Dr Edyta Paradowska

Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk

w Łodzi

AUTOREFERAT

Informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy z instytucjami naukowymi

i działalności popularyzującej naukę

Łódź, 2015

Spis treści

1. Imię i nazwisko..... 3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe..... 3
3. Zatrudnienie w jednostkach naukowych..... 3
4. Osiągnięcie naukowe..... 4
5. Pozostałe osiągnięcia naukowo – badawcze..... 20
6. Działalność dydaktyczna..... 31
7. Współpraca w instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi 32
8. Działalność w zakresie popularyzacji nauki..... 33

1. Imię i nazwisko

Edyta Paradowska

W celu jednoznacznej identyfikacji wyjaśniam, że do 1995 r. występowałam w publikacjach jako Edyta Broniarek (nazwisko panieńskie).

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

1991 Dyplom magistra biologii ze specjalizacją mikrobiologii
Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych
Praca magisterska pt. *Łożysko ludzkie jako układ do badań wirusologicznych.*
Praca wykonana w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Laboratorium Wirusologii, Wrocław
Promotor: Prof. dr hab. Zofia Błach-Olszewska
Dyplom Nr 8417 ***(załącznik 2)***
Wyróżnienie

1995 Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, specjalność immunologia
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Laboratorium Wirusologii, Wrocław
Rozprawa doktorska pt. *Przeciwwirusowa aktywność hodowli narządowych ludzkiego łożyska z ciąży donoszonej; rola IFN, TNF i IL-6.*
Promotor: Prof. dr hab. Zofia Błach-Olszewska
Recenzenci: Prof. dr hab. n. med. Mirosław Kańtoch, Prof. dr hab. n. med. Izabella Zgórniak-Nowosielska
Dyplom Nr 0206 ***(załącznik 2)***

1996, Nagroda Prezesa Rady Ministrów za rozprawę doktorską ***(załącznik 2)***

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Wrocław
Laboratorium Wirusologii Zakładu Immunologii Chorób Zakaźnych
20.01.1992 – 31.01.1995 Asystent
01.02.1995 – 14.11.1995 Starszy Asystent

Centrum Mikrobiologii i Wirusologii Polskiej Akademii Nauk, Łódź
Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej (wcześniej: Pracownia Wirusologii)
15.11.1995 – 31.12.2003 Adiunkt

Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk (wcześniej: Centrum Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, 01.01.2004 – 01.04.2008)
Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej
01.01.2004 – 28.02.2011 Adiunkt
Od 01.03.2011 Asystent naukowo-badawczy

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

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Jednotematyczny cykl 5 publikacji obejmujący zagadnienie pt. ***Identyfikacja markerów molekularnych wirusa cytomegalii związanych z występowaniem zakażeń objawowych u niemowląt.***

b) Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. **Paradowska E.***, Studzińska M., Nowakowska D., Wilczyński J., Rycel M., Suski P., Gaj Z., Kaczmarek B., Zbróg Z., Leśnikowski Z.J.
   Distribution of UL144, US28 and UL55 genotypes in Polish newborns with congenital cytomegalovirus infections.
   European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2012, 31 (7): 1335-1345. doi: 10.1007/s10096-011-1447-z.
   (Impact factor – 3,024 MNiSW – 25)

2. **Paradowska E.***, Jabłońska A., Studzińska M., Suski P., Kasztelewicz B., Zawilińska B., Wiśniewska-Ligier M., Dzierżanowska-Fangrat K., Woźniakowska-Gęsicka T., Czech-Kowalska J., Lipka B., Kornacka M., Pawlik D., Tomasik T., Kosz-Vnenchak M., Leśnikowski Z.J.
   Distribution of cytomegalovirus gN variants and associated clinical sequelae in infants.
   Journal of Clinical Virology, 2013, 58 (1): 271-275. doi: 10.1016/j.jcv.2013.05.024.
   (Impact factor – 3,466 MNiSW – 30)

3. **Paradowska E.***, Jabłońska A., Studzińska M., Kasztelewicz B., Zawilińska B., Wiśniewska-Ligier M., Dzierżanowska-Fangrat K., Woźniakowska-Gęsicka T., Kosz-Vnenchak M., Leśnikowski Z.J.
   Cytomegalovirus glycoprotein H genotype distribution and the relationship with hearing loss in children.
   Journal of Medical Virology, 2014, 86 (8): 1421-1427. doi: 10.1002/jmv.23906.
   (Impact factor – 2,217 MNiSW – 25)

4. **Paradowska E.***, Jabłońska A., Płóciennikowska A., Studzińska M., Suski P., Wiśniewska-Ligier M., Dzierżanowska-Fangrat K., Kasztelewicz B., Woźniakowska-Gęsicka T., Leśnikowski Z.J.
   Cytomegalovirus alpha-chemokine genotypes are associated with clinical manifestations in children with congenital or postnatal infections.
   Virology, 2014, 462-463: 207-217. doi: 10.1016/j.virol.2014.06.020.
   (Impact factor – 3,278 MNiSW – 25)

5. **Paradowska E.***, Studzińska M., Suski P., Kasztelewicz B., Wiśniewska-Ligier M., Zawilińska B., Gaj Z., Nowakowska D.
   Human cytomegalovirus UL55, UL144, and US28 genotype distribution in infants infected congenitally or postnatally.
   Journal of Medical Virology, 2015 (epub 29.04.2015, w druku). doi: 10.1002/jmv.24222.
   (Impact factor – 2,217 MNiSW – 25)

   ** Autor korespondencyjny*

Łączna wartość współczynnika impact factor (JCR) prac składających się na osiągnięcie naukowe wynosi **14,202**. Liczba punktów MNiSW prac składających się na osiągnięcie wynosi **130**.

Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia habilitantki i współautorów publikacji określające indywidualny wkład każdego autora w powstanie prac zamieszczono w ***załączniku 5***.

W publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego zawarto wyniki uzyskane podczas realizacji dwóch projektów badawczych:

1. Mechanizmu Finansowego EOG Nr PL0270 pt. ***Zakażenia prenatalne i perinatalne ludzkim wirusem cytomegalii*** *(Prenatal and perinatal human cytomegalovirus infections)*, 2008 – 2011
2. POIG.01.01.02-10-107/09 pt. ***Badania mechanizmów molekularnych na styku organizm ludzki – patogen – czynniki środowiska (InterMolMed)*** *(Studies of the molecular mechanisms at the interface the human organism - the pathogen - environmental factors)*, 2010 – 2014.

W projekcie pierwszym pełniłam funkcję kierownika projektu – koordynatora, natomiast w drugim projekcie byłam wykonawcą zadania.

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

Osiągnięcie naukowe z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki stanowi cykl 5 powiązanych tematycznie publikacji oryginalnych dotyczących ***identyfikacji markerów genotypowych ludzkiego wirusa cytomegalii związanych z występowaniem zakażeń objawowych u niemowląt***. Prace zostały opublikowane w latach 2012-2015, ale są wynikiem wieloletnich badań prowadzonych we współpracy z polskimi ośrodkami naukowymi i klinicznymi.

Wstęp i znaczenie problemu

Ludzki wirus cytomegalii (HCMV), znany także jako herpeswirus typu 5 (HHV-5), należy do rodziny *Herpesviridae* i podrodziny *Betaherpesvirinae*. HCMV wyróżnia się najdłuższym genomem wśród ludzkich herpeswirusów i ludzkich wirusów posiadających genom w postaci dwuniciowego DNA. Jego genom stanowi linearna cząsteczka dsDNA o długości 200-236 kpz. Zakażenia HCMV występują powszechnie na całym świecie i dotyczą 50-70% populacji w krajach rozwijających się i powyżej 70% populacji krajów rozwiniętych.[1] Badania wykonane wśród polskich kobiet ciężarnych wykazały, że seroprewalencja HCMV IgG wynosi 62-76%.[2,3] Zakażenie HCMV może mieć charakter pierwotny lub nawrotowy związany z reaktywacją szczepu endogennego lub zakażeniem nowym szczepem wirusa. Właściwości strukturalne i biologiczne wirusa umożliwiają mu przechodzenie w okres latencji i reaktywacji. Zakażenia HCMV u większości osób są bezobjawowe, ale mogą stanowić ważną przyczynę powikłań u dzieci zakażonych wewnątrzmacicznie i osób z wtórnymi niedoborami odporności, w tym biorców przeszczepu narządu lub szpiku, pacjentów poddawanych immunosupresji, chemioterapii oraz u osób zakażonych innymi patogenami oportunistycznymi.

