób Wewnętrznych, Nadciśnienia Tętniczego i Angiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie.

4.2. Szczegółowy opis celu naukowego, metodyki przetwarzania danych i uzyskanych wyników

Uchyłkowatość jelita grubego to schorzenie o rosnącej częstości występowania w populacjach krajów rozwiniętych. Szacuje się, że u osób powyżej 60. roku życia występuje w ponad 60% przypadków, przy czym może pozostawać bezobjawowa lub manifestować się jako choroba uchyłkowa z objawami zapalnymi lub powikłaniami, takimi jak perforacje czy ropnie. Dotychczasowe badania epidemiologiczne wskazywały na istotną rolę czynników środowiskowych, takich jak dieta niskobłonnikowa, otyłość czy mała aktywność fizyczna, jednak w ostatnich latach coraz większe znaczenie przypisuje się czynnikom genetycznym. Rola możliwych czynników genetycznych była wykazywana zarówno w badaniach kliniczno-kontrolnych jak i badaniach asocjacyjnych.

4.2.1. Cel i ogólna charakterystyka badań w ramach rozprawy habilitacyjnej

Zainteresowanie rolą genów w patogenezie uchyłkowatości wynika z obserwacji rodzinnego występowania przypadków oraz wyników badań asocjacyjnych, wskazujących na udział genów związanych z metabolizmem macierzy zewnątrzkomórkowej, strukturalnymi składnikami tkanki łącznej oraz procesami zapalnymi. Celem omawianych badań było zidentyfikowanie nowych markerów genetycznych związanych z uchyłkowatością jelita grubego oraz lepsze zrozumienie molekularnych mechanizmów tego schorzenia, co może przyczynić się do poprawy diagnostyki i opracowania nowych strategii terapeutycznych.

Szczegółowym celem rozprawy habilitacyjnej *Genetyczne czynniki ryzyka uchyłkowatości jelita grubego w populacji ogólnej* było sprawdzenie czy wybrane warianty genetyczne mogące mieć udział w budowie i metabolizmie tkanki łącznej zwiększają ryzyko występowania uchyłkowatości jelita grubego w populacji ogólnej osób dorosłych.

Na podstawie dostępnych wyników dużych badań asocjacyjnych opartych na metodzie GWAS (ang. *genom-wide association studies*) i strategii poszukiwania genów kandydatów na podstawie wyników badań w zbliżonych jednostkach chorobowych wytypowano łącznie 15 wariantów genetycznych do analizy: *TIMP1* rs4898, *TIMP2* rs8179090, *MMP3* rs3025058, *MMP9* rs3918242, *MMP12* rs2276109, *IL1A* rs1800587, *IL1B* rs16944, *IL1B* rs2853550, *COL3A1* rs3134646, *COL3A1* rs6434304, *TACR1* rs3771810, *NK2R* rs3771863, *ARHGAP15* rs4662344, *FAM155A* rs67153654 oraz *TNFSF15* rs7848647 [1-24].

Głównym założeniem metodologicznym było stworzenie bazy pacjentów ze zweryfikowaną endoskopowo obecnością i lokalizacją uchyłków w jelicie grubym oraz pobranie materiału genetycznego do dalszych badań. Do realizacji tego celu, wszyscy pacjenci

mieli wykonane badanie kolonoskopowe w trakcie tego samego pobytu, podczas którego uzyskiwano dane antropometryczne, wywiady medyczne, badanie przedmiotowe i pobierano krew do badania genetycznego.

Badanie genetyczne wykonywano metodą RT-PCR. W przypadku dwóch pierwszych badań z cyku (A1 i A2) izolacja i genotypowanie odbyło się w pracowniach *Collegium Medicum* Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, w przypadku trzeciej pracy (A3) w Laboratorium Kliniki Chorób Wewnętrznych, Nadciśnienia Tętniczego i Angiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego metodą zautomatyzowaną. Prace laboratoryjne do ostatniej publikacji z cyklu (A5) zostały przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii (*CePT*) Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Najważniejszym osiągnięciem naukowym zgodnym z celami projektu było **udowodnienie nowego** niestwierdzanego we wcześniejszych badaniach asocjacyjnych (GWAS) **wpływu polimorfizmów inhibitorów metaloproteinaz macierzy i inhibitorów metaloproteinaz macierzy na ryzyko występowania uchyłkowatości jelita grubego**. Dodatkowo, **potwierdzono** postulowany wcześniej (w badaniach asocjacyjnych i kliniczno-kontrolnych) **wpływ** niektórych polimorfizmów, w tym **polimorfizmów kolagenu w populacji polskiej**. Przedstawione prace A1 i A2 z cyklu prezentują całkowicie nowe dane. Dowody przedstawione w badaniu A3 są pierwszymi badaniami przedstawionymi w populacji polskiej.

Poszczególne osiągnięcia (artykuły 1-5) stanowią wynik realizacji celów szczegółowych i zostały przedstawione w dalszych podrozdziałach.

4.2.2. Rola inhibitorów tkankowych metaloproteinaz (TIMP)

Pierwsze badania dotyczące roli inhibitorów tkankowych metaloproteinaz (TIMP) zostały przedstawione w artykule *Genetic variants of tissue inhibitors of matrix metalloproteinase 1 (rs4898) and 2 (rs8179090) in diverticulosis* (A1 z cyklu publikacji). W ramach tej pracy skupiono się na roli wariantów genetycznych rs4898 (*TIMP1*) oraz rs8179090 (*TIMP2*) w patogenezie uchyłkowatości jelita grubego.

Metaloproteinazy macierzy (MMP) to rodzina cynkozależnych proteinaz odpowiedzialnych za degradację białek w macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). TIMP regulują degradację białek ECM przez MMP i biorą udział w procesach zapalnych oraz nowotworowych [25].

Polimorfizm genu *TIMP1* rs4898 (372 T/C) to polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP), który powstaje w wyniku zamiany tyminy na cytozynę w pozycji +372, powodując cichą mutację w eksonie 5 genu *TIMP1*. Allel C *TIMP1* rs4898 jest związany z nadciśnieniem tętniczym u mężczyzn malezyjskich, natomiast allel T *TIMP1* rs4898 wiąże się z wyższym stężeniem TIMP1 w surowicy oraz wyższą śmiertelnością u osób z posocznicą [6, 26]. Ekspresja TIMP1 jest podwyższona w uchyłkach jelita grubego oraz w raku jelita grubego [7]. Polimorfizm *TIMP1* rs4898 jest wariantem eksonu 5 zlokalizowanym na chromosomie X, co oznacza, że kobiety mogą być homozygotami TT lub CC, a także heterozygotami TC, podczas gdy mężczyźni mogą posiadać tylko jeden allel: T lub C.

Polimorfizm *TIMP2* rs8179090 (-418G/C) jest wariantem transkryptu znajdującym się na chromosomie 17, kodującym genotypy GG, GC lub CC. *TIMP2* rs8179090 (-418G/C) powstaje w wyniku zamiany guaniny na cytozynę w pozycji -418. Allel C promotora *TIMP2*

może obniżać ekspresję genu poprzez zniesienie miejsca wiązania Sp1 [8]. Allel C *TIMP2* rs8179090 powoduje niższą ekspresję *TIMP2*, co może skutkować dysproporcją pomiędzy aktywnością MMP a *TIMP2*, prowadząc do zwiększonego ryzyka nowotworów, np. raka płaskonabłonkowego głowy i szyi [9]. *TIMP2* preferencyjnie wiąże się z proMMP2, co skutkuje jego inhibicją [27]. MMP2 jest związana z ciężkością przewlekłych chorób dróg oddechowych, progresją nowotworów, neowaskularyzacją i limfangiogenezą w obrębie guza oraz degradacją kolagenu typu I [28]. *TIMP2* może pośrednio modyfikować kolagen typu I, co może mieć znaczenie w patogenezie uchyłkowatości jelita grubego.

Celem badania było zweryfikowanie, czy polimorfizmy *TIMP1* rs4898 i *TIMP2* rs8179090 zwiększają ryzyko występowania uchyłkowatości jelita grubego. Oba polimorfizmy nie były dotychczas oceniane u pacjentów z uchyłkowatością.

Badaniem objęto 220 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2017-2019. Do grupy badanej zakwalifikowano pacjentów, u których w endoskopii stwierdzono uchyłki jelita grubego, natomiast do grupy kontrolnej należeli pacjenci bez uchyłków. Pobranie krwi do analizy wykonano w dniu badania kolonoskopowego. Kryteria wykluczające obejmowały pacjentów po częściowej lub całkowitej kolektomii.

Analiza genetyczna była wykonywana w laboratorium Wydziału Biologii i Nauk o Środowisku Uniwersytetu im. Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie. DNA zostało wyizolowane z pełnej krwi pobranej na EDTA przy użyciu urządzenia Maxwell® RSC Instrument oraz zestawu Maxwell® 16 Blood DNA Purification Kit (Promega Corporation, Madison, WI, USA). Użyto następujących gotowych starterów: dla *TIMP1* rs4898 – forward 5'-GCACATCACTACCTGCAGT i reverse 5'-GAAACAAGCCCACGATTAG; dla *TIMP2* rs8179090 – forward 5'-CGTCTCTTGTGGCTGGTCA i reverse 5'-CCTTCAGCTCGACTCTGGAG (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania STATISTICA 13.3PL (TIBCO Software Inc. 2019). Normalność rozkładu oraz wariancję danych oceniono za pomocą testów Kołmogorowa-Smirnowa oraz Shapiro-Wilka. Zmienne ilościowe o rozkładzie normalnym analizowano testem t-Studenta, natomiast w pozostałych przypadkach zastosowano test U Manna-Whitneya. Modele genetyczne zdefiniowano jako: dominujący (RA+RR vs AA), kodominujący (RR vs RA vs AA) oraz recesywny (RR vs AA+RA), gdzie R oznacza „allel ryzyka”. Różnice w częstościach alleli analizowano za pomocą testu χ^2 lub dokładnego testu Fishera, wykorzystując oprogramowanie Web-Assotest (oraz kalkulator online Instytutu Genetyki Człowieka, Technische Universität München, Niemcy (<https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>)). Równowagę Hardy'ego-Weinberga (HWE) dla badanych polimorfizmów oceniono poprzez obliczenie oczekiwanych liczebności genotypów na podstawie częstości alleli, a następnie porównanie ich z liczebnościami obserwowanymi za pomocą testu χ^2 (wykorzystano kalkulator Hardy-Weinberga autorstwa Michaela H. Courta). Istotność statystyczną ustalono na poziomie $\alpha < 0,05$. Brakujące dane usunięto parami.

Wśród 220 osób, u stu z rozpoznano uchyłkowatość jelita grubego, a 120 osoby bez uchyłków jelita grubego stanowiło grupę kontrolną. Wszyscy pacjenci byli rasy kaukaskiej, a uchyłki były zlokalizowane po lewej stronie jelita grubego. Nie stwierdzono różnic w średnim wieku oraz strukturze płciowej pomiędzy przypadkami a grupą kontrolną (odpowiednio 64,3 lat $\pm$ 12,4 lat vs 61,8 lat $\pm$ 11,1 lat; $P < 0,12$ oraz mężczyźni/kobiety 56/44 vs 78/42; $P < 0,11$). Nie zaobserwowano korelacji między wiekiem i płcią a analizowanymi allelami. Częstości allelu ryzyka badanych wariantów *TIMP* przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Częstość alleli ryzyka (RAF) w badanych grupach.

	Allel ryzyka	Grupa badana	Grupa kontrolna	χ^2	<i>P</i>	dbGaP europejskiej
<i>TIMP1</i> (T/C) rs4898	T	0,67	0,53	8,07	<0,01	T = 0,54
<i>TIMP2</i> (G/C) rs8179090	G	0,95	0,93	0,63	<0,43	G = 0,99

dbGaP - Baza danych NCBI genotypów i fenotypów dla projektu ALFA (Allele Frequency Aggregator), wersja wydania: 20200227123210, 10 marca 2020.

RAF dla *TIMP1* rs4898 różniła się od średniej RAF dla populacji europejskiej zgodnie z danymi Allele Frequency Aggregator (ALFA) Project udostępnionymi przez bazę Genotypes and Phenotypes Narodowego Centrum Biotechnologii (NCBI). Wariant *TIMP2* rs8179090 nie różnił się od RAF dla populacji europejskiej według ALFA Project, jednak w żadnej grupie nie stwierdzono homozygot CC, a częstość allelu ryzyka G wynosiła 0,95. Rozkład genotypów dla badanego polimorfizmu *TIMP1* wykazał odchylenie od równowagi Hardy’ego-Weinberga ($P < 0,05$).

Z uwagi na fakt, że *TIMP1* jest zlokalizowany na chromosomie X, dlatego *TIMP1* rs4898 analizowano oddzielnie u mężczyzn (tylko asocjacje alleliczne) oraz u kobiet (asocjacje alleliczne i genotypowe). W analizie przeprowadzonej dla połączonej grupy mężczyzn i kobiet oceniono jedynie asocjacje alleliczne. Analiza asocjacji *TIMP1* rs4898 wykazała, że allel ryzyka T występował częściej u pacjentów z uchyłkowatością w porównaniu z grupą kontrolną. Efekt ten był związany z subpopulacją mężczyzn i miał charakter recesywny (nie zaobserwowano związku wśród kobiet homozygotycznych) (Tabela 2). Nie wykazano związku *TIMP2* rs8179090 z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej.