HCMV jest najczęstszą przyczyną zakażeń wewnątrzmacicznych i najczęstszym czynnikiem zakaźnym chorób ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i niedosłuchu u dzieci. Wrodzone zakażenie HCMV wykrywane jest u 0.6-0.7% żywo urodzonych noworodków w krajach rozwiniętych (1

na 100-150 noworodków) oraz u 1-5% dzieci w krajach rozwijających się.[1,4-8] Oprócz drogi przezłożyskowej, dzieci we wczesnym okresie życia mogą zostać zakażone wirusem także podczas porodu w kanale rodnym zakażonej matki (zakażenie okołoporodowe) oraz po porodzie podczas karmienia mlekiem matki lub przetoczeniu krwi zakażonej wirusem. Częstość transmisji wertykalnej w pierwotnym zakażeniu HCMV u kobiet ciężarnych wynosi średnio 32.3% i jest wyższa od częstości zakażenia wtórnego występującego w około 1.4% przypadków.[6] Zakażenie pierwotne HCMV przebiega zwykle bezobjawowo u kobiety ciężarnej, ale może prowadzić do zaburzeń rozwoju łożyska i poważnych uszkodzeń płodu. Noworodki kobiet z reaktywacją zakażenia HCMV w czasie ciąży lub noworodki zakażone nowym szczepem wirusa rozwijają się zazwyczaj prawidłowo i rzadko występują u nich objawy cytomegalii wrodzonej.[4] Około 10-15% noworodków zakażonych wewnątrzmacicznie wykazuje objawy wielonarządowe bezpośrednio po urodzeniu, a u pozostałych dzieci objawy cytomegalii wrodzonej mogą wystąpić w kolejnych miesiącach lub latach życia. Do najczęstszych powikłań zakażenia HCMV u noworodków należą: powiększenie wątroby i śledziony, żółtaczka, małopłytkowość, niedokrwistość hemolityczna, wybroczyny, niedosłuch czuciowo-nerwowy (SNHL, ang. *sensorineural hearing loss*), zapalenie naczyniówki i siatkówki, zapalenie wątroby i płuc, opóźnienie umysłowe, zaburzenia motoryczne, małomózgowie, zwapnienia okołokomorowe, wylewy wewnątrzczaszkowe i wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu płodu (IUGR, ang. *intrauterine growth restriction*).[9-11] Wśród dzieci z bezobjawowym zakażeniem HCMV bezpośrednio po porodzie, trwałe objawy cytomegalii wrodzonej rozwijają się u 10-20% dzieci. Obejmują one najczęściej następujące objawy: niedosłuch, niedorozwój umysłowy, porażenie mózgowe, zapalenie naczyniówki i siatkówki.[10,12] Ryzyko wystąpienia SNHL jest jednak wyższe u noworodków z zakażeniem objawowym rozpoznanym po urodzeniu (30-65%) niż u dzieci z bezobjawowym zakażeniem wrodzonym (7-15%).[13] Pomimo faktu, iż większość dzieci z zakażeniem wrodzonym nie wykazuje objawów, trudno jest przewidzieć, u których z nich wystąpią późne objawy cytomegalii. Brak skutecznej szczepionki i terapii przeciwwirusowej w czasie ciąży powoduje, że działania profilaktyczne i leczenie zakażeń wrodzonych HCMV stanowią poważny problem ochrony zdrowia.

Przypuszcza się, że na przebieg zakażeń HCMV mają wpływ czynniki warunkowane przez gospodarza i wirusa.[14,15] Wyniki badań dotyczących wpływu zmienności genetycznej wirusa na występowanie cytomegalii wrodzonej są kontrowersyjne.[14-21] Zmienność genetyczna HCMV występuje w określonych miejscach genomu, ale najbardziej polimorficznym regionem jest UL/b', który ulega delecji w niektórych szczepach wirusa. Ten fragment genomu jest cechą szczepów dzikich HCMV i koduje białka, które są istotne dla wirulencji *in vivo* ale nie są niezbędne dla replikacji wirusa w hodowli fibroblastów.[22,23] W regionie tym kodowane są interesujące białka takie jak chemokiny vCXCL i gpUL144, członek rodziny receptorów TNF. Genom HCMV koduje ponad 50 glikoprotein (g), w tym 12 należących do osłonki wirionu. Polimorfizm genów kodujących glikoproteiny osłonki wirusa był przedmiotem wielu badań ze względu na fakt, iż białka te są niezbędne do wiązania receptora, penetracji i fuzji komórek. Glikoproteiny uczestniczące we wnikaniu wirusa do komórki gospodarza, gB, gM/gN (kompleks gC-II) i gH/gL/gO (kompleks gC-III) lub pentamer gH/gL/pUL128-pUL131, stanowią główny element odpowiedzi swoistych przeciwciał neutralizacyjnych. Kompleks gH/gL wiąże się bezpośrednio z receptorami komórki gospodarza przed przyłączeniem gB, która nie jest wymagana do wiązania ligandów i pełni rolę białka fuzyjnego.[24] Kompleks gC-III wiąże się z receptorami niezbędnymi do wnikania wirusa do komórki oraz zakażania fibroblastów, komórek nabłonka i śródbłonka.[25,26] Kompleks pentameru jest niezbędny w procesie infekcji i transmisji międzykomórkowej wirusa w komórkach nabłonka, śródbłonka i w komórkach dendrytycznych.[27-29]

HCMV wykształcił mechanizmy molekularne, które umożliwiają mu unikanie rozpoznania przez układ odpornościowy gospodarza oraz pozwalają na jego przeżycie i transmisję.

Zastosowanie wysokoprzepustowego sekwencjonowania genomu wirusowego do badania szczepów izolowanych od niemowląt z zakażeniem wrodzonym wykazało wysoką zmienność HCMV u danego gospodarza i potwierdziło, że genom wirusa występuje jako mieszanina różnych wariantów genetycznych.[30] Przyczyna zmienności genetycznej szczepów HCMV nie została dotychczas jednoznacznie określona. Wysokie poziomy replikacji podczas zakażenia pierwotnego mogą generować mutacje u danego gospodarza. Mutacje *de novo* powstają także np. podczas selekcji genotypu dominującego oraz podczas transmisji wirusa pomiędzy poszczególnymi narządami i układami organizmu. Zakażenia mieszane stanowią nawet jedną czwartą do połowy zakażeń HCMV u noworodków z zakażeniem wrodzonym.[31,32] Analizy DNA wirusa izolowanego z moczu dzieci z zakażeniem wrodzonym nie wykazały zmian sekwencji wirusa w okresie nawet kilku lat, jednakże obserwuje się obecność odmiennych genotypów wirusa w różnych częściach ciała gospodarza.[32,33] Możliwe, że nawet kilka mutacji w kluczowych rejonach genomu HCMV może mieć wpływ na wirulencję i tropizm tkankowy szczepów klinicznych HCMV, a w efekcie na patogenezę zakażenia. Pomimo obserwacji, iż pewne genotypy wirusa wykrywane są częściej w przypadkach cytomegalii wrodzonej, to biologiczne znaczenie polimorfizmów nie zostało dotychczas potwierdzone w badaniach *in vitro*.

Celem badań przedstawionych w jednotematycznym cyklu prac była identyfikacja wirusowych markerów molekularnych związanych z występowaniem objawowych zakażeń prenatalnych i postnatalnych HCMV.

Badania oparte były na hipotezie, że polimorfizmy niektórych genów HCMV mogą stanowić czynniki ryzyka objawowych zakażeń wrodzonych. Do analiz wytypowano siedem genów ludzkiego cytomegalowirusa kodujące czynniki ważne dla rozwoju zakażenia, w tym glikoproteiny osłonki HCMV gB (*UL55*), gN (*UL73*) i gH (*UL75*), homologi α-chemokin vCXCL-1 (*UL146*) i vCXCL-2 (*UL147*) oraz homologi receptorów dla TNFα (*UL144*) i ß-chemokin (*US28*). Glikoproteiny osłonki HCMV wykazują zmienność sekwencji aminokwasowej (aa) głównie w części zewnątrzkomórkowej (N-końcowej) i pełnią ważne funkcje biologiczne wirusa. Polimorfizm genu *UL146* kodującego vCXCL-1 może potencjalnie wpływać na właściwości chemotaktyczne α-chemokiny wirusa względem komórek gospodarza, natomiast polimorfizm genu *UL144* kodującego receptor-like dla TNFα prawdopodobnie wpływa na szlak przekazywania sygnału i odpowiedź przeciwwirusową. Cele prowadzonych badań obejmowały: 1) określenie rozkładu genotypów HCMV w zakażeniach wrodzonych i postnatalnych u niemowląt, 2) badanie zmienności w genach kodujących glikoproteiny osłonki, chemokiny i receptory oraz poziomu wirurii/wiremii w przypadkach zakażeń objawowych HCMV u niemowląt, oraz 3) określenie wpływu wariantów genetycznych HCMV na występowanie określonych objawów cytomegalii.

Do większości badań wyselekcjonowano grupę 135 niemowląt, u których wykryto obecność DNA HCMV, w tym 42 noworodki z zakażeniem wrodzonym. Zakażenie wrodzone było potwierdzone przez wykrycie obecności DNA HCMV w próbkach krwi pobranych podczas pierwszych dwóch tygodni życia dziecka lub w ciągu 2-3 tygodni życia w próbkach moczu. Pozostałe przypadki stanowiły niemowlęta z zakażeniem postnatalnym lub z niepotwierdzonym zakażeniem wrodzonym, u których wykryto obecność DNA HCMV we krwi i/lub moczu po 3 tygodniu życia. Ta grupa niemowląt mogła zawierać przypadki niepotwierdzonych zakażeń wrodzonych, gdyż wskazywały na to objawy kliniczne charakterystyczne dla zakażeń wrodzonych HCMV. Średni wiek badanych dzieci wynosił około 10 dni

dla noworodków i 3.7 miesięcy dla niemowląt z zakażeniem nabytym postnatalnie lub z niepotwierdzonym zakażeniem wrodzonym. Wszystkie dzieci miały wykonane badania kliniczne i laboratoryjne, w tym testy serologiczne na obecność swoistych przeciwciał anty-HCMV w ośrodkach klinicznych. Zakażone niemowlęta były klasyfikowane jako pacjenci z zakażeniem objawowym lub bezobjawowym na podstawie diagnozy co najmniej jednej nieprawidłowości: objawu klinicznego (np. powiększenie wątroby i śledziony, wybroczyny, żółtaczka, zapalenie płuc, IUGR, inne), zmian w neuroobrazowaniu (np. zwapnienia czaszkowe, poszerzenie komór bocznych mózgu, inne), deficytów czuciowo-ruchowych lub wyników badań laboratoryjnych (np. małopłytkowość, niedokrwistość hemolityczna, podwyższony poziom transaminaz). Ze względu na przyjęty sposób selekcji pacjentów, zakażenie objawowe stwierdzono u 83% noworodków i 91% niemowląt, u których wykryto obecność DNA HCMV. Próbki krwi obwodowej, moczu i/lub płynu mózgowo-rdzeniowego od niemowląt zostały pobrane w latach 2008-2011 w ośrodkach klinicznych w Łodzi, Warszawie i Krakowie. DNA wyizolowane z krwi obwodowej 55 osób dorosłych zakażonych HCMV było zarchiwizowane w latach 2006-2008. Badanie zostało zatwierdzone przez właściwe Komisje Etyki (Komisja Etyki Badań Naukowych Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki, 16 maja 2007 i 2 lutego 2010; Komisja Bioetyczna przy Instytucie Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka 90/KBE/2007, 27 czerwca 2007; Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Jagiellońskiego KBET/36/B/2008, 8 maja 2008; Komisja Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi RNN/120/09/KE-KE/396/11, 21 kwietnia 2009). Od pacjentów i rodziców dzieci, które uczestniczyły w badaniu otrzymano pisemną zgodę na udział w badaniach.

Analizom genotypowania poddano trzy szczepy laboratoryjne HCMV, Towne, AD169 i Davis, oraz izolaty typu dzikiego od badanych pacjentów. Wybrane startery amplifikowały znane hiperzmienne regiony genomu HCMV. Genotypowanie HCMV wykonywane było metodą analizy sekwencyjnej produktów PCR (vCXCLs, gB, gpUL144, pUS28) lub metodą PCR-RFLP (gN, gH). Produkty PCR były sekwencjonowane przy użyciu systemu MiSeq i analizowane przy wykorzystaniu narzędzi bioinformatycznych Chromas i BLAST. Długości fragmentów restrykcyjnych PCR-RFLP różnicowano z użyciem automatycznej elektroforezy kapilarnej. Ilość kopii DNA HCMV w materiałach klinicznych była oznaczana metodą PCR w czasie rzeczywistym z sondami typu TaqMan wykrywającą gen *UL55* wirusa.[34] Otrzymane wyniki dostarczyły informacji o zmienności genetycznej wybranych regionów genomu HCMV, częstości występowania szczepów klinicznych wirusa o określonych genotypach w badanej populacji polskich niemowląt oraz zależności między obecnością niektórych genotypów a występowaniem specyficznych objawów.

W **pracach 1 – 5**, które stanowią osiągnięcie naukowe przedstawiono wyniki badań siedmiu genów HCMV. Wyniki **pracy 1** zostały omówione łącznie z wynikami **pracy 5** ze względu na ocenę tych samych genów.

UL73 HCMV. Genotypy gN HCMV i występowanie objawów klinicznych u niemowląt

Distribution of cytomegalovirus gN variants and associated clinical sequelae in infants. Journal of Clinical Virology, 2013, 58 (1): 271-275 (**Praca 2**)

Glikoproteina N, glikozylowane białko osłonki wirusa jest glikoproteiną typu I, która jest składnikiem kompleksu gM/gN (gC-II). gN jest kodowana przez *UL73* ORF HCMV, który jest wysoce polimorficznym genem w domenie N-końcowej (pierwsze 87 aa), podczas gdy domeny transmembranowa i C-końcowa są konserwatywne w izolatach klinicznych HCMV.[15,19] Region polimorficzny *UL73* zawiera zarówno mutacje punktowe ciche, jak i substytucje niesynonimiczne. Zmienność sekwencji aminokwasowych między różnymi genotypami gN wynosi nawet 50% i jest

zlokalizowana w regionie powierzchniowym białka. Dotychczas wykryto cztery główne genotypy gN1-gN4, dwa warianty gN3 i cztery warianty gN4.[19,35] Genotyp gN wpływa na aktywność przeciwciał neutralizujących, których głównym celem jest gC-II, co w konsekwencji może chronić gospodarza przed zakażeniem innym szczepem wirusa.[36,37] Ekspresja gN następuje w późnej fazie cyklu replikacyjnego wirusa w cytoplazmie i na błonach zakażonych komórek. Glikoproteina ta jest zaangażowana w przyłączanie wirusa do komórki gospodarza i jego rozprzestrzenianie.[36] Pignatelli i współpr. zaobserwowali, że gN4 może być istotnym markerem wirulencji szczepów wrodzonych HCMV.[15]

Celem badań było określenie rozkładu genotypów gN u niemowląt oraz związku między genotypem gN, mianem wirusa i objawami cytomegalii.

Większość rozpoznanych objawów cytomegalii występowało częściej lub wyłącznie u dzieci z zakażeniem wrodzonym HCMV, włączając wysypkę, IUGR, zwapnienia czaszkowe, torbiele i poszerzenie komór bocznych mózgu, małogłowie, małopłytkowość, wady wzroku, powiększenie wątroby ($p<0.001$), SNHL (jednostronny $p=0.004$, dwustronny $p=0.012$) i powiększenie śledziony ($p=0.005$). Zastosowana metoda genotypowania izolatów HCMV umożliwiała wykrywanie materiału genetycznego pochodzącego od siedmiu różnych genotypów gN wirusa. Wykazano, że w badanej populacji polskich niemowląt najbardziej rozpowszechnione są warianty genetyczne HCMV gN4b (40%), gN3b (37%) i gN4c (32%). Nie stwierdzono istotnych różnic w rozkładzie genotypów u dzieci z zakażeniem wrodzonym lub nabytym postnatalnie. Zakażenia mieszane HCMV wykryto u 38% noworodków z zakażeniem wrodzonym oraz u 46% niemowląt i dorosłych z zakażeniem nabytym postnatalnie. Zakażenia wertykalne jednym szczepem wirusa wykryto u 62% noworodków; pozostałe noworodki miały zakażenie mieszane dwoma (36%) lub trzema szczepami wirusa o różnych genotypach gN. U wszystkich dzieci zakażonych szczepami HCMV o genotypie gN2 lub gN4b rozpoznano objawy cytomegalii. Genotyp gN4 w przypadkach zakażenia wrodzonego związany był z 4-krotnym wzrostem ryzyka wystąpienia zaburzeń neurologicznych ($p=0.042$), takich jak drgawki, hipotonia, słaby odruch ssania, i wykryty został u 83% dzieci z tymi dysfunkcjami ($p=0.045$). Genotyp gN4b wykrywany był częściej u niemowląt z zapaleniem płuc ($p=0.028$). Co więcej, rzadko wykrywany HCMV gN2 występował częściej u dzieci z wrodzoną wadą serca i małopłytkowością (odpowiednio $p=0.039$ i $p=0.048$). Zakażenie innym genotypem, gN3b, związane było z obniżonym ryzykiem rozwoju IUGR ($p=0.012$) i zapalenia płuc ($p=0.030$) u niemowląt. Noworodki zakażone HCMV gN1 miały natomiast niższe ryzyko wystąpienia niedokrwistości.

Otrzymane wyniki wskazują, że wśród szczepów HCMV istnieją bardziej wirulentne jak gN4 i gN2 oraz szczepy mniej patogenne o charakterystyce genotypowej gN3 i gN1. Pignatelli i współpracownicy zaobserwowali wcześniej, że warianty gN4 występują u niemowląt z zakażeniem objawowym, przejawiającym się głównie zmianami stwierdzonymi w neuroobrazowaniu, natomiast gN1 i gN3 są mniej wirulentnymi szczepami wirusa[15]. Nasze wyniki są zgodne z tymi obserwacjami. Wykazały ponadto po raz pierwszy, że genotyp gN4 może być związany z dysfunkcjami układu nerwowego u noworodków a genotyp gN4b z zapaleniem płuc u niemowląt. Dodatkowo stwierdzono, że gN2 HCMV jest ważnym markerem zakażeń objawowych u dzieci.

Wnioski:

- Rozkład genotypów gN HCMV jest podobny u niemowląt z zakażeniem wrodzonym i zakażeniem postnatalnym oraz u osób dorosłych
- Nie stwierdzono zależności między genotypem gN HCMV a transmisją wertykalną

- Zakażenia mieszane HCMV mogą być przyczyną zakażeń prenatalnych HCMV
- Genotyp gN HCMV może być jednym z markerów wirusologicznych cytomegalii wrodzonej; zakażenie szczepem HCMV o genotypach gN2 lub gN4 może wskazywać na możliwość wystąpienia poważnych objawów u dzieci, podczas gdy genotypy gN3b i gN1 są charakterystyczne dla mniej patogennych szczepów wirusa

Badania dotyczące genotypowania gN i gH (następna część) zrealizowano we współpracy następujących ośrodków: Instytutu Biologii Medycznej PAN, Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej, Łódź; Instytutu Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka, Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Warszawa; *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Wirusologii, Katedra Mikrobiologii, Kraków; oraz Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki, III Klinika Pediatrii, Łódź. Materiały i dane kliniczne otrzymano także dzięki uprzejmości: Kliniki Neonatologii, Katedry Ginekologii i Położnictwa; Kliniki Chorób Dzieci, Katedry Pediatrii, Polsko - Amerykańskiego Instytutu Pediatrii (*Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie); Kliniki Neonatologii, Patologii i Intensywnej Terapii Noworodka oraz Kliniki Niemowlęcej (Instytut Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie) oraz Kliniki Neonatologii i Intensywnej Terapii Noworodka Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

UL75 HCMV. Rozkład genotypów gH HCMV i ich związek z niedosłuchem u niemowląt

Cytomegalovirus glycoprotein H genotype distribution and the relationship with hearing loss in children. Journal of Medical Virology, 2014, 86 (8): 1421-1427 (**Praca 3**)