Tabela 2. Wyniki genotypowania dla *TIMP1* rs4898 pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej (asocjacje genotypów i alleli dla chromosomu X)

<i>Genotypy i allele</i> <i>Kobiety: CC, CT or TT</i> <i>mężczyźni: C or T</i>	Genotypy <i>TIMP1</i> rs4898			<i>Równowaga HW</i> χ^2 ; <i>P</i>	Allele		<i>P dla asocjacji allelicznej</i>
	CC (lub C)	CT	TT (lub T)		T	C	
	% (n/N)	% (n/N)	% (n/N)		%	%	
<i>Uchyłkowatość</i> vs <i>kontrola</i> (asocjacja alleliczna)	24 (24/100) 38 (45/120)	24 (24/100) 24 (29/120)	53 (52/100) 38 (46/120)	Nie ma zastosowania dla asocjacji allelicznej	67 53	33 57	<0,01
<i>Uchyłkowatość (kobiety)</i> vs <i>kontrola (kobiety)</i> (genotypy)	21 (12/56) 24 (19/78)	40 (24/56) 37 (29/78)	39 (22/56) 39 (30/78)	0,58; <0,45 4,54; <0,03	63 57	37 43	<0,32
<i>Uchyłkowatość (kobiety homozygoty)</i> vs <i>kontrola (kobiety homozygoty)</i> (asocjacja alleliczna)	31 (10/32) 39 (19/49)	-	69 (22/32) 61 (30/49)	Nie ma zastosowania dla asocjacji allelicznej	69 61	31 39	<0,21
<i>Uchyłkowatość (mężczyźni)</i> vs <i>kontrola (mężczyźni)</i> (asocjacja alleliczna)	32 (14/44) 62 (26/42)	-	68 (30/44) 38 (16/42)	Nie ma zastosowania dla asocjacji allelicznej	68 38	32 62	<0,01

HWE – równowaga Hardy’ego-Weinberga; n – liczba alleli; N – całkowita liczba alleli;

Mimura i wsp. wykazali, że w błonie śluzowej i podśluzowej okrężnicy pacjentów z powikłaną uchyłkowatością poziom mRNA *TIMP1* był 18-krotnie wyższy, a poziom mRNA *TIMP2* trzykrotnie wyższy w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto w warstwie mięśniowej właściwej (*muscularis propria*) poziomy mRNA *TIMP1* i *TIMP2* były istotnie podwyższone u pacjentów z uchyłkowatością [29]. Mimura i wsp. doszli do wniosku, że uchyłkowatość jelita grubego jest związana ze zmianami w ekspresji TIMP. Spekuluje się, że TIMP może odgrywać rolę w przebudowie ściany jelita podczas uchyłkowatości oraz jej późniejszych powikłań.

W badanej populacji częstość występowania allelu T *TIMP1* rs4898 u mężczyzn z uchyłkowatością była wyższa niż u zdrowych mężczyzn. TIMP1 odpowiada głównie za hamowanie proMMP9 [27]. *In vivo* aktywność MMP9 odgrywa kluczową rolę w remodelowaniu składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), w tym kolagenu IV i lamininy w błonie podstawnej [30]. Allel T *TIMP1* rs4898 jest związany z wyższym stężeniem TIMP1 w surowicy. Wyższe stężenie *TIMP1* poprzez wpływ na poziom proMMP9 może być odpowiedzialne za degradację ECM i zwiększoną podatność na powstawanie uchyłków jelita grubego u nosicieli allelu T *TIMP1* rs4898. Rosemar i wsp. wykazali, że stężenia TIMP1, MMP1 i MMP2 w tkankach jelita były istotnie wyższe w próbkach esicy pobranych od pacjentów, którzy przeszli kolektomię esicy z powodu powikłanej choroby uchyłkowej [31].

Hvolris i wsp. wykazali, że u pacjentów z uchyłkowatością podwyższone stężenie TIMP1 w osoczu, wraz z antygenem rakowo-płodowym (CEA) oraz antygenem nowotworowym CA 19-9, jest związane ze znacznym wzrostem ryzyka zachorowania na raka jelita grubego [32]. Altadill i in. udowodnili, że błona śluzowa jelita u pacjentów z zapaleniem uchyłków wykazywała wyższą ekspresję TIMP1, TIMP3 i MMP1 niż u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna [7]. Udokumentowano również, że genotyp TT *TIMP1* rs4898 u kobiet oraz allel T u mężczyzn zwiększają podatność na chorobę Leśniowskiego-Crohna. Zmienna ekspresja MMP i TIMP u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego, rakiem jelita grubego oraz nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit (IBD) może tłumaczyć specyficzne zmiany strukturalne ściany jelita obserwowane w każdej z tych jednostek chorobowych [7].

TIMP2, poprzez swoje działanie na MMP2, może modyfikować kolagen typu I. Mikołajczyk-Stecyna i wsp. wykazali, że allel C *TIMP2* rs8179090 występuje częściej u pacjentów z tętniakiem aorty brzusznej [11]. Polimorfizm *TIMP2* rs8179090 jest związany z podatnością na raka pęcherzyka żółciowego oraz idiopatyczną skoliozę młodzieńczą [12, 13]. Ponadto genotyp G/G *TIMP2* rs8179090 był częstszy u pacjentów z rakiem jelita grubego [14]. W badaniu Kim i wsp. ekspresja *TIMP2* w próbkach nowotworów jelita grubego i odbytnicy była istotnie niższa niż w prawidłowej błonie śluzowej, podczas gdy ekspresja *MMP2*, *MMP9* i *TIMP1* była podwyższona [33]. U pacjentów z IBD stężenie *TIMP2* w surowicy jest podobne u chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego, chorobę Leśniowskiego-Crohna i zdrowych osób, natomiast poziomy TIMP1 i TIMP4 różnią się istotnie [34]. W badaniu Rosemar i wsp. białko *TIMP2* nie zostało wykryte w odcinkach jelita dotkniętych powikłaną chorobą uchyłkową, podczas gdy poziomy TIMP1, MMP1 i MMP2 były podwyższone [31]. W przedstawionym badaniu nie stwierdzono związku między *TIMP2* rs8179090 a uchyłkowatością jelita grubego.

W badaniu obejmującym 220 pacjentów wykazano, że allel T rs4898 w genie *TIMP1* jest istotnie częstszy u mężczyzn z uchyłkowatością (RAF: 67% u pacjentów vs. 53% w grupie kontrolnej; $P < 0,01$). Wynik ten wskazuje na możliwy mechanizm oparty na nadmiernej inhibicji aktywności MMP, co prowadzi do nieprawidłowego remodelingu ECM. W omawianej pracy nie zaobserwowano natomiast istotnych związków między wariantem rs8179090 w genie

TIMP2 a uchyłkowatością jelita grubego, co może wynikać z niewielkiego zasięgu biologicznego tego wariantu w kontekście ECM jelita grubego. Przedstawione wyniki są zgodne z m.in. z badaniami Mimury i inni., które wykazały podwyższone poziomy ekspresji *TIMP1* i *TIMP2* w wycinkach jelita pacjentów z uchyłkowatością [29].

Podsumowując, allel T *TIMP1* rs4898 może być genetycznym czynnikiem determinującym uchyłkowatość u mężczyzn. Dalsze badania nad aktywnością *TIMP* oraz analizy funkcjonalne mogą pomóc w wyjaśnieniu roli *TIMP* w patogenezie uchyłkowatości jelita grubego.

4.2.3. Metaloproteinazy macierzy (MMP) i ich rola w remodelingu ECM

Kontynuacją badań nad ECM była praca dotycząca *MMP Genetic Variants in Matrix Metalloproteinases MMP3 (rs3025058) and MMP9 (rs3918242) Associated with Colonic Diverticulosis*, w której oceniano wybrane warianty genetyczne *MMP3*, *MMP9* i *MMP12* (A2 z cyklu publikacji). W zbadanej populacji 134 pacjentów (59 z uchyłkami jelita grubego i 75 osób zdrowych) allel T polimorfizmu rs3918242 *MMP9* był istotnie częstszy u osób z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej (RAF: 24% vs. 11%; $P < 0,03$), co sugeruje jego rolę w degradacji kolagenu typu IV i utracie integralności strukturalnej ściany jelita. Dodatkowo wykazano, że genotyp 5A/5A rs3025058 *MMP3* był niemal dwukrotnie częstszy u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego, podkreślając znaczenie nadmiernej aktywności *MMP3* w degradacji proteoglikanów i kolagenu.

Przedstawione wyniki znajdują potwierdzenie w literaturze, gdzie podwyższona ekspresja *MMP9* i *MMP3* była obserwowana w tkankach jelita pacjentów z chorobami tkanki łącznej oraz nowotworami jelita grubego [22, 35, 36]. Tym samym badania te dostarczają dowodów na to, że nadmierna aktywność *MMP* może przyczyniać się do osłabienia strukturalnego ściany jelita, zwiększając ryzyko tworzenia uchyłków.

Na podstawie wyników wcześniejszych badań oszacowano, że predyspozycje genetyczne odpowiadają za 40–53% przypadków choroby uchyłkowej. Badania asocjacyjne całego genomu (GWAS) zidentyfikowały 53 potencjalne *loci* genetyczne związane ze zwiększonym ryzykiem uchyłkowatości jelita grubego [3, 15, 16]. Zbiorczo, badania te wskazały różne *loci* genetyczne związane z chorobą uchyłkową, rzucając światło na potencjalne mechanizmy patogenetyczne obejmujące czynniki nerwowo-mięśniowe, tkankę łączną i nabłonek. Wnioski z poprzednich badań przyczyniają się do rosnącego zasobu wiedzy na temat genetycznych podstaw choroby uchyłkowej, dostarczając informacji, które mogą wpłynąć na lepszą diagnostykę i ukierunkowane interwencje. Co ciekawe, badania GWAS nie wykazały powiązań z genami kodującymi lamininy, ani *MMP*.

Dotychczas wykazano, że wzrastająca częstość występowania uchyłkowatości jelita grubego wraz z wiekiem jest ściśle związana z akumulacją połączeń krzyżowych kolagenu, które predysponują ścianę jelita do powstawania osłabionych miejsc [37]. Należy zauważyć, że regulacja kolagenu i innych białek w błonie podstawnej jest kontrolowana przez *MMP*. Ponadto uchyłkowatość częściej występuje u pacjentów z nabytymi i dziedzicznymi chorobami tkanki łącznej, takimi jak zespół Marfana, Ehlersa-Danlosa, Coffina-Lowry'ego i Williama [1, 17]. Dysfunkcja tkanki łącznej przyczynia się do zwiększonej podatności błony śluzowej i podśluzowej jelita grubego na powstawanie przepuklin w miejscach zmniejszonej odporności ściany jelita, szczególnie w obszarach otaczających naczynia prostopadłe śródścienne.

Zmieniona kompozycja kolagenu znacząco wpływa na mechaniczną stabilność tkanki łącznej u osób z uchyłkowatością i przewlekłym stanem zapalnym [18]. Co istotne, u pacjentów z uchyłkami jelita grubego zaobserwowano wyższą ekspresję MMP1 [38]. W uchyłkowatości jelita grubego wzrasta synteza kolagenu typu III oraz wiązania krzyżowe kolagenu [39]. Dodatkowo, włókna kolagenowe w lewej części jelita grubego stają się mniejsze i bardziej zagęszczone wraz z wiekiem, zwłaszcza w uchyłkach jelita grubego, w przeciwieństwie do tych w prawej części jelita, a różnica ta jest jeszcze bardziej uwidoczniła.

Genotypy *MMP3* -1612 5A/6A, *MMP9* -1561 C > T oraz *MMP12* -82 A > G mogą potencjalnie wpływać na tkankę łączną poprzez regulację ekspresji i aktywności MMP. MMP to enzymy odgrywające kluczową rolę w przebudowie ECM, w tym w degradacji i syntezie różnych składników tkanki łącznej.

Gen *MMP3* koduje metaloproteinazę macierzy 3, znaną również jako stromielizyna-1. Polimorfizm -1612 5A/6A w tym genie wpływa na transkrypcję genu, a co za tym idzie, na produkcję MMP-3. Allel 5A jest związany z wyższą transkrypcją i produkcją MMP-3 w porównaniu do allelu 6A. Zwiększona ekspresja MMP-3 może prowadzić do wzmożonej degradacji składników ECM, takich jak proteoglikany i kolageny, wpływając na integralność strukturalną tkanek łącznych, w tym chrząstki i tkanek stawowych [25]. Allel 5A został powiązany z różnymi schorzeniami, w tym z zapaleniem stawów i chorobami zwyrodnieniowymi stawów.

Gen *MMP9* koduje metaloproteinazę macierzy 9, znaną również jako żelatynaza B. Polimorfizm -1561 C > T wpływa na ekspresję genu i poziom MMP-9. Allel T jest związany z wyższą ekspresją MMP-9 w porównaniu do allelu C. Zwiększona aktywność MMP-9 może przyczyniać się do przebudowy tkanki, potencjalnie wpływając na ECM w różnych tkankach, w tym w naczyniach krwionośnych oraz macierzy zewnątrzkomórkowej płuc. Podwyższona aktywność MMP-9 została powiązana ze schorzeniami takimi jak choroby naczyniowe, choroby płuc oraz przebudową tkanek w odpowiedzi na urazy lub stan zapalny [40].