Gen *UL75* koduje białko błonowe gH, będące składnikiem kompleksu gC-III i pentameru H/gL/pUL128-pUL131. Zmienność aminokwasowa gH jest niska (4.6%) i ograniczona głównie do pierwszych 37 aa N-końca, które zawierają sekwencję sygnałową. W pozostałej części cząsteczki rozproszone są pojedyncze podstawienia aminokwasowe.[38,39] Na podstawie analizy sekwencji gH w izolatach HCMV wyróżnia się dwa główne warianty genotypowe białka: gH1 i gH2.[39] gH jest niezbędnym czynnikiem wirulencji HCMV i oddziałuje bezpośrednio z receptorem Toll-podobnym typu 2 (TLR2) i TLR1, indukując w zakażonej komórce aktywację czynnika jądrowego kappa B (NFκB) oraz uwalnianie cytokin prozapalnych.[40] Obecność przeciwciał neutralizujących białka pentameru gH/gL/pUL128-pUL131 jest związana z obniżonym ryzykiem transmisji wertykalnej HCMV.[41] Składnik gH indukuje powstanie przeciwciał neutralizujących HCMV i ułatwia wnikanie wirusa do komórki gospodarza.[38,42] Geny *UL128-UL131* mogą ulegać mutacji podczas namnażania HCMV w hodowli komórek, co prawdopodobnie wpływa na różnice w tropizmie izolatów klinicznych i szczepów laboratoryjnych. Dodatkowo, kompleks pUL128-pUL131 silnie aktywuje układ odpornościowy do odpowiedzi przeciwciał neutralizujących w warunkach *in vivo*. Aktywność neutralizująca tych przeciwciał jest około tysiąc razy silniejsza w warunkach infekcji komórek nabłonka i śródbłonka w porównaniu z przeciwciałami skierowanymi przeciwko gB.[41]

Celem badań było określenie częstości występowania genotypów gH1 i gH2 HCMV w populacji polskiej oraz zależności między genotypem i mianem wirusa. Celem nadrzędnym badań była identyfikacja czynników predykcyjnych rozwoju zakażeń objawowych HCMV u dzieci.

Do genotypowania gH zastosowano metodę PCR-RFLP, a warianty genomowe gH1/gH2 identyfikowano na podstawie różnic długości powstałych amplikonów. Określono rozkład genotypów gH, który jest podobny u dzieci z zakażeniem prenatalnym lub postnatalnym HCMV oraz u zakażonych osób dorosłych. Genotyp gH2 HCMV wykrywany był częściej niż gH1 w badanej populacji, średnio u 60% noworodków z zakażeniem wrodzonym, 67% niemowląt z zakażeniem

postnatalnym lub niepotwierdzonym zakażeniem wrodzonym i u 75% osób dorosłych. Zakażenia mieszane szczepami HCMV o genotypach gH1 i gH2 wykryto u około jednej czwartej badanych osób włączając 14% noworodków zakażonych wewnątrzmacicznie. Nie zaobserwowano przy tym dominacji jednego z wariantów genotypowych wirusa w danym typie materiału klinicznego.

Wśród dzieci uczestniczących w badaniu niedosłuch rozpoznano u 43% dzieci z zakażeniem wrodzonym i u 11% niemowląt z zakażeniem postnatalnym lub niepotwierdzonym zakażeniem wrodzonym. Nie wykazano związku między polimorfizmem *UL75* a występowaniem objawów cytomegalii wrodzonej bezpośrednio po urodzeniu. Analiza statystyczna wyników wykazała jednak, że u niemowląt z jedno- lub dwustronną utratą słuchu częściej występuje zakażenie HCMV w wariancie genotypowym gH1 (odpowiednio p=0.038 i p=0.045). Wykrycie genotypu gH2 HCMV u dzieci związane było z co najmniej 3-krotnie niższym ryzykiem niedosłuchu w modelu prostym *'unadjusted'* i modelu *'adjusted'*, skorygowanym względem liczby kopii DNA HCMV (odpowiednio p=0.010 i p=0.003). U dzieci ze zdiagnozowanym niedosłuchem stężenie DNA HCMV w moczu było wyższe w porównaniu do poziomu wirurii u dzieci, u których nie wystąpiły omawiane wady. Wariant genotypowy wirusa nie miał jednak wpływu na miano wirusa we krwi i w moczu.

Wnioski

- Oba genotypy gH1 i gH2 HCMV mogą być przyczyną objawowych zakażeń wrodzonych
- W okresie prenatalnym występują zakażenia mieszane gH HCMV
- Genotyp gH HCMV nie jest czynnikiem ryzyka rozwoju objawów zakażenia wrodzonego obserwowanych bezpośrednio po porodzie
- Dwa czynniki, wysokie stężenie DNA HCMV w moczu i genotyp gH1 wirusa, mogą stanowić wirusowe markery ryzyka rozwoju niedosłuchu u niemowląt; dzieci zakażone szczepem wirusa o genotypie gH2 mają mniejsze ryzyko wystąpienia niedosłuchu niż te zakażone gH1 HCMV

Uzyskane wyniki są pierwszą obserwacją wskazującą na możliwy związek niedosłuchu wywołanego HCMV i zakażenia dzieci wirulentnym szczepem wirusa o genotypie gH1. Przypuszcza się, że zmienność sekwencji aminokwasowych gH w różnych szczepach wpływa na strukturę antygenową cząsteczki i odpowiedź przeciwciał swoistych dla danego szczepu wirusa. Polimorficzna domena N-końcowa glikoproteiny H jest zlokalizowana na zewnętrznej powierzchni wirionów i znajduje się pod wpływem presji selekcyjnej układu immunologicznego gospodarza. Główna domena antygenowa gH jest zlokalizowana właśnie na N-końcu między 34 a 43 aa. Szczepy HCMV o genotypie gH2 różnią się od wariantu gH1 delecją proliny w pozycji 36 (Pro36→del) i substytucją lizyny na histydynę w pozycji 37 (Lys37→His). Mutacje występujące w tym ważnym regionie genomu powodują zmiany nie tylko w strukturze antygenowej gH, ale również w skuteczności działania swoistych przeciwciał anty-HCMV podczas naturalnej infekcji[42]. W związku z tym zakażony wcześniej gospodarz może zostać ponownie zakażony szczepem heterologicznym. Ekspozycja na nowy genotyp HCMV powodowała zakażenie wrodzone nawet u seropozytywnych kobiet ciężarnych.[44]

UL146-UL147 HCMV. Genotypy vCXC HCMV są związane z występowaniem niektórych objawów cytomegalii u niemowląt

Cytomegalovirus alpha-chemokine genotypes are associated with clinical manifestations in children with congenital or postnatal infections. Virology, 2014, 462-463C: 207-217 (**Praca 4**)

Wirus cytomegalii rozwinął mechanizmy, które umożliwiają mu rozprzestrzenianie się w organizmie gospodarza i unikanie odpowiedzi układu odpornościowego. Genom HCMV zawiera m.in.

gen *UL146* kodujący *bona fide* chemokinę vCXCL-1, homolog *UL147* kodujący chemokinę vCXCL-2[45], homolog *UL128* kodujący chemokinę CC[46], oraz inne receptory dla chemokin. Geny *UL146* i *UL147* znajdują się w rejonie zmiennym UL/b' genomu wśród 19 ORF *UL133-UL151* ulegających delecji w często pasażowanych szczepach laboratoryjnych wirusa Towne i AD169.[47,48] *UL146* HCMV koduje vCXCL-1, chemokinę o działaniu podobnym do IL-8, która jest wydzielana podczas późnej fazy zakażenia.[45] Glikoproteina ta działa jak selektywny agonista dla CXCR1 i CXCR2,[49] natomiast działanie vCXCL-2 nie zostało dotychczas określone.[45] Oba geny, *UL146* i *UL147*, wykazują wysoki stopień zmienności w izolatach klinicznych a *UL146* charakteryzuje się największą zmiennością międzyszczepową wśród wszystkich genów HCMV.[23,44,50-52]

Celem badań było określenie częstości występowania genotypów vCXCL u niemowląt na podstawie analizy sekwencyjnej wysoce polimorficznych genów HCMV *UL146* i *UL147* oraz określenie zależności miedzy genotypem a poziomem replikacji wirusa i występowaniem objawów cytomegalii.

Badaniem objęto grupę ponad 120 niemowląt z zakażeniem objawowym HCMV, wśród których jedną czwartą stanowiły noworodki z zakażeniem wrodzonym. Wszystkie niemowlęta badane w kierunku genotypowania vCXCL miały zakażenie objawowe HCMV. Produkty genów *UL146* i *UL147* zostały wykryte u wszystkich badanych noworodków z zakażeniem wrodzonym oraz u około 63% niemowląt. Badania sekwencji wykazały wysoki stopień zmienności w obszarze obu genów, przy czym w genie *UL146* mutacje występowały w całym genie, natomiast w *UL147* zlokalizowane były głównie w regionie sekwencji sygnałowej białka. Analizy sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych wykazały, że współczynnik zmienności sekwencji genu *UL146* dla różnych izolatów wynosił od 0.3% do 58% (średnia 31%) na poziomie DNA i od 0.8% do 75% (średnia 42%) na poziomie aminokwasów. Ogólna zmienność genu *UL147* była niższa (średnia 8%, zakres 0-14% na poziomie aa). Zaobserwowano zgodność między wariantami genetycznymi *UL146* i *UL147* w około 80% badanych próbek ($\kappa=0.794$; $p<0.001$).

U noworodków z zakażeniem wrodzonym wykryto obecność różnych genotypów vCXCL HCMV (m.in. G1, G7, G5). Genotyp G1 HCMV stanowił najczęstszą przyczynę zakażeń wrodzonych (31% przypadków). Obecność genotypu G1 u badanych niemowląt była związana z 3-krotnie wyższym ryzykiem występowania zmian w centralnym układzie nerwowym ($p=0.036$ i $p=0.027$ w modelu *unadjusted* i *adjusted*) i 4-krotnie wyższym ryzykiem powiększenia wątroby (odpowiednio $p=0.015$ i $p=0.010$). U dzieci z zakażeniem postnatalnym, jak również w kontrolnej grupie osób dorosłych zakażonych HCMV, wykrywano głównie genotypy G7 (34% przypadków u niemowląt vs. 64% u osób dorosłych) i G5 HCMV (odpowiednio 20% vs. 43%). Stwierdzono, że ryzyko rozwoju zapalenia płuc u badanych niemowląt wzrasta 3-krotnie w przypadku zakażenia genotypem G7 HCMV, natomiast ryzyko wystąpienia IUGR i wybroczyn zwiększa się w przypadku infekcji szczepem HCMV o genotypie G12. Genotyp G5 wykrywany był częściej u dzieci, u których stwierdzano niski poziom wirurii w porównaniu do osób zakażonych szczepami wirusa o odmiennych genotypach ($p=0.001$), podczas gdy wysoki poziom wirurii był związany z obecnością genotypu G9 HCMV ($p<0.05$). Zakażenia mieszane różnymi szczepami HCMV wykryto tylko u 7% niemowląt i 11% badanych osób dorosłych. Nie można jednak wykluczyć, że w materiałach były obecne dodatkowe warianty genetyczne wirusa, których wykrycie było niemożliwe przy użyciu zastosowanej metody genotypowania. Sekwencjonowanie produktów PCR umożliwia analizę tylko jednego z licznych szczepów wirusa, które mogą być potencjalnie obecne w badanej próbce. Ponieważ testy mogą wykryć tylko takie mutanty wirusa, które stanowią co najmniej 20-25% całej populacji wirusa, wyniki genotypowania zależą od początkowej liczby kopii DNA wirusa.

Główne wnioski:

- Geny *UL146* i *UL147* HCMV wykazują wysoki stopień zmienności
- Zgodność między wariantami genetycznymi *UL146* i *UL147* wynosi około 80%
- Określono rozkład genotypów vCXCL-1 i vCXCL-2 u niemowląt zakażonych HCMV
- Wszystkie genotypy vCXCL HCMV mogą powodować zakażenia wrodzone
- Wykazano związek między genotypem vCXCL wirusa i poziomem wirurii
- Występowanie niektórych genotypów vCXCL jest prawdopodobnie związane z objawami zakażenia HCMV u niemowląt

Motyw konserwatywny kwas glutaminowy-leucyna-arginina (ELR)CXC, który jest obecny u 13 genotypów vCXCL-1 jest prawdopodobnie niezbędny dla aktywności chemokiny, wiązania receptora i jego aktywacji. Analiza sekwencji vCXCL-1 wykazała, że genotypy G1 i G8 zawierają motyw ELRCRC, genotyp G2 – motyw ELRCKC, natomiast genotypy G7, G9, G10, oraz G12-G14 - motyw ELRCPC. Szczepy wirusa o genotypach G5 lub G6 zawierają CXC, ale utraciły motyw ELR; zawierają one w efekcie motyw NGRCXC, który może oddziaływać na limfocyty T i B. Przypuszcza się, że modyfikacja motywu ELR na NGR (E-N, L-G) powoduje zmianę funkcji chemokiny. Możliwe, że zmienność w tym rejonie *UL146* i obecność motywu NGR w szczepach wirusa o genotypie G5 odpowiada za ograniczoną replikację wirusa w moczu dzieci.

Przeprowadzone badania wykazały po raz pierwszy, że niektóre genotypy vCXCL wydają się być związane z określonymi objawami zakażenia HCMV u niemowląt. Jednakże nie wiadomo dotychczas, czy genotypy vCXCL różnią się właściwościami biologicznymi. Badania funkcjonalne mające na celu określenie aktywności różnych wariantów vCXCL HCMV są kontynuowane.

Badanie prowadzono we współpracy z następującymi ośrodkami klinicznymi i naukowymi: Instytut Biologii Medycznej PAN, Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej, Łódź; Instytut Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka, Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Warszawa; Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, III Klinika Pediatrii, Łódź.

Częstość występowania genotypów *UL144, US28* i *UL55* HCMV u niemowląt z zakażeniem wrodzonym lub postnatalnym

Distribution of UL144, US28 and UL55 genotypes in Polish newborns with congenital cytomegalovirus infections. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2012, 31 (7): 1335-1345 **(Praca 1)**

Human cytomegalovirus UL55, UL144, and US28 genotype distribution in infants infected congenitally or postnatally. Journal of Medical Virology, 2015 (w druku, doi: 10.1002/jmv.24222) **(Praca 5)***

**Wyniki badanych 25 noworodków z wrodzonym zakażeniem HCMV opublikowane wcześniej w Pracy 1 zostały włączone do niniejszych badań.*

Celem podjętych prac było zbadanie 1) czy określone genotypy wirusa są związane z przypadkami objawowych zakażeń HCMV u niemowląt i 2) związku pomiędzy genotypem a mianem wirusa. Badano zmienność w genie *UL55* HCMV kodującym gB, genie *UL144* kodującym receptor dla TNFα i *US28* kodującym receptor dla ß-chemokiny. Geny te zostały wybrane ze względu na ich potencjalne znaczenie w tropizmie komórkowym i tkankowym wirusa oraz wirulencji. Glikoproteina B jest głównym składnikiem osłonki HCMV i pełni ważną rolę w adsorpcji wirusa do komórki, fuzji i w procesie penetracji. Jest również niezbędna do replikacji wirusa w fibroblastach. Na podstawie

sekwencji nukleotydowych kodujących zmienny region genu *UL55*, wytypowano cztery główne warianty genotypowe gB1-4 oraz rzadziej występujące warianty gB5-7. Genotypy gB wykazują specyfikę geograficzną i żaden z nich nie występuje specyficznie w cytomegalii wrodzonej.[16,18,53,54]

Gen *UL144*, zlokalizowany w regionie UL/b', koduje homolog mediatora wejścia dla herpeswirusów (HVEM, ang. *herpes simplex virus entry mediator*), który należy do rodziny receptorów dla TNF (TNFRSF, ang. *TNF receptor superfamily*).[55] Ta interesująca glikoproteina utraciła domenę CRD3 bogatą w cysteinę i nie wiąże się z żadnym znanym ligandem dla TNF.[55] Dotychczas zaobserwowano, że tylko atenuator limfocytów T i B (BTLA) wiąże się do białka pUL144, co może hamować proliferację limfocytów, naśladując tym samym działanie hamujące HVEM.[56] pUL144 może także aktywować czynniki transkrypcyjne tj. NFκB i białko TRAF6, co prowadzi do ekspresji chemokiny CCL22, chemoatraktantu dla komórek T i Th2.[57] Sekwencje nukleotydowe genu *UL144* przyporządkowano do pięciu grup głównych: A, B, C, AB i AC.[58]

US28 ORF koduje receptor dla ß-chemokin, który wiąże chemokiny pozakomórkowe, moduluje odpowiedź immunologiczną gospodarza[59,60] oraz warunkuje międzykomórkowe rozprzestrzenianie się wirusa.[61] Pomimo, iż obie sekwencje końcowe *US28* charakteryzuje znaczy stopień zmienności, to polimorfizm domeny N-końcowej służy do wyróżniania czterech głównych genotypów US28 HCMV. Przypuszcza się, że różnice w sekwencjach izolatów klinicznych mogą mieć wpływ na migrację leukocytów do różnych tkanek i narządów.[62]

Materiał do badań stanowiły izolaty krwi i /lub moczu otrzymane od 60 noworodków z zakażeniem wrodzonym i 90 niemowląt z zakażeniem postnatalnym HCMV lub zakażeniem nieokreślonym. Należy zaznaczyć, że 25 przypadków zakażeń wrodzonych HCMV u noworodków zostało włączonych do obu opisywanych prac. Pierwsze badanie wykonane u kobiet ciężarnych i ich dzieci wykazało, że krew noworodków w dniu narodzin zawierała około 2,5-krotnie wyższe miano wirusa w porównaniu z poziomem wiremii u matek. Obecność DNA HCMV we krwi była wykryta u 56% kobiet oraz u wszystkich wyselekcjonowanych noworodków. Prawie wszystkie noworodki i osoby dorosłe były zakażone szczepami HCMV o genotypie gB2. Genotypy gpUL144 B1 lub pUS28 A2 w badanych przypadkach zakażeń wertykalnych pojawiały się częściej niż u osób dorosłych poddanych immunosupresji. Nie stwierdzono korelacji między genotypami w zakresie *UL55, UL144* i *US28* HCMV a przebiegiem klinicznym (**Praca 1**). W kolejnych latach zebrano większą grupę noworodków z zakażeniem wrodzonym; dodatkowo, dołączono do badań grupę niemowląt z zakażeniem postnatalnym HCMV lub nierozpoznanym zakażeniem wrodzonym. Wyniki badań przeprowadzonych na większej grupie dzieci przedstawiono w **Pracy 5**. Otrzymane wyniki wykazały, że rozkład genotypów gB i pUS28 jest podobny w grupie dzieci z zakażeniem nabytym drogą wertykalną i postnatalnie. Większość noworodków była zakażona wewnątrzmacicznie szczepami HCMV o genotypach gB2 (75%), gpUL144 B (62%) i pUS28 A2 (55%). Analiza sekwencji w rejonie trzech polimorficznych *loci* wykazała, że około 22% niemowląt było zakażonych dwoma lub trzema szczepami HCMV wykrytymi w różnego typu materiałach. W rozkładzie gB zaobserwowano zróżnicowanie geograficzne, przy czym wariant gB2 był prewalentny wśród noworodków i niemowląt Polski Centralnej podczas, gdy genotypy gB1 i gB2 wykrywano z podobną częstością w Małopolsce. Genotypy pUS28 A1 i A2 występowały zarówno u noworodków z zakażeniem objawowym, jak i bezobjawowym. Genotyp gpUL144 B1 był najczęstszą przyczyną zakażeń wodzonych HCMV (p=0.018), podczas gdy warianty B4 i A1 były prewalentne u niemowląt z zakażeniem nabytym postnatalnie lub z nierozpoznanym zakażeniem wrodzonym. Wariant gpUL144 B1 był wykryty u około 70% dzieci z zakażeniem bezobjawowym (p=0.008). Zakażenie szczepem HCMV o wariancie B1

zmniejszało 5-krotnie ryzyko wystąpienia objawów zakażenia wrodzonego (p=0.006). Warianty gpUL144 A i C były wykrywane głównie u niemowląt z zakażeniem objawowym, ale nie stwierdzono istotnej korelacji między tymi czynnikami. Nie stwierdzono także zależności między określonym genotypem wirusa a poziomem jego replikacji w danym materiale.