Gen *MMP12* koduje metaloproteinazę macierzy 12, znaną również jako makrofagowa metaloelastaza. Polimorfizm -82 A > G może wpływać na regulację genu oraz produkcję MMP-12. Zmieniona ekspresja MMP-12 może oddziaływać na tkankę łączną, ponieważ MMP-12 bierze udział w degradacji elastyny i przebudowie tkanek. Zmiany w produkcji MMP-12 wynikające z wariantów genetycznych mogą wpływać na właściwości mechaniczne i elastyczność tkanki łącznej, potencjalnie przyczyniając się do rozwoju chorób takich jak rozedma płuc i inne schorzenia układu oddechowego [41].

Biorąc pod uwagę tę złożoną zależność między MMP a uchyłkowatością jelita grubego, postanowiono zbadać, czy wybrane warianty genetyczne *MMP3*, *MMP9* i *MMP12* są związane z częstością występowania uchyłkowatości jelita grubego.

Badanie obejmowało 134 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w okresie od 2017 do 2020 roku. Dane dotyczące pacjentów i metody, a także analizy statystycznej są analogiczne jak w badaniu dotyczącym TIMP przedstawionym w punkcie 4.2.2.. Wykorzystano następujące startery do wykonania badania PCR: dla *MMP3* rs3025058, starter forward 5' - GGTTCTCCATTCCTTTGATGGGGGGAAGA - 3', oraz starter reverse 5' - CTCCTGGAATTCACATCACTGCCACCACT - 3'; dla *MMP9* rs3918242, starter forward 5' - GCCTGGCACATAGTAGGCC - 3' oraz starter reverse 5' - CTCCTAGCCAGCCGGCATC - 3'; dla *MMP12* rs2276109, starter forward 5' -

GTCAAGGGATGATATCAGCT - 3', oraz starter reverse 5' - CTTCTAAACGGATCAATTCAG - 3' (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA).

Wśród 134 pacjentów, których obejmowało badanie, u 59 zdiagnozowano uchyłkowatość jelita grubego, natomiast 75 zdrowych osób stanowiło grupę kontrolną. Stosunek mężczyzn i kobiet w obu grupach nie różnił się, 21 do 38 w grupie badanej i 26 do 49 w grupie kontrolnej ($P < 0,53$). Nie było różnic w strukturze wieku pomiędzy grupą badaną $64,5 \pm 12,6$ lat i kontrolną $60,9 \pm 12,6$ lat ($P < 0,12$). Analiza parametrów antropometrycznych nie wykazała istotnych różnic między badanymi grupami. Średnia masa ciała wynosiła $73,08 \pm 17,36$ kg w grupie pacjentów i $75,68 \pm 15,86$ kg w grupie kontrolnej, a różnica między grupami była statystycznie nieistotna ($P < 0,42$). Podobnie średni wzrost nie różnił się między grupami i wynosił odpowiednio $166,08 \pm 10,23$ cm oraz $166,19 \pm 12,49$ cm ($P < 0,96$). W odniesieniu do chorób współistniejących analiza nie wykazała istotnych różnic w częstości występowania różnych schorzeń między przypadkami a grupą kontrolną. Brak statystycznie istotnych różnic obejmował szeroki zakres schorzeń, takich jak przepukliny brzuszne, uchyłki w innych częściach przewodu pokarmowego, choroba hemoroidalna, nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca, nieswoiste choroby zapalne jelit, polipy jelita grubego, choroba refluksowa przełyku, choroby tarczycy i łuszczyca. Żaden z pacjentów objętych badaniem nie miał zdiagnozowanego zapalenia uchyłków, a wszystkie przypadki uchyłkowatości dotyczyły wyłącznie lewej strony jelita grubego. Dodatkowo ocena pacjentów przy użyciu skali oceny stanu zapalnego i powikłań uchyłkowatości (DICA) wykazała jednolite wyniki – wszyscy pacjenci otrzymali wynik DICA równy 1, z medianą 2 punktów i zakresem 2–3 punktów.

Porównanie częstości występowania alleli ryzyka (RAF) w grupie pacjentów i grupie kontrolnej zostało szczegółowo przedstawione w Tabeli 3. Analiza rozkładu częstości allelu ryzyka 5A genu *MMP3* rs3025058 wykazała charakterystyczny wzorec – u pacjentów częstość wynosiła 0,68, podczas gdy w grupie kontrolnej 0,59. Różnica ta była zgodna z równowagą Hardy'ego-Weinberga (HWE). Brak dostępnych danych dotyczących częstości alleli *MMP3* rs3025058 w europejskich bazach populacyjnych podkreśla unikalność tych wyników.

Częstość allelu T genu *MMP9* rs3918242 wynosiła 0,24 w grupie pacjentów, natomiast w grupie kontrolnej była znacznie niższa i wynosiła 0,11. To wyraźne odchylenie od HWE ($P < 0,03$) wskazuje na potencjalne znaczenie genetyczne tej różnicy. Co istotne, powszechna częstość RAF allelu T dla *MMP9* rs3918242 w populacji europejskiej wynosi 0,17, co podkreśla specyficzny profil genetyczny zaobserwowany w tym badaniu.

Analiza genu *MMP12* rs2276109 wykazała subtelne różnice w częstości alleli ryzyka. Częstość allelu ryzyka A u pacjentów wynosiła 0,84, co jest zbliżone do wartości w grupie kontrolnej (0,82). Ten rozkład jest zgodny z równowagą Hardy'ego-Weinberga, co potwierdza stabilność genetyczną w tym zakresie. Co więcej, zaobserwowana częstość jest zgodna z powszechną częstością oszacowaną na 0,88 w szerszej populacji europejskiej.

Tabela 3. Częstości alleli ryzyka (RAF) w badanej grupie.

	Allel ryzyka	RAF przypadków	RAF kontrolnych	HWE χ^2	P	dbGaP europejski
<i>MMP3</i> rs3025058	5A	0,68	0,59	2,35	<0,13	N/A
<i>MMP9</i> rs3918242	T	0,24	0,11	4,89	<0,03	0,17
<i>MMP12</i> rs2276109	A	0,84	0,82	1,47	<0,22	0,88

dbGaP – baza danych National Center for Biotechnology Information dotycząca genotypów i fenotypów; HWE – równowaga Hardy’ego-Weinberga.

Rozkład genotypów alleli ryzyka *MMP* w grupach pacjentów i kontrolnej przedstawiono w Tabeli 4. Częstość genotypu 5A/5A *MMP3* rs3025058 była niemal dwukrotnie wyższa wśród pacjentów z uchyłkowatością niż w grupie kontrolnej, podczas gdy częstość genotypu 6A/6A była o połowę mniejsza. Różnica ta miała jednak graniczne znaczenie statystyczne w całym modelu.

Rozkład genotypów *MMP9* rs3918242 różnił się istotnie pomiędzy pacjentami a osobami zdrowymi – w grupie pacjentów częściej występował genotyp CT, a rzadziej genotyp CC. Allel T *MMP9* rs3918242 był istotnie częstszy wśród pacjentów z uchyłkowatością ($P < 0,03$). Allel ten wykazał istotne powiązania w modelach genetycznych dominującym i kodominującym, z ilorazem szans (OR) wynoszącym 2,62 (95% CI: 1,24 - 5,56) i 2,10 (95% CI: 1,06 - 4,13), odpowiednio ($P < 0,01$ i $P < 0,03$).

Częstości genotypów *MMP12* -82 A>G (rs2276109) nie wykazały istotnych ($P < 0,05$) różnic między pacjentami a grupą kontrolną.

Tabela 4. Zależności genetyczne analizowanych wariantów *MMP* z uchyłkowatością

Geny (SNP ID)	Genotyp, allele	N (%)	*RAF	Skorygowany OR (95% CI)	P
<i>MMP3</i> -1612 5A/6A (rs3025058)	6A/6A	6 (10)	0,58	1,00	< 0,41
	5A/6A	26 (44)		1,57 (0,53 - 4,66)	
	5A/5A	27 (46)		2,25 (0,74 - 6,81)	
	5A (+)	0,68		1,48 (0,90 - 2,46)	< 0,13
<i>MMP9</i> -1561 C > T (rs3918242)	C/C	36 (61)	0,11	1,00	< 0,01
	C/T	23 (39)		3,00 (1,35 - 6,64)	
	T/T	0 (0)		---	
	T (+)	0,24		2,18 (1,08 - 4,39)	< 0,03
<i>MMP12</i> -82 A > G (rs2276109)	G/G	1 (2)	0,82	1,00	< 0,90
	G/A	17 (29)		1,17 (0,10 - 13,92)	
	A/A	41 (69)		1,86 (0,16 - 21,34)	
	A (+)	0,84		1,47 (0,79 - 2,75)	< 0,22

RAF – częstość alleli ryzyka.

W analizie haplotypów obejmujących trzy loci oczekiwana liczba haplotypów wynosiła 27, ale zaobserwowano tylko 16. Wśród pacjentów z uchyłkowatością najczęstsze haplotypy to:

- MMP3 -1715 5A/5A | MMP9 -1562 C/C | MMP12 -82 A/A (31%)
- MMP3 -1715 5A/6A | MMP9 -1562 C/T | MMP12 -82 A/G (14%)

W grupie kontrolnej najczęstsze haplotypy obejmowały:

- MMP3 -1715 5A/6A | MMP9 -1562 C/C | MMP12 -82 A/A (24%)
- MMP3 -1715 5A/6A | MMP9 -1562 C/C | MMP12 -82 A/G (20%)

Unikalne haplotypy wśród pacjentów obejmowały MMP3 -1715 5A/5A | MMP9 -1562 C/T | MMP12 -82 G/G (2%) oraz MMP3 -1715 6A/6A | MMP9 -1562 C/T | MMP12 -82 A/G (2%).

W badaniu *Genetic Variants in Matrix Metalloproteinases MMP3 (rs3025058) and MMP9 (rs3918242) Associated with Colonic Diverticulosis* (A2 z cyklu publikacji) przedstawiono dowody podkreślające związek pomiędzy wariantami genetycznymi *MMP* a uchyłkowatością. *MMP* i ich warianty genetyczne mogą odgrywać kluczową rolę w patogenezie uchyłkowatości ze względu na ich zdolność do degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej.

Stwierdzono zwiększoną częstość występowania allelu 5A *MMP3* -1715 wśród osób z uchyłkowatością w porównaniu z grupą kontrolną. Co istotne, allel 5A jest ściśle związany z wyższym poziomem transkrypcji i zwiększoną produkcją *MMP-3* w porównaniu z allelem 6A. Dodatkowo u pacjentów z uchyłkowatością odnotowano zwiększoną częstość występowania allelu T *MMP9* -1562 w porównaniu z osobami zdrowymi. Warto zauważyć, że allel T był wcześniej powiązany z wyższą ekspresją *MMP-9* w porównaniu z jego odpowiednikiem, allelem C. To wspólne zwiększenie aktywności *MMP-3* i *MMP-9* może prowadzić do nasilenia degradacji białek blaszki podstawnej, co potencjalnie zwiększa predyspozycję do uchyłkowatości jelita grubego.

Ponadto, analiza haplotypów u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego wykazała częste współwystępowanie alleli takich jak *MMP3* -1715 5A/5A (genotyp charakteryzujący się dwoma allelami o wysokiej aktywności transkrypcyjnej), *MMP9* -1562 C/C (genotyp z dwoma allelami o niskiej aktywności transkrypcyjnej) oraz *MMP12* -82 A/A (genotyp z dwoma allelami o wysokiej aktywności transkrypcyjnej). Zaskakujące było to, że nie zaobserwowano współwystępowania homozygotycznych genotypów składających się wyłącznie z alleli o wysokiej aktywności transkrypcyjnej dla *MMP12* i *MMP3* (tj. *MMP12* -82 G/G oraz *MMP3* -1715 6A/6A) ani współwystępowania genotypu o niskiej aktywności transkrypcyjnej *MMP12* -82 G/G z heterozygotycznym genotypem *MMP3* -1715 5A/6A. To spostrzeżenie sugeruje, że obecność homozygotycznych genotypów składających się wyłącznie z alleli o wysokiej lub niskiej aktywności transkrypcyjnej może mieć niekorzystny wpływ.

MMP3, stromielizyna produkowana przez fibroblasty i miofibroblasty, wykazuje zdolność do degradacji białek blaszki podstawnej, proteoglikanów, E-kadheryny, plazminogenu, interleukiny (IL)-1 β oraz chemokiny 7. Polimorfizm *MMP3* rs3025058 to wariant transkryptu znajdujący się w regionie promotora, który w pozycji -1612 wprowadza zmienność polegającą na insercji (6A) lub delecji (5A). Wariant promotora *MMP3* rs3025058 6A wykazuje obniżoną aktywność transkrypcyjną ze względu na zwiększone powinowactwo represora do miejsca wiązania w polimorficznym regionie [36]. W omawianym badaniu pacjenci z uchyłkowatością wykazywali niższą częstość występowania genotypu *MMP3*

rs3025058 6A/6A w porównaniu do osób zdrowych. Zmniejszona aktywność transkrypcyjna *MMP3* może prowadzić do zwiększonej degradacji białek blaszki podstawnej związanej z aktywnością *MMP3* w porównaniu do grupy kontrolnej.

MMP9, znana jako żelatynaza neutrofilowa, jest produkowana przez nabłonek, fibroblasty i leukocyty, a jej funkcją jest degradacja elastyny, kolagenu typu IV, innych białek blaszki podstawnej, żelatyn, czynnika wzrostu nowotworów (TGF)- β , IL-8 oraz α 1- antytrypsyny [35]. Polimorfizm *MMP9* rs3918242 to wariant prowadzący do substytucji cytozyny na tyminę w pozycji -1561 w regionie promotora. *MMP9* rs3918242 została powiązana z ryzykiem samoistnego krwotoku śródmózgowego, potencjalnie złośliwymi i złośliwymi zmianami w obrębie głowy i szyi oraz była stosowana jako biomarker skuteczności ulinastatyny w leczeniu pacjentów z ciężkim ostrym zapaleniem trzustki [20-22]. Substytucja nukleozydu C na T w regionie promotora *MMP9* rs3918242 może potencjalnie prowadzić do przesunięcia ramki odczytu, wpływając tym samym na skład i funkcję kodowanego białka, w tym zmiany w aktywności proteolitycznej oraz ekspresji genu.

Podsumowując, wyniki badań w publikacji A2 można stwierdzić, że istnieje związek między wariantami genetycznymi metaloproteinaz macierzy a uchyłkowatością jelita grubego. Pacjenci z uchyłkowatością wykazywali wyraźnie wyższą częstość występowania allelu T w *MMP9* (rs3918242) oraz genotypu 5A/5A w *MMP3* (rs3025058) w porównaniu do osób zdrowych. Zarówno *MMP3*, jak i *MMP9* są produkowane przez fibroblasty i mają zdolność do degradacji białek blaszki podstawnej. Warianty genetyczne, które promują wyższą aktywność lub zwiększoną produkcję *MMP3* i *MMP9*, mogą przyczyniać się do nasilonej degradacji białek ECM. Wyniki sugerują, że degradacja białek macierzy zewnątrzkomórkowej odgrywa istotną rolę w powstawaniu uchyłkowatości jelita grubego.

4.2.4. Geny strukturalne (*COL3A1*) i regulacja cytoszkieletu (*ARHGAP15*).

W publikacji *Collagen (rs3134646) and AGHRP (rs4662344) genetic variants may predispose to colonic diverticulosis* (A3 cyklu publikacji) analizowano szersze spektrum genów związanych z regulacją genów strukturalnych, tkanki łącznej i cytoszkieletu. W badaniu na populacji 323 pacjentów (134 z uchyłkami jelita grubego i 189 osób zdrowych) wykazano, że allel C rs3134646 (*COL3A1*) oraz allel T rs4662344 (*ARHGAP15*) są częstsze u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej (RAF: odpowiednio 47% vs. 40% i 21% vs. 16%). Kolagen typu III jako główny składnik ECM, odpowiada za mechaniczne właściwości tkanki łącznej. Zmiany w jego syntezie lub strukturze mogą prowadzić do osłabienia ściany jelita, zwiększając jej podatność na tworzenie uchyłków [2]. Z kolei *ARHGAP15*, regulator aktywności GTPazy, wpływa na reorganizację cytoszkieletu i migrację komórek, co może być istotne w procesach remodelingu tkanki w odpowiedzi na stres mechaniczny [16, 42]. Wyniki te sugerują, że geny strukturalne i cytoszkieletalne mogą współdziałać w patogenezie uchyłkowatości, podkreślając wieloczynnikowy charakter tej choroby.

W omawianym badaniu analizowano następujące warianty genetyczne: rs1800587 w genie interleukiny 1 alfa (*IL1A*), rs16944 w genie interleukiny 1 beta (*IL1B*), rs2853550 w genie *IL1B*, rs3134646 w genie kolagenu typu 3 łańcucha alfa 1 (*COL3A1*), rs6434304 w genie *COL3A1*, rs3771810 w genie receptora tachykininy 1 (*TACR1*), rs3771863 w genie *TACR1*, rs4644560 w genie receptora neurokininy 2 (*NK2R*), rs4662344 w genie Rho GTPazy aktywującej białko 15 (*ARHGAP15*), rs67153654 w genie rodziny z podobieństwem sekwencji 155, członek A (*FAM155A*) oraz rs7848647 w genie nadrodziny czynnika martwicy

nowotworów 15 (*TNFSF15*). Niektóre z tych omawianych wariantów genetycznych zostały zidentyfikowane w badaniach GWAS jako związane z uchyłkami jelita grubego, w tym warianty genów *ARHGAP15* i *FAM155A*, co istotne w GWAS nie wykazano związku wariantów genu *COL3A1* z uchyłkowatością jelita grubego [3, 15].

Sposób zbierania danych, rekrutacji pacjentów i metodologia, w tym analiza statystyczna zostały przedstawione w podrozdziale 4.2.2. Badania genetyczne wykonywano w Laboratorium Kliniki Chorób Wewnętrznych, Nadciśnienia Tętniczego i Angiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. DNA zostało wyizolowane z pełnej krwi pobranej do probówek z EDTA przy użyciu zestawu DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Niemcy). Genotypowanie polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) przeprowadzono za pomocą TaqMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, USA). Analizę wariantów allelicznych wykonano metodą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR) z użyciem systemu QuantStudio™ 12K Flex (Life Technologies, Carlsbad, USA).

Nie stwierdzono istotnych różnic między grupą badawczą a grupą kontrolną pod względem wieku, masy ciała, wzrostu ani płci. U pacjentów z uchyłkami jelita grubego częściej rozpoznawano chorobę refluksową przełyku, nadciśnienie tętnicze oraz przewlekłą obturacyjną chorobę płuc, natomiast rzadziej wrzodziejące zapalenie jelita grubego i zespół jelita drażliwego. Wszyscy pacjenci z grupy badanej mieli uchyłki zlokalizowane po lewej stronie okrężnicy i uzyskali wynik 1 w skali DICA podczas oceny endoskopowej. Rozkład alleli oraz RAF w badanych grupach przedstawiono w Tabeli 5.

W omawianym badaniu wykazano związek allelu C wariantu rs3134646 w genie *COL3A1* z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej zarówno w modelu kodominującym (OR = 1,33; 95% CI: 0,97 – 1,82; $P < 0,07$), jak i w modelu recesywnym (OR = 1,90; 95% CI: 1,08 – 3,33; $P < 0,03$). Allel C wariantu rs3134646 w genie *COL3A1* był częstszy u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej (RAF 0,47 vs 0,40; $P < 0,09$), co przedstawiono w Tabeli 6.

Tabela 5. Rozkład alleli oraz RAF w badanych grupach.

SNP	Gen	Allel ryzyka	Częstość alleli wg bazy GnomAD*	Kontrola n = 189	Uchyłkowatość n= 134	Asocjacja alleliczna <i>P</i>
rs1800587	<i>IL1A</i>	T	0,32	TT – 10 TC – 80 CC – 99 T/C – 100/278 RAF = 0,27	TT – 9 TC – 58 CC – 67 T/C – 76/192 RAF = 0,28	0,59
rs16944	<i>IL1B</i>	T	0,43	TT – 18 TC – 89 CC – 81 T/C – 125/251 RAF = 0,33	TT – 13 TC – 67 CC – 54 T/C – 93/175 RAF = 0,35	0,70
rs2853550	<i>IL1B</i>	T	0,16	TT – 0 TC – 25 CC – 164 T/C – 25/353 RAF = 0,07	TT – 0 TC – 12 CC – 125 T/C – 12/262 RAF = 0,04	0,22
rs3134646	<i>COL3A1</i>	C	0,42	CC – 28 CT – 93 TT – 68 C/T – 152/229 RAF = 0,40	CC – 33 CT – 58 TT – 42 C/T – 124/142 RAF = 0,47	0,09
rs6434304	<i>COL3A1</i>	A	0,31	AA – 19 AG – 79 GG – 91 A/G – 117/261 RAF = 0,31	AA – 13 AG – 59 GG – 62 A/G – 85/183 RAF = 0,32	0,84
rs3771810	<i>TACR1</i>	G	0,22	GG – 2 GA – 48	GG – 1 GA – 28	0,33

				AA – 137 G/A – 52/322 RAF = 0,14	AA – 104 G/A – 30/236 RAF = 0,11	
rs3771863	<i>TACR1</i>	T	0,30	TT – 2 TG – 42 GG – 144 T/G – 46/330 RAF = 0,12	TT – 2 TG – 35 GG – 96 T/G – 39/227 RAF = 0,15	0,37
rs4644560	<i>NK2R</i>	C	0,42	CC – 37 CG – 90 GG – 62 C/G – 164/214 RAF = 0,43	CC – 27 CG – 69 GG – 35 C/G – 123/139 RAF = 0,47	0,37
rs4662344	<i>ARHGAP15</i>	T	0,18	TT – 3 TC – 53 CC – 133 T/C – 59/319 RAF = 0,16	TT – 7 TC – 42 CC – 84 T/C – 56/210 RAF = 0,21	0,08
rs67153654	<i>FAM155A</i>	A	0,18	AA – 6 AT – 71 TT – 112 A/T – 83/295 RAF = 0,22	AA – 3 AT – 50 TT – 81 A/T – 56/212 RAF = 0,21	0,75
rs7848647	<i>TNFSF15</i>	A	0,26	AA – 19 GA – 74 GG – 96 A/G – 112/266 RAF = 0,30	AA – 13 GA – 54 GG – 67 A/G – 80/188 RAF = 0,30	0,95

SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu; RAF – częstość allelu ryzyka; *częstość allelu ryzyka zgodnie z bazą danych *GnomAD* v4.1.0 dla populacji ogólnej, dostępnej pod adresem: <https://gnomad.broadinstitute.org/>.

Tabela 6. Genotypy i asocjacja alleli dla uchyłkowatości jelita grubego w porównaniu do zdrowych osób z grupy kontrolnej.

SNP	Gen	OR (95% CI) <i>P</i>			HWE grupa badana	HWE grupa kontrolna
		Dominujący	Kodominujący	Recesywny	χ^2 (<i>P</i>)	χ^2 (<i>P</i>)
rs1800587	<i>IL1A</i>	1,10 (0,71 – 1,71) 0,67	1,11 (0,77 – 1,60) 0,58	1,29 (0,51 – 3,26) 0,59	0,57 (0,45)	1,46 (0,23)
rs16944	<i>IL1B</i>	1,12 (0,72 – 1,76) 0,62	1,07 (0,76 – 1,52) 0,88	1,01 (0,48 – 2,15) 0,97	1,43 (0,23)	0,83 (0,36)
rs2853550	<i>IL1B</i>	0,63 (0,30 – 1,30) 0,20	0,63 (0,30 – 1,30) 0,20	-	0,29 (0,59)	0,95 (0,33)
rs3134646	<i>COL3A1</i>	1,22 (0,76 – 1,95) 0,41	1,33 (0,97 – 1,82) 0,07	1,90 (1,08 – 3,33) 0,03	2,04 (0,15)	0,17 (0,68)
rs6434304	<i>COL3A1</i>	1,08 (0,69 – 1,68) 0,74	1,04 (0,74 – 1,453) 0,84	0,96 (0,46 – 2,02) 0,92	0,04 (0,85)	0,09 (0,76)
rs3771810	<i>TACR1</i>	0,76 (0,45 – 1,29) 0,31	0,77 (0,47 – 1,27) 0,31	0,70 (0,06 – 7,81) 0,77	0,36 (0,55)	0,97 (0,32)
rs3771863	<i>TACR1</i>	1,26 (0,76 – 2,10) 0,37	1,24 (0,78 – 1,99) 0,36	1,42 (0,20 – 10,21) 0,73	0,35 (0,55)	0,31 (0,58)
rs4644560	<i>NK2R</i>	1,34 (0,82 – 2,19)	1,16 (0,84 – 1,59)	1,07 (0,61 – 1,86)	0,43 (0,51)	0,18 (0,67)

Postępowanie habilitacyjne – dr n. med. Piotr Nehring

		0,24	0,37	0,82		
rs4662344	<i>ARHGAP15</i>	1,39 (0,87 – 2,22) 0,18	1,45 (0,96 – 2,18) 0,08	3,44 (0,87 – 13,57) 0,06	0,33 (0,56)	0,79 (0,38)
rs67153654	<i>FAM155A</i>	0,95 (0,61 – 1,50) 0,83	0,93 (0,62 – 1,40) 0,73	0,70 (0,17 – 2,84) 0,61	2,22 (0,142)	1,75 (0,19)
rs7848647	<i>TNFSF15</i>	1,03 (0,66 – 1,61) 0,89	1,01 (0,72 – 1,41) 0,95	0,96 (0,46 – 2,02) 0,92	0,19 (0,66)	0,71 (0,40)

χ^2 – test chi-kwadrat; 95% CI – przedział ufności 95%; HWE – równowaga Hardy’ego-Weinberga; OR – iloraz szans

Podobnie, allel T wariantu rs4662344 w genie *ARHGAP15* wykazał korelację w grupie pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do zdrowych osób w modelu kodominującym (OR = 1,45; 95% CI: 0,96 – 2,18; $P < 0,08$) oraz w modelu recesywnym (OR = 3,44; 95% CI: 0,87 – 13,57; $P < 0,06$). Allel T wariantu rs4662344 w genie *ARHGAP15* występował częściej u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego niż w grupie kontrolnej (RAF 0,21 vs 0,16; $P < 0,08$).

W porównaniu do grupy kontrolnej nie wykazano istotnych asocjacji allelicznych ani genetycznych u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego dla pozostałych badanych wariantów: rs1800587 w *IL1A*, rs16944 w *IL1B*, rs2853550 w *IL1B*, rs6434304 w *COL3A1*, rs3771810 w *TACR1*, rs3771863 w *TACR1*, rs4644560 w *NK2R*, rs67153654 w *FAM155A* oraz rs7848647 w *TNFSF15*.