Pomimo znacznej zmienności obserwowanej w każdym z badanych genów, nie stwierdzono korelacji pomiędzy wariantami gB, gpUL144 i pUS28. Rola gpUL144 w patogenezie infekcji wrodzonych nie jest znana. Gen *UL144* wykazuje dużą zmienność w ektodomenie CRD1 i białku sygnałowym,[58] co może przyczyniać się do zmiany reaktywności przeciwciał specyficznych względem UL144. Jednakże oddziaływanie pomiędzy gpUL144 i BTLA wydaje się być podobne w przypadku wszystkich genotypów wirusa.[56]

Wnioski:

- Polimorfizmy genów *UL55, UL144* i *US28* nie są związane z przebiegiem zakażenia HCMV u niemowląt
- Różne genotypy UL144 HCMV mogą być przenoszone wertykalnie od matki do płodu
- Obecność genotypu UL144 B1 może stanowić wirusowy marker zakażeń bezobjawowych

Badania wykonano w ramach współpracy następujących ośrodków: Instytutu Biologii Medycznej PAN, Pracownia Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej, Łódź; Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Klinika Medycyny Matczyno-Płodowe i Ginekologii, Łódź; Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki, Klinika Medycyny Matczyno-Płodowe i Ginekologii, III Klinika Pediatrii, Łódź; Instytutu Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka, Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Warszawa; *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Wirusologii, Katedra Mikrobiologii, Kraków.

Miano wirusa jako czynnik ryzyka zakażeń prenatalnych i perinatalnych HCMV (Prace 1-5)

Wszystkie prace przedstawione jako osiągnięcie naukowe opisują także związek pomiędzy mianem HCMV w materiałach klinicznych i objawowym zakażeniem HCMV u niemowląt lub zakażeniem wrodzonym. Otrzymane wyniki różnią się nieznacznie w publikacjach ze względu na liczebność i skład badanych grup osobniczych. Ponadto, w poszczególnych pracach zawarto wyniki dotyczące one zależności między wariantami genetycznymi HCMV a mianem wirusa.

Wysokie miano wirusa i jego replikacja w zakażonych narządach mogą pełnić ważną rolę w patogenezie cytomegalii wrodzonej. Wysokie miano HCMV w płynie owodniowym jest znanym czynnikiem prognostycznym wewnątrzmacicznych zakażeń objawowych u dzieci.[63] Zaobserwowano, że niemowlęta z objawowym zakażeniem HCMV charakteryzują się wyższym poziomem wiremii i wirurii w porównaniu z dziećmi z zakażeniem bezobjawowym. Wysoki poziom wirurii obserwowano u dzieci z małopłytkowością (p=0.028), niedokrwistością (p=0.021), wybroczynami (p=0.004), powiększeniem wątroby (p=0.034), SNHL (p=0.030), torbielami mózgu (p=0.013) i zapaleniem wątroby (p=0.021). Dodatkowo, stężenia DNA HCMV w moczu były wyższe u dzieci z zakażeniem wrodzonym w porównaniu do dzieci zakażonych postnatalnie. Niższe poziomy wiremii wykryto w obu badanych grupach dzieci w porównaniu do poziomu wirurii, ale ograniczona dostępność materiałów nie pozwoliła na wykonanie pełnych analiz wiremii.

Miano HCMV związane było z ryzykiem utraty słuchu u niemowląt z zakażeniem wrodzonym. Dzieci z SNHL wydalają wirusa z moczem przez okres > 4 lat, co sugeruje, że ten objaw jest związany z aktywną replikacją wirusa i wysokim mianem wirusa w przypadku dzieci z zakażeniem wrodzonym.[64]

Ross i współpr. zaobserwowali, że niskie miano wirusa (<3 500 kopii/ml) wiązało się z mniejszym ryzykiem utraty słuchu u dzieci z bezobjawowym zakażeniem wrodzonym.[65] Wysokie miano i długotrwała replikacja wirusa w zakażonym narządzie mogą prowadzić do uszkodzenia nie regenerujących się komórek słuchowych w uchu wewnętrznym i spiralnych neuronów zwojowych, co prawdopodobnie odgrywa ważną rolę w patogenezie utraty słuchu związanej z zakażeniem wrodzonym HCMV.[66]

Reasumując:

1. Oznaczono rozkład genotypów gB, gN, gH, gpUL144, vCXCL-1,-2 i pUS28 HCMV w populacji noworodków z zakażeniem wrodzonym HCMV i niemowląt z zakażeniem nabytym postnatalnie lub niepotwierdzonym zakażeniem wrodzonym
2. Badania przeprowadzone dla siedmiu różnych fragmentów genomu HCMV (*UL55, UL73, UL75, UL144, UL146, UL147, US28*) wykazały, że genotyp wirusa nie wpływa na transmisję zakażeń prenatalnych i postnatalnych
3. Zakażenie płodu może być następstwem transmisji wertykalnej więcej niż jednym szczepem HCMV
4. Oprócz innych czynników ryzyka, genotypy gN, gH i vCXCL HCMV mogą być przydatne w prognozowaniu ryzyka wystąpienia objawów u niemowląt zakażonych prenatalnie lub postnatalnie

- szczepy o genotypie gN4 i gN2 charakteryzują się większą wirulencją i patogennością niż warianty gN1 i gN3
- zakażenie dziecka genotypem gH1 może predysponować do rozwoju niedosłuchu
- szczepy HCMV zawierające motyw ELRCXC w genie *UL146*, głównie genotypy G1 i G7, mogą stanowić ryzyko zakażeń objawowych HCMV

5. Nie stwierdzono związku między genotypami gB, gpUL144 i pUS28 HCMV a przebiegiem klinicznym zakażeń HCMV u niemowląt
6. Poziomy wirurii i wiremii HCMV są wyższe u noworodków z zakażeniem wrodzonym w porównaniu do dzieci z zakażeniem nabytym drogą postnatalną lub niezdefiniowanym zakażeniem HCMV; miano wirusa w płynach ustrojowych ma związek z występowaniem niektórych objawów cytomegalii
7. Otrzymane obserwacje wymagają potwierdzenia na większej liczbie dzieci, szczególnie w przypadku genotypów rzadko występujących w populacji polskiej.

Przeprowadzone badanie było pierwszym w Europie Środkowo-Wschodniej, które analizowało siedem zmiennych rejonów genomu HCMV u niemowląt zakażonych prenatalnie lub postnatalnie. Wykazano, że zmienność genetyczna HCMV w zakresie genów kodujących glikoproteiny osłonki N i H, oraz α-chemokiny może wpływać na przebieg zakażenia. Polimorfizmy występujące w obszarze tych genów mogą być związane ze zmianą immunologicznej regulacji procesu zakażenia, tropizmu komórkowego/tkankowego, replikacji i rozprzestrzeniania się wirusa. Chociaż większość mutacji w genomie HCMV jest stabilna, to prawdopodobnie niektóre z nich wpływają na zmianę żywotności wirusa lub patogenezę. Badania sekwencjonowania *de novo* całych genomów HCMV otrzymanych z przypadków zakażeń wrodzonych mogą wskazać inne genotypy wirusa związane z objawami infekcji HCMV. Wiedza ta może wskazać nowe kierunki badań i zmniejszyć w przyszłości problem cytomegalii wrodzonej.

W przedstawionym cyklu prac można wyróżnić następujące obszary praktyczne:

1. Przedstawione wyniki przyczyniają się do rozwoju wiedzy w zakresie zakażeń wrodzonych i postnatalnych HCMV
2. Nasze wyniki przedstawiają nowe dane dotyczące występowania genotypów HCMV w populacji polskich niemowląt zakażonych prenatalnie i postnatalnie
3. Zidentyfikowaliśmy markery molekularne, które wydają się być związane z zakażeniem objawowym HCMV u niemowląt, co może być pomocne we wczesnym wprowadzeniu terapii przeciwwirusowej
4. Określenie profilu molekularnego „kluczowych" genów HCMV może być pomocne w prognozowaniu bezobjawowych i objawowych zakażeń u dzieci
5. Poznanie czynników ryzyka prowadzących do rozwoju objawów choroby umożliwi opracowanie strategii diagnostycznych i terapeutycznych. Takie osiągnięcia mogą zmniejszyć konsekwencje zakażeń HCMV przenoszonych wertykalnie od matki do dziecka

Potrzebne są dalsze badania określające czynniki wirusa i gospodarza, które mogą być związane z ochroną przed transmisją HCMV i rozwojem cytomegalii. Ponieważ większość dzieci zakażonych HCMV nie wykazuje objawów cytomegalii i ma dobre rokowanie, badania mające na celu identyfikację markerów zakażeń objawowych powinny mieć wysoki priorytet.

REFERENCES

1. Manicklal S, Emery VC, Lazzarotto T, Boppana SB, et al. The "silent" global burden of congenital cytomegalovirus. Clin Microbiol Rev 2013;26:86-102.
2. Gaj Z, Rycel M, Wilczyński J, Nowakowska D. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the population of Polish pregnant women (In Polish). Ginekol Pol 2012;83:337-341.
3. Wujcicka W, Gaj Z, Wilczyński J, Sobala W, et al. Impact of socioeconomic risk factors on the seroprevalence of cytomegalovirus infections in a cohort of pregnant Polish women between 2010 and 2011. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2014;33:1951-1958.
4. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Alford CA, Jr. Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. Clin Obstet Gynecol 1982;25:563-576.
5. Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. Rev Med Virol 2007;17:355-363.
6. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. Rev Med Virol 2007;17:253-276.
7. van der Sande MA, Kaye S, Miles DJ, Waight P, et al. Risk factors for and clinical outcome of congenital cytomegalovirus infection in a peri-urban West-African birth cohort. PLoS One 2007;2:e492.
8. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Moura Brito RM, de Lima Isaac M, et al. Birth prevalence and natural history of congenital cytomegalovirus infection in a highly seroimmune population. Clin Infect Dis 2009;49:522-528.
9. Noyola DE, Demmler GJ, Nelson CT, Griesser C, et al. Early predictors of neurodevelopmental outcome in symptomatic congenital cytomegalovirus infection. J Pediatr 2001;138:325-331.
10. Boppana SB, Fowler KB, Vaid Y, Hedlund G, et al. Neuroradiographic findings in the newborn period and long-term outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. Pediatrics 1997;99:409-414.
11. Kylat RI, Kelly EN, Ford-Jones EL. Clinical findings and adverse outcome in neonates with symptomatic congenital cytomegalovirus (SCCMV) infection. Eur J Pediatr 2006;165:773-778.
12. Ahlfors K, Ivarsson Sa, Harris S. Report on a long-term study of maternal and congenital cytomegalovirus infection in Sweden. Review of prospective studies available in the literature. Scand J Infect Dis 1999;31: 443-457.
13. Cheeran MC-J, Lokensgard JR, Schleiss MR. Neuropathogenesis of Congenital Cytomegalovirus Infection: Disease Mechanisms and Prospects for Intervention. Clin Microbiol Rev 2009;22:99-126.

14. Arav-Boger R., Foster CB, Zong JC, Pass RF. Human cytomegalovirus-encoded alpha -chemokines exhibit high sequence variability in congenitally infected newborns. J Infect Dis 2006;193:788-791.
15. Pignatelli S, Lazzarotto T, Gatto MR, Dal Monte P, et al. Cytomegalovirus gN genotypes distribution among congenitally infected newborns and their relationship with symptoms at birth and sequelae. Clin Infect Dis 2010;1:33-41.
16. Bale Jr JF, Murph JR, Demmler GJ, Dawson J, et al. Intrauterine cytomegalovirus infection and glycoprotein B genotypes. J Infect Dis 2000;182:933-936.
17. Bale Jr JF, Petheram SJ, Robertson M, Murph JR, et al. Human cytomegalovirus a sequence and UL144 variability in strains from infected children. J Med Virol 2001;65:90-96.
18. Barbi M, Binda S, Caroppo S, Primache V, et al. CMV gB genotypes and outcome of vertical transmission: study on dried blood spots of congenitally infected babies. J Clin Virol 2001;21:75-79.
19. Pignatelli S, Dal Monte P, Rossini G, Landini MP. Genetic polymorphisms among human cytomegalovirus (HCMV) wild-type strains. Rev Med Virol 2004;14:383-410.
20. Picone O, Costa JM, Chaix ML, Ville Y, et al. Human cytomegalovirus UL144 gene polymorphisms in congenital infections. J Clin Microbiol 2005;43:25-29.
21. Arav-Boger R, Battaglia CA, Lazzarotto T, Gabrielli L, et al. Cytomegalovirus (CMV)-encoded UL144 (truncated tumor necrosis factor receptor) and outcome of congenital CMV infection. J Infect Dis 2006;194:464-473.
22. Cha TA, Tom E, Kemble GW, Duke GM, et al. Human cytomegalovirus clinical isolates carry at least 19 genes not found in laboratory strains. J Virol 1996;70:78-83.
23. Prichard MN, Penfold ME, Duke GM, Spaete RR, et al. A review of genetic differences between limited and extensively passaged human cytomegalovirus strains. Rev Med Virol 2001; 11:191-200.
24. Wille PT, Wisner TW, Ryckman B, Johnson DC. Human cytomegalovirus (HCMV) glycoprotein gB promotes virus entry in trans acting as the viral fusion protein rather than as a receptor-binding protein. MBio 2013;4:e00332-13.
25. Wille PT, Knoche AJ, Nelson JA, Jarvis MA, et al. Human cytomegalovirus gO-null mutant fails to incorporate gH/gL into the virion envelope and is unable to enter fibroblasts and epithelial and endothelial cells. J Virol 2010;84:2585–2596.
26. Murrell I, Tomasec P, Wilkie GS, Dargan DJ, et al. 2013. Impact of sequence variation in the UL128 locus on production of human cytomegalovirus in fibroblast and epithelial cells. J Virol 87:10489–10500.
27. Gerna G, Percivalle E, Lilleri D, Lozza L, et al. 2005. Dendritic-cell infection by human cytomegalovirus is restricted to strains carrying functional UL 131-128 genes and mediates efficient viral antigen presentation to CD8þ T cells. J Gen Virol 86:275–284.
28. Ryckman BJ, Rainish BL, Chase MC, Borton JA, et al. Characterization of the human cytomegalovirus gH/gL/UL 128-131 complex that mediates entry into epithelial and endothelial cells. J Virol 2008a;82:60–70.
29. Ryckman BJ, Chase MC, Johnson DC. HCMV gH/gL/UL 128-131 interferes with virus entry into epithelial cells: Evidence for cell type-specific receptors. Proc Natl Acad Sci USA 2008b;105:14118–14123.
30. Renzette N, Gibson L, Bhattacharjee B, Fisher D, et al. Rapid intrahost evolution of human cytomegalovirus is shaped by demography and positive selection. PLoS Genet 2013;9:e1003735.
31. Pati SK, Pinninti S, Novak Z, Chowdhury N, et al; NIDCD CHIMES Study Investigators. Genotypic diversity and mixed infection in newborn disease and hearing loss in congenital cytomegalovirus infection. Pediatr Infect Dis J 2013;32:1050-1054.
32. Ross SA, Novak Z, Pati S, Patro RK, et al. Mixed infection and strain diversity in congenital cytomegalovirus infection. J Infect Dis 2011;204:1003-1007.
33. Puchhammer-Stöckl E, Görzer I, Zoufaly A, Jaksch P, et al. Emergence of multiple cytomegalovirus strains in blood and lung of lung transplant recipients. Transplantation 2006;81:187-194.
34. Paradowska E, Przepiórkiewicz M, Nowakowska D, Studzińska M, et al. Detection of cytomegalovirus in human placental cells by polymerase chain reaction. APMIS 2006;114:764-771.
35. Pignatelli S, Dal Monte P, Rossini G, Chou S, et al. Human cytomegalovirus glycoprotein N (gpUL73-gN) genomic variants: identification of a novel subgroup, geographical distribution and evidence of positive selective pressure. J Gen Virol 2003;84:647-655.
36. Burkhardt C, Himmelein S, Britt W, Winkler T, et al. Glycoprotein N subtypes of human cytomegalovirus induce a strain-specific antibody response during natural infection. J Gen Virol 2009;90:1951-1961.
37. Pati SK, Novak Z, Purser M, Arora N, et al. Strain-specific neutralizing antibody responses against human cytomegalovirus envelope glycoprotein N. Clin Vaccine Immunol 2012;19:909-913.
38. Rasmussen L, Geissler A, Cowan C, Chase A, et al. The genes encoding the gCIII complex of human cytomegalovirus exist in highly diverse combinations in clinical isolates. J Virol 2002;76:10841-10848.
39. Chou S. 1992. Molecular epidemiology of envelope glycoprotein H of human cytomegalovirus. J Infect Dis 166:604-607.