Omawiane badanie dostarcza dowodów na związek między uchyłkowatością jelita grubego a wariantami genetycznymi *COL3A1* (rs3134646) oraz *ARHGAP15* (rs4662344). Wyniki podkreślają złożoność predyspozycji genetycznych w procesie powstawania uchyłków jelita grubego. Analizowane warianty genetyczne znajdują się w regionach niekodujących, dlatego analiza *in silico* ich potencjalnych efektów funkcjonalnych nie daje wyników. Jednakże warianty *COL3A1* (rs6434304, rs3134646) oraz *TACR1* (rs3771810) mogą prowadzić do powstawania transkryptów w regionach regulatorowych, potencjalnie pełniąc rolę enhancerów.

Wyniki badań sugerują, że allel C *COL3A1* (rs3134646) może być związany z uchyłkowatością jelita grubego, ponieważ ten wariant był częściej obecny u pacjentów niż u zdrowych osób z grupy kontrolnej. Wynik ten jest zgodny z wcześniejszymi obserwacjami. Gen *COL3A1* na chromosomie 2 koduje łańcuch alfa 1 kolagenu typu III [2]. Analiza Variant Effect Predictor (VEP) wskazuje, że substytucja G>A w *COL3A1* (rs3134646) może pełnić funkcję wariantu regulatorowego o efekcie wzmacniającym [43]. Wariant ten był już wcześniej łączony z chorobą refluksową przełyku, przepukliną rozworu przełykowego oraz uchyłkowatością jelita grubego [2, 44].

Gen *ARHGAP15* na chromosomie 2 koduje białko Rho GTPazy, które reguluje dynamikę cytoszkieletu, migrację komórek i adhezję komórkową. Nadekspresja *ARHGAP15* powoduje zwiększenie liczby włókien aktynowych oraz skurcz komórek [45]. W prezentowanym badaniu allel T wariantu *ARHGAP15* (rs4662344) był powiązany z uchyłkowatością jelita grubego, co jest zgodne z wynikami innych autorów [16, 42].

W omawianym badaniu uwzględniono wyłącznie pacjentów z lewostronną, niezaawansowaną uchyłkowatością jelita grubego (DICA 1). W konsekwencji jedynie niewielka liczba uczestników (czternastu) miała historię zapalenia uchyłków, co mogło wpłynąć na brak zaobserwowanych asocjacji między badanymi polimorfizmami genów zapalnych (*TNFSF15*, *IL1B*, *FAM155A*) a uchyłkowatością.

Co ciekawe, stłuszczenie wątroby jest częściej wykrywane u osób z ciężkimi postaciami uchyłkowatości jelita grubego, co wykazało badanie Pantic i wsp. [46]. Jest to zgodne z prezentowanymi wynikami dotyczącymi roli metabolizmu kolagenu, szczególnie *COL3A1*, który jest zaangażowany w patogenezę niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (NAFLD) poprzez udział w procesach włóknienia wątroby. Model myszy niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH) z włóknieniem dodatkowo potwierdza te wyniki, wykazując zwiększoną ekspresję *COL3A1*, a także *COL1A1* i *COL1A2*, które korelują bezpośrednio z zawartością hydroksyproliny w wątrobie. Ponadto sugeruje się, że prosta,

niepowikłana choroba uchyłkowa (SUDD) może stanowić podtyp zespołu jelita drażliwego (IBS) u osób z uchyłkami, co wskazuje na wspólny mechanizm patofizjologiczny [47]. Biorąc pod uwagę związek między IBS i NAFLD, możliwe jest, że predyspozycje genetyczne wpływające na IBS, takie jak zmiany w syntezie kolagenu za pośrednictwem *COL3A1*, mogą również odgrywać rolę w rozwoju SUDD [48]. Powiązania między NAFLD, IBS i SUDD podkreślają systemowy wpływ szlaków związanych z kolagenem na te schorzenia [49].

Ponadto jako regulator GTPazy, *ARHGAP15* wykazuje zwiększoną ekspresję w NAFLD/NASH, szczególnie w tłuszczu wewnątrzbrzusznym u pacjentów z otyłością skrajną i różnymi stadiami NAFLD. Regulacja aktywności GTPazy jest istotna dla organizacji cytoszkieletu i sygnalizacji komórkowej, procesów kluczowych dla remodelowania tkanek i stanu zapalnego. Sugeruje to, że *ARHGAP15* może działać synergistycznie ze szlakami związanymi z kolagenem, takimi jak te obejmujące *COL3A1*, w rozwoju NAFLD i uchyłkowatości jelita grubego.

Podsumowując, przedstawione badanie podkreśla związek między wariantami genetycznymi kolagenu oraz *ARHGAP15* a uchyłkowatością jelita grubego. W połączeniu z wcześniejszymi badaniami habilitanta wyniki te wskazują na udział ECM i degradacji białek ECM w powstawaniu uchyłków jelita grubego. Przedstawione wyniki mogą otworzyć nowe kierunki badań nad patologią uchyłkowatości jelita grubego.

4.2.5. Przegląd systematyczny genetycznej predyspozycji do uchyłkowatości

W przeglądzie systematycznym *Genetic determinants of colonic diverticulosis* (A4 w cyklu publikacji) podsumowano dostępne badania dotyczące genetycznych czynników ryzyka uchyłkowatości jelita grubego w badaniach kliniczno-kontrolnych i w badaniach asocjacyjnych (GWAS).

Celem omawianego przeglądu było usystematyzowanie dostępnej wiedzy na temat genetycznych czynników ryzyka występowania uchyłków okrężnicy.

Do przeglądu włączano tylko te prace, które oceniały pacjentów z uchyłkowatością i identyfikowały konkretne czynniki genetyczne. Wykluczono badania dotyczące zapalenia uchyłków oraz choroby uchyłkowej.

Zidentyfikowano 10 badań spełniających kryteria włączenia: 6 dużych badań opartych na strategii GWAS oraz 4 badania przekrojowe. Przegląd podzielono na sekcje omawiające osobno: strategię poszukiwań asocjacyjnych w skali całego genomu, rolę macierzy zewnątrzkomórkowej oraz cytokin prozapalnych.

Metoda sekwencjonowania całogenomowego (WGS) umożliwia identyfikację milionów wariantów sekwencji w genomie człowieka. W erze przed badaniami GWAS, jedynie geny *ARHGAP15*, *FAM155A* i *COLQ* zostały powiązane z uchyłkami okrężnicy oraz zapaleniem uchyłków [16]. Maguire i wsp. w dużym badaniu asocjacyjnym z wykorzystaniem strategii GWAS odkryli 42 potencjalne warianty genetyczne, z których 39 było wcześniej nieznanymi [15]. Geny te są związane z funkcją układu odpornościowego, obrotem macierzy zewnątrzkomórkowej, adhezją komórkową, transportem przez błony oraz motoryką jelit. Badanie sugerowało wspólne tło genetyczne dla choroby uchyłkowej, otyłości i przepuklin. Schafmayer i wsp. zidentyfikowali 12 nowych *loci* związanych z chorobą uchyłkową lub

zapaleniem uchyłków, wskazując na mechanizmy związane z dysfunkcją tkanki łącznej, układu nerwowo-mięśniowego i nabłonka [3].

Badanie z 2024 roku przeprowadzone przez Seo i wsp. na wycinkach z okrężnicy zidentyfikowało 38 genów o zmienionym poziomie ekspresji oraz 17 genów o zmienionym użyciu transkryptów związanych z uchyłkowatością, co sugeruje, że przebudowa tkanek odgrywa kluczową rolę w powstawaniu uchyłków [50]. Powstawanie uchyłków było głównie powiązane z komórkami zrębu i nabłonka okrężnicy, w tym komórkami śródbłonka, miofibroblastami, fibroblastami, komórkami kubkowymi, szczoteczkowymi, enterocytami, neuronami i glejem. Seo i wsp. wyróżnili pięć genów (*CCN3*, *CRISPLD2*, *ENTPD7*, *PHGR1*, *TNFSF13*), które mogą mieć potencjalny wpływ przyczynowy na rozwój uchyłkowatości. Zauważono, że gen *ENTPD7* był nadekspresjonowany u osób z uchyłkowatością. Co więcej, stopień uchyłkowatości był powiązany z podatnością genetyczną na zapalenie uchyłków. Badanie sugeruje, że osoby z większą predyspozycją genetyczną do zapalenia uchyłków mają również większą liczbę uchyłków widocznych w kolonoskopii.

Badanie Choe i wsp. badanie oparte na GWAS w populacji koreańskiej z uchyłkowatością po stronie prawej zidentyfikowało dziewięć nowych *loci* mogących mieć związek z powstawaniem uchyłków [51]. Badanie Choe i wsp. wskazało na warianty w genach *WNT4*, *RHOA* i *OAS1/3*. Gen *WNT4* wiąże się z proliferacją komórek mięśni gładkich naczyń [52], a *RHOA* pośredniczy w szlaku sygnałowym WNT, regulując morfologię komórki, organizację cytoszkieletu i proliferację [53]. Rodzina genów *OAS* aktywuje się pod wpływem interferonu i bierze udział w odpowiedzi przeciwvirusowej i apoptozie [54]. Badanie Choe i wsp. sugeruje, że uchyłkowatość po stronie prawej może być związana z regulacją angiogenezy i procesami zapalnymi [55].

W systematycznym przeglądzie omawiano wyniki badań dotyczące wariantów genetycznych *MMP*, *TIMP*, *COL* i *ARHGAP15* opisywane już w punktach 4.2.2., 4.2.3. i 4.2.4

Zgodnie z wynikami badań GWAS, zidentyfikowano liczne geny, w tym związane z grupami krwi i układem odpornościowym (*ABO*, *HLA-DQA1*, *HLA-H*, *OAS1*, *TNFSF13*, *FADD*), macierzą zewnątrzkomórkową i tkanką łączną (*COL6A1*, *COLQ*, *EFEMP1*, *ELN*, *HAS2*, *TIMP2*), sygnalizacją i komunikacją komórkową (*BMPR1B*, *WNT4*, *RHOA*, *PHGR1*, *PCSK5*), układem nerwowym i neurogenezą (*BDNF*, *CACNB2*, *GPR158*, *SIRT1*, *SCAPER*, *TRPS1*), metabolizmem i transporterami (*SLC25A28*, *SLC35F3*, *RBKS*, *PPP1R14A*, *PPP1R16B*), lipidami i cholesterolem (*LDAH*, *LYPLAL1*, *STARD13*), transkrypcją i regulacją genów (*ZBTB4*, *UBTF*, *TNRC6B*), apoptozą (*FADD*, *PIAS1*), a także geny słabo scharakteryzowane (*C1TNF7*, *ENSG00000224849*, *ENSG00000251283*, *LINC01082*, *DISP2*, *SNX24*, *THEM4*, *UBL4B*, *UNC50*, *WDR70*, *SREK1IP1*). Sugeruje to, że uchyłkowatość jest chorobą wieloczynnikową, podobnie jak łysienie, otyłość, cukrzyca typu 2 czy hipercholesterolemia, i spełnia kryteria choroby cywilizacyjnej.

Wyniki badań GWAS mogą jednak być obarczone błędami wynikającymi z niedoszacowania lub przeszacowania populacji, wynikającymi z systemu raportowania chorób na podstawie kodów ICD-10. W badaniach przekrojowych wykazano jedynie związek między wariantami genów odpowiedzialnych za strukturę ściany jelita, co jest spójne i oczekiwane, podczas gdy wyniki GWAS sugerują wpływ genów niekoniecznie bezpośrednio związanych ze strukturą i funkcją jelita.

Co istotne, genetyka predysponująca do powstawania uchyłków może być odmienna od tej predysponującej do objawowej choroby uchyłkowej lub zapalenia uchyłków. Z tego powodu zamierzano wykluczyć badania, które mogą mylić czynniki ryzyka powstawania uchyłków z tymi, które wpływają na rozwój zapalenia uchyłków – a które współdzielą z innymi chorobami zakaźnymi. Bezobjawowa uchyłkowatość stanowi najczystsza formę anatomiczną, podczas gdy choroba uchyłkowa może naśladować i pokrywać się z objawami zespołu jelita drażliwego, co rodzi pytania o związki przyczynowo-skutkowe.

Endoskopowa weryfikacja i ocena za pomocą dostępnych skal wydaje się niezbędna dla wiarygodnej diagnozy. Poszukiwanie genetycznych przyczyn zapalenia uchyłków i choroby uchyłkowej powinno być prowadzone oddzielnie od badań nad przyczynami powstawania uchyłków jako zmian anatomicznych ściany jelita.

Podsumowując, geny regulujące przebudowę ECM, w tym *TIMP1*, *MMP3* i *MMP9*, zostały powiązane z rozwojem uchyłkowatości. Wariant *COL3A1* (rs3134646), kodujący zmodyfikowany kolagen typu III, może sprzyjać tworzeniu uchyłków. Inne geny, takie jak *ARHGAP15* (rs4662344, rs6736741), wpływają na dynamikę cytoszkieletu, natomiast geny cytokin zapalnych, takie jak *IL1A* i *TNFSF15*, były badane pod kątem ich roli w progresji do zapalenia uchyłków, nie udowodniono ich roli w powstawaniu samych uchyłków. Omawiany przegląd systematyczny podkreśla znaczenie podłoża genetycznego uchyłkowatości, sugerując, że zaburzenia regulacji ECM przyczyniają się do podatności na rozwój choroby.

4.2.6. Ekspresja amin biogennych i receptorów serotoniny

W artykule *Serotonin Metabolism and Serotonin Receptors Expression Are Altered in Colon Diverticulosis* (A5 w cyklu publikacji), podjęto próbę oceny stężenia amin biogennych i ekspresji receptorów somatostatynowych w tej samej populacji pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej osób zdrowych.

Motoryka jelita grubego jest kontrolowana przez mediatory uwalniane przez neurony ruchowe układu enteralnego. Sygnały zarówno z ośrodkowego układu nerwowego, jak i do niego, są przekazywane do przewodu pokarmowego nie tylko drogami adrenergicznymi (współczulnymi lub przywspółczulnymi), ale również szlakami dopaminergicznymi i serotonergicznymi.

Serotonina, czyli 5-hydroksytryptamina (5-HT), to istotna monoamina biorąca udział w utrzymaniu homeostazy jelitowej, pełniąc funkcję neuroprzekaźnika i cząsteczki sygnałowej. Zmiany w układzie serotonergicznym zostały opisane u pacjentów z uchyłkowatością, w tym zwiększona ekspresja receptorów 5-HT₄ w błonie śluzowej [56] oraz zwiększona liczba komórek pozytywnych dla serotoniny [57, 58], podczas gdy obniżoną ekspresję transportera serotoniny (*SERT*) zaobserwowano u pacjentów z zapaleniem uchyłków [59].

Celem badania była ocena stężenia serotoniny i jej metabolitów oraz ekspresji receptorów serotoninowych w błonie śluzowej jelita grubego u pacjentów z uchyłkowatością oraz w grupie kontrolnej osób zdrowych. Ponieważ prawa i lewa część jelita grubego różnią się pod względem pochodzenia embrionalnego, średnicy światła, unerwienia i unaczynienia, oceniano obie części równolegle, aby zweryfikować, czy istnieją różnice w metabolizmie serotoniny i ekspresji receptorów zarówno między stronami ciała, jak i pomiędzy osobami.

Drugorzędowym celem badania było sprawdzenie, czy zmiany strukturalne jelita grubego u pacjentów z uchyłkowatością są związane z aktywacją neurogleju w błonie śluzowej jelita grubego. Badanie zostało zainicjowane pytaniem, czy zmiany w sygnalizacji biogennych amin u pacjentów z uchyłkowatością są pierwotne, czy wtórne względem zmian w strukturze ściany jelita.

U wszystkich pacjentów wykonano biopsję błony śluzowej jelita grubego z jego prawej i lewej części podczas kolonoskopii. Na podstawie wyników kolonoskopii pacjentów podzielono na dwie grupy: uchyłkowatość jelita grubego i osoby zdrowe.

Stężenia noradrenaliny, 3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikolu, dopaminy, kwasu homowanilinowego, serotoniny i kwasu 5-hydroksyindolooctowego (5-HIAA) mierzono za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Ekspresję receptorów ludzkiej 5-hydroksytryptaminy (5-HT_{3A}, 5-HT₄, 5-HT₇), transportera serotoniny (*SERT*, *SLC6A4*) oraz markerów aktywacji neurogleju (*GFAP*, *S100B* i *PLP1*) oceniano metodą PCR. Oznaczenia wykonano w Zakładzie Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Do badania włączono 59 pacjentów; 35 osób z uchyłkowatością jelita grubego oraz 24 osoby zdrowe. U wszystkich pacjentów z uchyłkowatością choroba została zaklasyfikowana endoskopowo jako stopień 1 według klasyfikacji DICA (≤ 3 punkty), a uchyłki były ograniczone do lewej połowy okrężnicy.

W przedstawionym badaniu nie stwierdzono różnic dla wieku i płci pomiędzy grupami (mediana wieku: 69 lat vs 52 lata; $P < 0,455$; mężczyźni/kobiety: 11/17 vs 18/19; $P < 0,309$). W grupie kontrolnej nie zaobserwowano różnic w stężeniach NA, MHPG, DA, 5-HT, HVA i 5-HIAA pomiędzy prawą a lewą częścią błony śluzowej jelita grubego. U pacjentów z uchyłkowatością zaobserwowano wyższe stężenie serotoniny w zajętej lewej części okrężnicy w porównaniu do zdrowej prawej (mediana: 8239 pg/mg vs 6326 pg/ml; $P < 0,01$). Ekspresja *SERT* była niższa w zajętej lewym odcinku w porównaniu do prawego (mediana: 0,88 vs 1,36; $P < 0,01$). Stwierdzono wyższe stężenie serotoniny w błonie śluzowej jelita grubego (mediana: 8239 pg/mg vs 6000 pg/ml; $P < 0,02$) oraz wyższy stosunek kwasu 5-hydroksyindolooctowego do serotoniny (mediana: 0,27 vs 0,47; $P < 0,01$) u pacjentów z uchyłkowatością w lewej części jelita w porównaniu do osób zdrowych.

Podsumowując, przedstawione wyniki wskazują na podwyższone stężenie serotoniny oraz obniżoną ekspresję transportera *SERT* w lewej, zajętej przez uchyłki połowie okrężnicy w porównaniu z jelitem niezajętym przez uchyłki. Dodatkowo, w lewej części jelita zaobserwowano wyższe stężenie serotoniny i wyższy stosunek 5-HIAA do serotoniny u pacjentów z uchyłkowatością w porównaniu do osób zdrowych. Zmianom tym nie towarzyszyła aktywacja neurogleju w błonie śluzowej ani zmiany w ekspresji receptorów serotoninowych. Bazując na wynikach została wysunięta hipoteza, która zakłada, że sygnalizacja serotoninowa może odgrywać rolę w patofizjologii uchyłkowatości jelita grubego, jednak nie jesteśmy w stanie jednoznacznie stwierdzić, czy wzrost stężenia serotoniny w błonie śluzowej jest pierwotny, czy wtórny względem zmian strukturalnych w ścianie esicy. Rzeczywisty charakter serotoniny w segmencie jelita objętym uchyłkowatością wymaga dalszych badań na większych grupach pacjentów.

4.2.7. Podsumowanie opisu i synteza osiągnięcia naukowego oraz propozycja dalszych prac badawczych

Wykazano, że u mężczyzn z uchyłkowatością jelita grubego allel T genu *TIMP1* (rs4898) występował częściej niż u osób zdrowych. Ponadto allel T genu *MMP9* (rs3918242) był znacznie częstszy u osób z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej, a genotyp 5A/5A genu *MMP3* (rs3025058) występował prawie dwukrotnie częściej u pacjentów z uchyłkowatością, podczas gdy genotyp 6A/6A był w tej grupie o połowę rzadszy. Również allel C *COL3A1* (rs3134646) oraz allel T *ARHGAP15* (rs4662344) są częstsze u pacjentów z uchyłkowatością jelita grubego w porównaniu do grupy kontrolnej.

Ponadto w badaniu dotyczącym ekspresji genów receptora serotoniny i stężenia amin biogennych w wycinkach jelita grubego wykazano zwiększone stężenie serotoniny i mniejszą ekspresję genu *SERT* w lewej, zajętej przez uchyłki, połowie okrężnicy w porównaniu z prawą połową zdrową okrężnicy. Dodatkowo, w lewej, zajętej przez uchyłki, części jelita zaobserwowano wyższe stężenie serotoniny i wyższy stosunek 5-HIAA do serotoniny u pacjentów z uchyłkowatością w porównaniu do osób zdrowych.

Omawiane prace podkreślają kluczową rolę zaburzeń ECM, aktywności metaloproteinaz oraz genów strukturalnych w patogenezie uchyłkowatości jelita grubego. Wyniki te dostarczają istotnych dowodów na genetyczne podłoże tej choroby i otwierają nowe możliwości w zakresie diagnostyki i terapii ukierunkowanej. Kolejne badania powinny skupić się na funkcjonalnych skutkach identyfikowanych wariantów genetycznych oraz ich potencjalnych interakcjach z czynnikami środowiskowymi.

W dalszych badaniach nad genetycznymi podstawami uchyłkowatości należy skoncentrować się na innych wariantach genetycznych składników ECM, takich jak kolageny, elastyna, fibronektyna, lamininy, proteoglikany, tenascyny oraz dekoryna. Ponadto warto zbadać inne warianty genetyczne metaloproteinaz macierzy, w tym kolagenazy (*MMP-1*, *MMP-8*, *MMP-13*), żelatynazy (*MMP-2*, *MMP-9*), stromielizyny (*MMP-3*, *MMP-10*), matrylizyny (*MMP-7*, *MMP-26*) oraz metaloproteinazy błonowe (np. *MT1-MMP/MMP-14*), aby w pełni ocenić ich potencjalną rolę w degradacji ECM.

Przy poszukiwaniu rzadkich wariantów genetycznych o możliwych istotnych efektach biologicznych bardziej optymalne może być wykorzystanie metody NGS. Dalsze badania powinny zostać przeprowadzone na większych populacjach, najlepiej z wykorzystaniem NGS dla potwierdzenia przedstawionych przez habilitanta wyników.

Kolejne badania mogą również uwzględniać najnowsze ustalenia dotyczące roli mikrobioty jelitowej w patogenezie uchyłkowatości, sugerujące, że dysbioza może odgrywać kluczową rolę w powstawaniu uchyłków. Ponadto nowe doniesienia naukowe wykazują wpływ wzorców żywieniowych, szczególnie tych bogatych w produkty prebiotyczne, na ryzyko uchyłkowatości. Wiele prebiotyków należy do grupy błonnika pokarmowego, a dieta bogata w błonnik jest często powiązana z mniejszym ryzykiem rozwoju uchyłkowatości. Odpowiednie spożycie błonnika wspomaga regularność wypróżnień, co działa profilaktycznie przeciw zaparciom, będącym jednym z czynników sprzyjających powstawaniu uchyłków.

4.2.8. Prezentacja wyników prac badawczych bezpośrednio związanych z osiągnięciem naukowym na międzynarodowych konferencjach naukowych

Habilitant zaprezentował podczas moderowanej sesji plakatowej na międzynarodowej konferencji naukowej *30th United European Gastroenterology Week*, Wiedeń, Austria, 8-11

października 2022 pracę pt. *Matrix metalloproteinases genetic variants determine risk of colon diverticulosis* (A1 w cyklu prac) za którą otrzymał nagrodę komitetu narodowego konferencji. Streszczenie pracy zostało opublikowane w *United European Gastroenterology Journal*. 2022, Vol. 10(S8): 384 DOI: 10.1002/ueg2.12294 (IF = 5,8).

Streszczenia wyników pracy *Serotonin Metabolism and Serotonin Receptors Expression Are Altered in Colon Diverticulosis* (A5 w cyklu prac) zostały zaprezentowane podczas 28th *United European Gastroenterology Week*, Amsterdam, Holandia, 10-14 października 2020 i opublikowane w *United European Gastroenterology Journal*. 2020, Vol. 8(8S): 548-549 DOI: 10.1177/2050640620927345 (IF = 5,8), a także podczas *Digestive Diseases Week 2020*, Chicago, USA, 2-5 maja 2020 i opublikowane w *Gastroenterology*. 2020; 158 (6): 358-399 (IF = 25,7).

4.2.9. Wykorzystana bibliografia

1. Reichert, M.C. and F. Lammert, *The genetic epidemiology of diverticulosis and diverticular disease: Emerging evidence*. *United European Gastroenterol J*, 2015. **3**(5): p. 409-18.
2. Reichert, M.C., et al., *A Variant of COL3A1 (rs3134646) Is Associated With Risk of Developing Diverticulosis in White Men*. *Dis Colon Rectum*, 2018. **61**(5): p. 604-611.
3. Schafmayer, C., et al., *Genome-wide association analysis of diverticular disease points towards neuromuscular, connective tissue and epithelial pathomechanisms*. *Gut*, 2019. **68**(5): p. 854-865.
4. Reichert, M.C., et al., *Common variation in FAM155A is associated with diverticulitis but not diverticulosis*. *Sci Rep*, 2020. **10**(1): p. 1658.
5. Ghomi Tabatabaee, F.A., et al., *Association of MMP-1, 9, 12 and TIMP-1 gene polymorphisms in Malaysian male hypertensive subjects*. *Biomedical Research*, 2018. **29**(9).
6. Lorente, L., et al., *Association of sepsis-related mortality with early increase of TIMP-1/MMP-9 ratio*. *PLoS One*, 2014. **9**(4): p. e94318.
7. Altadill, A., et al., *Comparative analysis of the expression of metalloproteases and their inhibitors in resected crohn's disease and complicated diverticular disease*. *Inflamm Bowel Dis*, 2012. **18**(1): p. 120-30.
8. Hirano, K., et al., *Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease*. *Eur Respir J*, 2001. **18**(5): p. 748-52.
9. P, O.C. and P. Khantapura, *The role of genetic polymorphisms in the promoters of the matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 genes in head and neck cancer*. *Oral Oncol*, 2006. **42**(3): p. 257-67.
10. Lorente, L., et al., *The 372 T/C genetic polymorphism of TIMP-1 is associated with serum levels of TIMP-1 and survival in patients with severe sepsis*. *Crit Care*, 2013. **17**(3): p. R94.
11. Mikolajczyk-Stecyna, J., et al., *Gene polymorphism -418 G/C of tissue inhibitor of metalloproteinases 2 is associated with abdominal aortic aneurysm*. *J Vasc Surg*, 2015. **61**(5): p. 1114-9.
12. Sharma, K.L., et al., *Higher risk of matrix metalloproteinase (MMP-2, 7, 9) and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP-2) genetic variants to gallbladder cancer*. *Liver Int*, 2012. **32**(8): p. 1278-86.
13. Jiang, J., et al., *A promoter polymorphism of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 gene is associated with severity of thoracic adolescent idiopathic scoliosis*. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2012. **37**(1): p. 41-7.
14. Park, K.S., et al., *Clinical characteristics of TIMP2, MMP2, and MMP9 gene polymorphisms in colorectal cancer*. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011. **26**(2): p. 391-7.
15. Maguire, L.H., et al., *Genome-wide association analyses identify 39 new susceptibility loci for diverticular disease*. *Nat Genet*, 2018. **50**(10): p. 1359-1365.

16. Sigurdsson, S., et al., *Sequence variants in ARHGAP15, COLQ and FAM155A associate with diverticular disease and diverticulitis*. Nat Commun, 2017. **8**: p. 15789.
17. Broad, J.B., et al., *Diverticulosis and nine connective tissue disorders: epidemiological support for an association*. Connect Tissue Res, 2019. **60**(4): p. 389-398.
18. Mastoraki, A., et al., *Evaluation of molecular and genetic predisposing parameters at diverticular disease of the colon*. Int J Colorectal Dis, 2021. **36**(5): p. 903-910.
19. Yaykasli, K.O., et al., *Polymorphisms in the promoters of MMP-2 and TIMP-2 genes in patients with acne vulgaris*. Int J Clin Exp Med, 2013. **6**(10): p. 967-72.
20. Ho, W.M., et al., *Association of MMP-9 Haplotypes and TIMP-1 Polymorphism with Spontaneous Deep Intracerebral Hemorrhage in the Taiwan Population*. PLoS One, 2015. **10**(5): p. e0125397.
21. Ling, L., et al., *MMP-2 and MMP-9 gene polymorphisms act as biological indicators for ulinastatin efficacy in patients with severe acute pancreatitis*. Medicine (Baltimore), 2019. **98**(24): p. e15831.
22. Chaudhary, A.K., et al., *Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases and their inhibitors in potentially malignant and malignant lesions of the head and neck*. J Biomed Sci, 2010. **17**: p. 10.
23. Connelly, T.M., et al., *The TNFSF15 gene single nucleotide polymorphism rs7848647 is associated with surgical diverticulitis*. Ann Surg, 2014. **259**(6): p. 1132-7.
24. Tursi, A., *TNFSF15 Polymorphism and Diverticulitis of the Colon: Another Step Toward a More Tailored Approach in a Complex Disease*. Ann Surg, 2017. **265**(4): p. e33.
25. Nagase, H., R. Visse, and G. Murphy, *Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs*. Cardiovasc Res, 2006. **69**(3): p. 562-73.
26. Meijer, M.J., et al., *Role of matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of metalloproteinase and tumor necrosis factor-alpha single nucleotide gene polymorphisms in inflammatory bowel disease*. World J Gastroenterol, 2007. **13**(21): p. 2960-6.
27. Ries, C., *Cytokine functions of TIMP-1*. Cell Mol Life Sci, 2014. **71**(4): p. 659-72.
28. Mook, O.R., W.M. Frederiks, and C.J. Van Noorden, *The role of gelatinases in colorectal cancer progression and metastasis*. Biochim Biophys Acta, 2004. **1705**(2): p. 69-89.
29. Mimura, T., et al., *Up-regulation of collagen and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase in colonic diverticular disease*. Dis Colon Rectum, 2004. **47**(3): p. 371-8; discussion 378-9.
30. Ram, M., Y. Sherer, and Y. Shoenfeld, *Matrix metalloproteinase-9 and autoimmune diseases*. J Clin Immunol, 2006. **26**(4): p. 299-307.
31. Rosemar, A., et al., *Increased concentration of tissue-degrading matrix metalloproteinases and their inhibitor in complicated diverticular disease*. Scand J Gastroenterol, 2007. **42**(2): p. 215-20.
32. Hvolris, M.H., et al., *Increased serological cancer-associated biomarker levels at large bowel endoscopy and risk of subsequent primary cancer (dagger)*. Scand J Gastroenterol, 2016. **51**(7): p. 860-5.
33. Kim, T.D., et al., *Activity and expression of urokinase-type plasminogen activator and matrix metalloproteinases in human colorectal cancer*. BMC Cancer, 2006. **6**: p. 211.
34. Kapsoritakis, A.N., et al., *Imbalance of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP) - 1 and - 4 serum levels, in patients with inflammatory bowel disease*. BMC Gastroenterol, 2008. **8**: p. 55.
35. Owen, C. and J. Jojas-Quintero, *Matrix metalloproteinases in cystic fibrosis: pathophysiologic and therapeutic perspectives*. Metalloproteinases In Medicine, 2016. **Volume 3**: p. 49-62.
36. Krishnaveni, D., et al., *Heterozygosity of stromelysin-1 (rs3025058) promoter polymorphism is associated with gastric cancer*. Indian J Cancer, 2015. **52**(2): p. 251-4.
37. Touzios, J.G. and E.J. Dozois, *Diverticulosis and acute diverticulitis*. Gastroenterol Clin North Am, 2009. **38**(3): p. 513-25.
38. Talutis, S.D. and F.A.H. Kuhnien, *Pathophysiology and Epidemiology of Diverticular Disease*. Clin Colon Rectal Surg, 2021. **34**(2): p. 81-85.
39. Bode, M.K., et al., *Type I and III collagens in human colon cancer and diverticulosis*. Scand J Gastroenterol, 2000. **35**(7): p. 747-52.

40. Zhang, B., et al., *Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis*. Circulation, 1999. **99**(14): p. 1788-94.
41. Churg, A., et al., *Tumor necrosis factor-alpha drives 70% of cigarette smoke-induced emphysema in the mouse*. Am J Respir Crit Care Med, 2004. **170**(5): p. 492-8.
42. Kline, B.P., et al., *COLQ and ARHGAP15 are Associated with Diverticular Disease and are Expressed in the Colon*. J Surg Res, 2021. **267**: p. 397-403.
43. McLaren, W., et al., *The Ensembl Variant Effect Predictor*. Genome Biol, 2016. **17**(1): p. 122.
44. Asling, B., et al., *Collagen type III alpha I is a gastro-oesophageal reflux disease susceptibility gene and a male risk factor for hiatus hernia*. Gut, 2009. **58**(8): p. 1063-9.
45. Seoh, M.L., et al., *ArhGAP15, a novel human RacGAP protein with GTPase binding property*. FEBS Lett, 2003. **539**(1-3): p. 131-7.
46. Pantic, I., et al., *Colonic Diverticulosis and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Is There a Connection?* Medicina (Kaunas), 2021. **58**(1).
47. Alamo, R.Z. and E.M.M. Quigley, *Irritable bowel syndrome and colonic diverticular disease: overlapping symptoms and overlapping therapeutic approaches*. Curr Opin Gastroenterol, 2019. **35**(1): p. 27-33.
48. Scalera, A., M.N. Di Minno, and G. Tarantino, *What does irritable bowel syndrome share with non-alcoholic fatty liver disease?* World J Gastroenterol, 2013. **19**(33): p. 5402-20.
49. Pellicano, A.J., et al., *Collagen Characterization in a Model of Nonalcoholic Steatohepatitis with Fibrosis; A Call for Development of Targeted Therapeutics*. Molecules, 2021. **26**(11).
50. Seo, J., et al., *Genetic and transcriptomic landscape of colonic diverticulosis*. Gut, 2024. **73**(6): p. 932-940.
51. Choe, E.K., et al., *Genome-wide association study of right-sided colonic diverticulosis in a Korean population*. Sci Rep, 2019. **9**(1): p. 7360.
52. Tsousi, A., et al., *Wnt4/beta-catenin signaling induces VSMC proliferation and is associated with intimal thickening*. Circ Res, 2011. **108**(4): p. 427-36.
53. Tao, W., et al., *Wrch-1, a novel member of the Rho gene family that is regulated by Wnt-1*. Genes Dev, 2001. **15**(14): p. 1796-807.
54. Hu, G., M.E. Mancl, and B.J. Barnes, *Signaling through IFN regulatory factor-5 sensitizes p53-deficient tumors to DNA damage-induced apoptosis and cell death*. Cancer Res, 2005. **65**(16): p. 7403-12.
55. Vavricka, S.R., et al., *Frequency and risk factors for extraintestinal manifestations in the Swiss inflammatory bowel disease cohort*. Am J Gastroenterol, 2011. **106**(1): p. 110-9.
56. Bottner, M., et al., *The enteric serotonergic system is altered in patients with diverticular disease*. Gut, 2013. **62**(12): p. 1753-62.
57. Jeyarajah, S., et al., *A clinicopathological study of serotonin of sigmoid colon mucosa in association with chronic symptoms in uncomplicated diverticulosis*. Int J Colorectal Dis, 2012. **27**(12): p. 1597-605.
58. Banerjee, S., et al., *Increased presence of serotonin-producing cells in colons with diverticular disease may indicate involvement in the pathophysiology of the condition*. Int J Colorectal Dis, 2007. **22**(6): p. 643-9.
59. Costedio, M.M., et al., *Serotonin signaling in diverticular disease*. J Gastrointest Surg, 2008. **12**(8): p. 1439-45.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych będących kluczowymi z punktu widzenia dotychczasowej kariery zawodowej z uwzględnieniem współpracy krajowej i międzynarodowej.

W ramach realizacji cyklu prac przedstawionych we wniosku habilitacyjnym, habilitant był wykonawcą grantu wewnętrznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (1WZ/1/M/GW/N/21/21) pt.: „*Wpływ wariantów wybranych genów na ryzyko uchyłkowatości jelita grubego*”. Grant był wykonywany w ramach współpracy międzyośrodkowej z Collegium Medicum Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, gdzie wykonywano część laboratoryjną projektu w zakresie izolacji materiału genetycznego i genotypowania.

Ponadto habilitant był kierownikiem projektu w ramach grantu wewnętrznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (1WZ/1/M/MB/N/20/20) pt.: „*Ocena neurodegeneracji ośrodkowego układu nerwowego Toxic milk mouse – modelu zwierzęcego choroby Wilsona*”. Projekt był realizowany we współpracy z Akademią Górniczo-Hutniczą w Krakowie, gdzie przeprowadzano część laboratoryjną projektu w zakresie analizę spektrofotometryczną pobranych próbek tkanek myszy. Wyniki projektu zostały opublikowane w czasopiśmie *Molecular Biology Reports* (doi: 10.1007/s11033-021-06192-5), IF = 2,6.

W ramach wcześniejszych aktywności naukowych habilitanta dotyczących genetycznego uwarunkowania zespołu stopy cukrzycowej u pacjentów z cukrzycą typu 1 i typu 2, habilitant realizował dwa granty naukowe we współpracy z Zakładem Genetyki Medycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie odbył szkolenie w zakresie izolacji i genotypowania materiału genetycznego z krwi metodą Real Time PCR w dniach 16 lipca – 2 września 2011 roku. W wyniku stażu w Zakładzie Genetyki Medycznej WUM habilitant własnoręcznie wykonywał izolację materiału genetycznego i genotypowanie do wszystkich prac. Pierwszym projektem był Mini Grant Naukowy Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (1WO/NM1/2010), którego habilitant był kierownikiem i wykonawcą pt. „*Markery genetyczne jako czynniki ryzyka rozwoju zespołu stopy cukrzycowej*”. W wyniku realizacji tego projektu powstała praca naukowa opublikowana w *Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej* (IF = 2,052), której habilitant był pierwszym autorem:

- Nehring P, Mrozikiewicz-Rakowska B, Sobczyk-Kopciół A, Makowski A, Krasnodębski P, Płoski R, Broda G, Karnafel W. *Osteoprotegerin gene rs2073617 and rs3134069 polymorphisms in type 2 diabetes patients and sex-specific rs2073618 polymorphism as a risk factor for diabetic foot*. Pol Arch Med Wewn. 2013;123(4):176-82. doi: 10.20452/pamw.1684. Epub 2013 Jan 8. PMID: 23299915.

Drugim projektem z cyklu prac dotyczących genetycznych czynników ryzyka zespołu stopy cukrzycowej był **grant Narodowego Centrum Nauki** w konkursie Preludium 6 (NCN nr: 2013/11/N/NZ5/00208), pt.: „*Zmienność w obrębie genu osteoprotegeryny jako czynnik ryzyka zespołu stopy cukrzycowej w populacji chorych z cukrzycą*”, którego habilitant był kierownikiem projektu i głównym wykonawcą. Wyniki badania były podstawą do uzyskania przez habilitanta w 2018 roku **tytułu doktora nauk medycznych** i w wyniku tego projektu powstał szereg prac opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych:

- Mrozikiewicz-Rakowska B, Maroszek P, Nehring P, Sobczyk-Kopciół A, Krzyżewska M, Kaszuba AM, Lukawska M, Chojnowska N, Kozka M, Bujalska-

Zadrozny M, Ploski R, Krzymien J, Czupryniak L. *Genetic and environmental predictors of chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes and diabetic foot ulcer: a pilot study*. J Physiol Pharmacol. 2015 Oct;66(5):751-61. PMID: 26579581.

- Mrozikiewicz-Rakowska B, Sobczyk-Kopciół A, Szymański K, **Nehring P**, Szatkowski P, Bartkowiak-Wieczorek J, Bogacz A, Aniszczyk A, Drygas W, Płoski R, Czupryniak L. *Role of the rs2274907 allelic variant of the ITLN1 gene in patients with diabetic foot*. Pol Arch Intern Med. 2017 May 31;127(5):319-327. doi: 10.20452/pamw.4008. Epub 2017 Apr 25. PMID: 28442700.
- Mrozikiewicz-Rakowska B, **Nehring P**, Szymański K, Sobczyk-Kopciół A, Płoski R, Drygas W, Krzymień J, Acharya NA, Czupryniak L, Przybyłkowski A. *Selected RANKL/RANK/OPG system genetic variants in diabetic foot patients*. J Diabetes Metab Disord. 2018 Nov 9;17(2):287-296. doi: 10.1007/s40200-018-0372-4. PMID: 30918864; PMCID: PMC6405386.
- Mrozikiewicz-Rakowska B, Łukawska M, **Nehring P**, Szymański K, Sobczyk-Kopciół A, Krzyżewska M, Maroszek P, Płoski R, Czupryniak L. *Genetic predictors associated with diabetic retinopathy in patients with diabetic foot*. Pol Arch Intern Med. 2018 Jan 31;128(1):35-42. doi: 10.20452/pamw.4144. Epub 2017 Nov 7. PMID: 29115286.

Habilitant zaprezentował podczas moderowanej sesji plakatowej na międzynarodowej konferencji naukowej *54th EASD Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes*, Berlin, Niemcy, 1-5 października 2018 pracę pt. *Selected osteoprotegerin gene variants as diabetic foot risk factors* będącą efektem prac powstałych dzięki **grantowi Narodowego Centrum Nauki** w konkursie Preludium 6. Streszczenie pracy zostało opublikowane w *Diabetologia*. 2018; 61(Suppl 1 Vol. 61, pp. S163-S163): DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4693-0> (IF = 6,023).

Habilitant jest autorem 48 publikacji naukowych, w tym 25 oryginalnych, 22 poglądowych i jednego opisu przypadku. Habilitant w swoim dorobku ma opublikowanych 37 abstraktów prac oryginalnych, z czego 6 w zagranicznych renomowanych czasopismach naukowych jako materiały z międzynarodowych konferencji zagranicznych. Habilitant wygłosił 25 prelekcji w postaci wykładów i posterów na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych.

W celu poszukiwania nowych tematów i możliwości badań wielośrodkowych habilitant odbył staż naukowy w *Infection Innovation Technology Laboratory (iiTECH)* *Infection Innovation Consortium (iiCON)*, *Liverpool School of Tropical Medicine (LSTM)*, Liverpool, Wielka Brytania (27-31 stycznia 2025 roku). W rezultacie odbytego stażu, habilitant uczestniczy w projekcie grantowym COST Action European Cooperation in Science & Technology jako wnioskodawca wtórny (secondary proposer) (ID wniosku 28399) – konsorcjum składa się z polskich i międzynarodowych instytucji m.in.: *Liverpool School Of Tropical Medicine (UK)*, *Liverpool John Moores University (UK)*, *Politechnika Warszawska*, *FOUNDATION FOR RESEARCH AND TECHNOLOGY HELLAS (Grecja)*, *Sano Centrum Zindywidualizowanej Medycyny Obliczeniowej Międzynarodowa Fundacja Badawcza*, *The University Of Liverpool (UK)*, *Siemens Srl (Rumunia)*, *Erasmus MC [Department of Public Health] (Holandia)*.

Habilitant wykazał się również aktywnością w składaniu grantów w **Narodowym Centrum Nauki**, które nie uzyskały finansowania: w konkursie SONATA-16 (ID 498552; rola w projekcie: kierownik), OPUS-27 (ID 617162; rola w projekcie: kierownik).

Habilitant wykonał 20 recenzji prac oryginalnych dla recenzowanych czasopism naukowych, mi.in. w Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej.

6. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

6.1.1. Przygotowanie przedmiotów w ramach Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Habilitant był współtwórcą kilkakrotnych aktualizacji sylabusu do przedmiotu „Gastroenterologia” dla studentów kierunku lekarskiego 6 roku Wydziału Lekarskiego i „*Gastroenterology*” dla studentów medycyny IV i V roku *English Division* w języku angielskim i studentów VI roku kierunku lekarskiego Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2014-2015, 2015-2016 i 2016-2017. Habilitant był współtwórcą sylabusu i osobą odpowiedzialną za dydaktykę zajęć fakultatywnych dla studentów Wydziału Lekarskiego pt. „Gastroenterologia – zagadnienia rozszerzone”. Habilitant był współtwórcą sylabusu przedmiotowego dla studentów medycyny II roku 4-letniego kursu *English Division* do przedmiotu „*Introduction to Internal Medicine*” w latach 2015-2016 i 2016-2017.

6.1.2. Prowadzenie ćwiczeń i wykładów

W toku wieloletniej współpracy z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym habilitant prowadził zajęcia z przedmiotów dla studentów Wydział Lekarskiego III, V i VI roku i *English Division* II, IV roku (kurs 4-letni) i V roku (kurs 6-letni) z następujących przedmiotów:

- Propedeutyka chorób wewnętrznych
- Gastroenterologia
- Gastroenterology (zajęcia w języku angielskim)
- Introduction to Internal Medicine
- Onkologia kliniczna
- Interna praktyczna

Zajęcia kliniczne obejmowały ćwiczenia przy łóżku chorego, seminaria i wykłady.

W ramach zajęć z przedmiotu „Propedeutyka chorób wewnętrznych” dla studentów III roku kierunku lekarskiego I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego habilitant prowadził następujące seminaria:

- Wywiady u chorych z chorobami narządu ruchu

- Wywiady u chorych z chorobami układu krwiotwórczego
- Wywiady u chorych z niedoczynnością gruczołów dokrewnych
- Badanie obwodowego układu naczyniowego
- Ból i obrzęk stawów
- Badanie serca
- Badanie kliniczne w gastroenterologii
- Choroby układu ruchy
- Warsztaty EKG

W ramach przedmiotu „Propedeutika chorób wewnętrznych” habilitant prowadził wykład dla studentów III roku Wydziału Lekarskiego z pt.:

- Badanie podmiotowe i przedmiotowe z zakresu przewodu pokarmowego

W ramach przedmiotu „Gastroenterologia” dla studentów VI roku kierunku lekarskiego Wydziału Lekarskiego habilitant prowadził następujące seminaria

- Choroba wrzodowa i choroba refluksowa przełyku
- Nieswoiste choroby zapalne jelit

Tematy seminariów prowadzonych w ramach zajęć fakultatywnych dla studentów Wydziału Lekarskiego:

- Dyspepsja czynnościowa
- Zespół jelita drażliwego
- Choroby czynnościowe przewodu pokarmowego
- Rak przełyku
- Rak trzustki

W ramach przedmiotu „Gastroenterology” w języku angielskim dla studentów medycyny *English Division* Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego habilitant prowadził następujące seminaria:

- Colorectal Cancer
- Diarrhoea & Malnutrition
- Nutrition
- Functional Bowel Disorders and Irritable Bowel Syndrome

- Fluid & Electrolyte Disturbances
- GI Bleeding
- Diseases of GI tract that causes microcytic anemia
- Patient with chronic diarrhoea
- Misleading face of rare diseases (IgG4-SC case)

Habilitant prowadził wykłady dla studentów medycyny V roku *English Division* w języku angielskim o tematyce:

- Inflammatory Bowel Diseases
- Gastritis & Peptic Ulcer Disease

W ramach prowadzonych zajęć z przedmiotu „Onkologia kliniczna” habilitant prowadził następujące seminaria

- Nowotwory przewodu pokarmowego – diagnostyka

W ramach prowadzonych zajęć z przedmiotu „Interna praktyczna” habilitant prowadził następujące seminaria:

- Praktyczne zastosowanie EBM
- Opis przypadków klinicznych

Poza wymienioną działalnością dydaktyczną studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego habilitant prowadził wykłady w ramach podyplomowego kursu specjalizacyjnego z analityki medycznej koordynowane przez Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego z zakresu diagnostyki choroby wrzodowej żołądka i szkolenia wewnętrzne w Klinice Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych Centralnego Szpitala Klinicznego pt.:

- Manifestacje skórne chorób przewodu pokarmowego
- Uchyłkowatość i choroba uchyłkowa jelita grubego

6.1.3. Promotor pomocniczy prac doktorskich

Habilitant jest promotorem pomocniczym pracy pt. „*The role of biochemical markers in determining the risk for developing intestinal graft versus host disease after bone marrow allotransplantation and macroscopic, microscopic, and biochemical evaluation of the gastrointestinal tract*” realizowanej przez lek. Katarzynę Wiejak w ramach Szkoły Doktorskiej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

6.2. Osiągnięcia organizacyjne

Habilitant był wieloletnim przewodniczącym Gastroenterologicznego Koła Naukowego przy Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Chorób Przemiany Materii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2009/2010, 2010/2011, członek koła w latach 2008-2012.

Habilitant był przewodniczącym Komitetu Organizacyjnego Gastroenterologicznej Konferencji Naukowej pt. *Poza horyzont gastroenterologii* organizowanej przez SKN przy Klinice Gastroenterologii Centrum Onkologii - Instytut w Warszawie i Gastroenterologiczne Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Gastroenterologii i Chorób Przemiany Materii WUM w sali im. T. Koszarowskiego CO-I dnia 16 maja 2010 r.

Habilitant współorganizował II Seminarium Szkoleniowo-Warsztatowego SKN Gastroenterologicznego przy Klinice Gastroenterologii Centrum Onkologii - Instytut w Warszawie pt. *Gastroenterologia - od teorii do praktyki*, w sali im. T. Koszarowskiego CO-I dnia 23 maja 2009 r. oraz Interdyscyplinarną Konferencję Studencką pt. *Choroby Psychosomatyczne – Ciało czy Umysł?* Warszawa, dn. 3.03.2012 r.

Habilitant był członkiem Studenckiego Towarzystwa Naukowego w latach 2008 – 2012 i jest obecnie członkiem Polskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego.

7. Dodatkowe informacje dotyczące kariery zawodowej habilitanta - ukończone kursy, szkolenia, warsztaty, staże

7.1. Nagrody i wyróżnienia

Habilitanta został nagrodzony wyróżnieniem i medalem *Laur Medyczny im. Doktora Wacława Mayzla* Polskiej Akademii Nauk Uchwałą Wydziału Nauk Medycznych z 7 listopada 2013 za pracę pt. „*Osteoprotegerin gene rs2073617, rs2073618 and rs3134069 polymorphisms in patients with type 2 diabetes. Polymorphism rs2073618 – a new sex-specific genetic marker as a diabetic foot risk factor*”. Praca była opublikowana w *Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej* (doi: 10.20452/pamw.1684) IF = 2,052.

Ponadto habilitant został uhonorowany *Nagrodą indywidualną I^o JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego* w 2011 roku za całokształt działalności naukowej oraz *Złotą Odznaką Studenckiego Towarzystwa Naukowego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*, przyznaną wybitnym absolwentom WUM decyzją Zarządu STN z dn. 3 listopada 2012 roku za całokształt wybitnych osiągnięć naukowych odniesionych w okresie studiów.

Ponadto habilitant otrzymał 14 nagród i wyróżnień na konferencjach krajowych i międzynarodowych za prezentowane prace oryginalne.

7.2. Członkostwo rad redakcyjnych

Od 2016 roku habilitant jest członkiem rady redakcyjnej czasopisma *Gastroenterology, Hepatology and Endoscopy* ISSN: 2398-3116.

7.3. Dyplomy umiejętności

Habilitant uzyskał dyplom umiejętności kolonoskopii oraz dyplom umiejętności panendoskopii nadane przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dn. 2.03.2022 roku.

7.4. Najistotniejsze kursy i szkolenia

- Szkolenie w zakresie izolacji materiału genetycznego z krwi pełnej i genotypowania metodą Real Time PCR w Zakładzie Genetyki Medycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w dniach 16 lipca – 2 września 2011 roku.
- Warsztaty *Train The Trainers* organizowane przez World Gastroenterology Organization, Warszawa, w dniach 3-6 sierpnia 2022 roku.
- Szkolenie Olympus Continuum Medical Expert Training pt. *Endoskopowa mukozektomia (EMR) rozległych płaskowyniosłych zmian (LST) w jelicie grubym*. Warszawa, 12-13 kwietnia 2024 roku.
- Kurs doskonalący współfinansowany przez Unię Europejską pt. *Guzy wątroby – aktualne wytyczne w diagnostyce klinicznej i patomorfologicznej*. Certyfikat nr 210/2019/HIST. Warszawa, 20 października 2019 roku.
- Kurs doskonalący współfinansowany przez Unię Europejską pt. *Guzy trzustki – aktualne wytyczne w diagnostyce klinicznej i patomorfologicznej*. Certyfikat nr 186/2019/HIST. Warszawa, 19 października 2019 roku.
- Kurs pt. *Diagnostyka USG narządów jamy brzusznej*. Roztoczańska Szkoła Ultrasonografii. Zamość, 4-8 marca 2019 roku.

.....

(podpis wnioskodawcy)