40. Boehme KW, Guerrero M, Compton T. Human cytomegalovirus envelope glycoproteins B and H are necessary for TLR2 activation in permissive cells. J Immunol 2006;177:7094-7102.
41. Lilleri D, Kabanova A, Revello MG, Percivalle E, et al. Fetal human cytomegalovirus transmission correlates with delayed maternal antibodies to gH/gL/pUL128-130-131 complex during primary infection. PLoS One 2013;8:e59863.
42. Keay S, Baldwin BR. 1996. Evidence for the role of cell protein phosphorylation in human cytomegalovirus/ host cell fusion. J Gen Virol 77:2597-2604.
43. Urban M, Britt W, Mach M. The dominant linear neutralizing antibody-binding site of glycoprotein gp86 of human cytomegalovirus is strain specific. J Virol 1992;66:1303-1311.
44. Boppana SB, Rivera LB, Fowler KB, Mach M, et al. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity. N Engl J Med 2001;344:1366-1371.
45. Penfold ME, Dairaghi DJ, Duke GM, Saederup N, et al. Cytomegalovirus encodes a potent α-chemokine. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:9839-9844.
46. Akter P, Cunningham C, McSharry BP, Dolan A, et al. Two novel spliced genes in human cytomegalovirus. J Gen Virol 2003;84:1117-1122.
47. Cha TA, Tom E, Kemble GW, Duke GM, et al. Human cytomegalovirus clinical isolates carry at least 19 genes not found in laboratory strains. J Virol 1996;70:78-83.
48. Prichard MN, Penfold ME, Duke GM, Spaete RR, et al. A review of genetic differences between limited and extensively passaged human cytomegalovirus strains. Rev Med Virol 2001;11:191-200.
49. Lüttichau HR. The cytomegalovirus UL146 gene product vCXCL1 targets both CXCR1 and CXCR2 as an agonist. J Biol Chem 2010;285:9137-9146.
50. Arav-Boger R, Zong JC, Foster CB. Loss of linkage disequilibrium and accelerated protein divergence in duplicated cytomegalovirus chemokine genes. Virus Genes 2005;31:65-72.
51. Dolan A, Cunningham C, Hector RD, Hassan-Walker AF, et al. Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. J Gen Virol 2004;85:1301-1312.
52. Hassan-Walker AF, Okwuadi S, Lee L, Griffiths PD, et al. Sequence variability of the α-chemokine UL146 from clinical strains of human cytomegalovirus. J Med Virol 2004;74:573-579.
53. Arista S, De Grazia S, Giammanco GM, Di Carlo P, et al. Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in immunocompetent, immunocompromised, and congenitally infected Italian populations. Arch Virol 2003;148:547-554.
54. Picone O, Costa JM, Leruez-Ville M, Ernault P, et al. Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B genotype and CMV DNA load in the amniotic fluid of infected fetus. Prenat Diagn 2004;24:1001-
55. Benedict CA, Butrovich KD, Lurain NS, Corbeil J, et al. Cutting edge: A novel viral TNF receptor superfamily member in virulent strains of human cytomegalovirus. J Immunol 1999;162:6967-6970.
56. Cheung TC, Humphreys IR, Potter KG, Norris PS, et al. Evolutionarily divergent herpesviruses modulate T cell activation by targeting the herpesvirus entry mediator cosignaling pathway. Proc Nat Acad Sci USA 2005;102:13218-13223.
57. Poole E, King CA, Sinclair JH, Alcami A. The UL144 gene product of human cytomegalovirus activates NFkappaB via a TRAF6-dependent mechanism. EMBO J 2006;25:4390-4399.
58. Lurain NS, Kapell KS, Huang DD, Short JA, et al. Human cytomegalovirus UL144 open reading frame: sequence hypervariability in low-passage clinical isolates. J Virol 1999;73:10040-10050.
59. Pleskoff O, Treboute C, Brelot A, Heveker N, et al. Identification of a chemokine receptor encoded by human cytomegalovirus as a cofactor for HIV-1 entry. Science 1997;276:1874-1878.
60. Streblow DN, Soderberg-Naucler C, Vieira J, Smith P, et al. The human cytomegalovirus chemokine receptor US28 mediates vascular smooth muscle cell migration. Cell 1999;99:511-520.
61. Noriega VM, Gardner TJ, Redmann V, Bongers G, et al. Human cytomegalovirus US28 facilitates cell-to-cell viral dissemination. Viruses 2014;6:1202-1218.
62. He R, Xia C, Ruan Q, Qi Y, et al. Sequence analysis of human cytomegalovirus US28 gene in low-passage clinical isolates from children and AIDS patients. Acta Biochim Pol 2011;58:231-236.
63. Guerra B, Lazzarotto T, Quarta S, Lanari M, et al. Prenatal diagnosis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. Am J Obstet Gynecol 2000;183:476-482.
64. Noyola DE, Demmler GJ, Williamson WD, Griesser C, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. Congenital CMV Longitudinal Study Group. Pediatr Infect Dis J 2000;19:505-510.
65. Ross SA, Novak Z, Fowler KB, Arora N, et al. Cytomegalovirus blood viral load and hearing loss in young children with congenital infection. Pediatr Infect Dis J 2009;28:588-592.
66. Boppana SB, Britt WJ. Cytomegalovirus. W: Newton VE, Vallely PJ, red. Infection and Hearing Impairment. Whurr Publishers Limited (John Wiley & Sons Ltd), Chichester, Wielka Brytania. 2006:67-92.

Pozostałe osiągnięcia naukowo – badawcze

DOROBEK NAUKOWY

Sumaryczny impact factor (JCR) publikacji pełnotekstowych zgodnie z rokiem opublikowania: 43,871, w tym **22,125** za pierwszoautorskie prace oryginalne

Suma punktów MNiSW za publikacje naukowe w czasopismach (bez suplementów): **474**, w tym **207** przypada na pierwszoautorskie prace oryginalne

Sumaryczna liczba prac: 30 (w tym pierwszy autor w **16** pracach, autor korespondencyjny w **13** pracach)

Sumaryczny IF (zgodnie z rokiem opublikowania) po uzyskaniu stopnia doktora: **43,871**; sumaryczna liczba punktów MNiSW po uzyskaniu stopnia doktora: **452**

Liczba cytowań publikacji według bazy ISI Web of Science: 192 (All Databases), **168** cytowań (Core Collection), według Scopus **213**

Indeks Hirscha: 6 (ISI Web of Science), **7** (Scopus).
dane z dnia 14 maja 2015 r.

Łączna liczba publikacji pełnotekstowych (z wyłączeniem prac z cyklu habilitacyjnego): 25, w tym **21** prace oryginalne i **4** prace przeglądowe; pierwszy autor w **11** pracach, autor korespondencyjny w **8** pracach. Sumaryczna punktacja za publikacje pełnotekstowe, z wyłączeniem prac z cyklu habilitacyjnego, wynosi IF - **29,669**, MNiSW - **344.**

Dodatkowo współautor **patentu** oraz **3** zgłoszeń patentowych (w tym **1** międzynarodowego), **4** rozdziałów w podręczniku lub w skrypcie oraz **13** prac typu proceedings (w tym **4** opublikowanych w suplementach czasopism), oraz **91** komunikatów konferencyjnych, w tym **45** z konferencji międzynarodowych.

Ponadto **5** prac oryginalnych, w tym **2** z pierwszym lub ostatnim autorstwem, znajduje się w recenzji w redakcji czasopism z listy filadelfijskiej.

Szczegółowy wykaz dorobku naukowego umieszczono w ***załączniku 6***.

PRZEBIEG PRACY NAUKOWEJ*

*W rozdziale omówiono wyniki prac, które nie zostały włączone do rozprawy.

I. PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA NAUK BIOLOGICZNYCH

Pracę naukową rozpoczęłam jako studentka czwartego roku mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego w Laboratorium Wirusologii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN we Wrocławiu, gdzie pod opieką naukową Prof. dr hab. Zofii Błach-Olszewskiej przygotowałam pracę magisterską pt. *Łożysko ludzkie jako układ do badań wirusologicznych*. Po studiach odbyłam 3-miesięczny staż w Eidgenössische Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau, Zürich Reckenholz, Szwajcaria. W styczniu 1992 r. rozpoczęłam pracę w Laboratorium Wirusologii Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN na stanowisku asystenta. W latach 1992/1993 uczestniczyłam w badaniach dotyczących produkcji interferonu (IFN) i czynnika martwicy nowotworów (TNF) uwalnianych przez mysie makrofagi otrzewnowe. Wykazano, że

produkcja konstytutna IFN i TNF zależy od szczepu, wieku i płci badanych zwierząt, ale nie stwierdzono podobnych zależności w przypadku produkcji IFN-ß i TNF-α po stymulacji LPS. Zastosowanie naturalnego preparatu TTP stymulowało uwalnianie IFN-ß i TNF-α przez komórki otrzewnowe myszy szczepu BALB/c, podczas gdy inne szczepy zwierząt nie odpowiadały lub odpowiadały w niewielkim stopniu na podanie induktora.

Wyniki zostały przedstawione w następujących publikacjach (***załącznik 6***, część I, prace 1 i 2):

- Zaczyńska E., **Broniarek E.**, Błach-Olszewska Z. Spontaneous and lypopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha and interferon beta production by resident peritoneal cells of mice: effect of sex, age and strain. *Archivum Immunologiae at Therapiae Experimentalis*, 1993, 41(1), 67-71.
- Błach-Olszewska Z., Zaczyńska E., **Broniarek E.**, Inglot A.D. Production of cytokines by mouse peritoneal cells treated with Tołpa* Torf Preparation (TTP*): dependence on age and strain of mice. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 1993, 41(1), 81-85

oraz w trzech komunikatach konferencyjnych (Annual Meeting of the International Society for Interferon Research, 1992, Toronto; VII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologicznego, 1992, Solina).

Przeciwwirusowa aktywność hodowli narządowych łożyska ludzkiego z ciąży donoszonej

W latach 1992 – 1995 realizowałam badania dotyczące odporności wrodzonej łożyska ludzkiego w zakażeniach wirusowych, prowadzone w ramach projektu KBN nr 4.0689.91.01 pt. *Makrofagi i endotelium łożyska (znaczenie dla AIDS)*. Celem prowadzonych przeze mnie badań było określenie aktywności przeciwwirusowej łożysk ludzkich z ciąży donoszonej i roli cytokin tj. IFN, TNF i interleukiny 6 (IL6) w pierwotnych zakażeniach wirusowych łożyska. Wykazałam, że 70-90% łożysk z III trymestru ciąży wykazuje konstytutywną aktywność przeciwwirusową potwierdzoną m.in. przez niewrażliwość komórek łożysk i błony owodniowej na zakażenie doświadczalne wirusami indykatorowymi (herpes simplex virus type 1, HSV-1; encephalomyocarditis virus, EMCV; vesicular stomatitis virus, VSV). Wraz z wiekiem hodowli narządowych, łożyska i błony owodniowe nabywały wrażliwości na infekcje wirusowe i podnosił się poziom replikacji wirusów. Zaobserwowano, że komórki łożysk z ciąży donoszonej uwalniają konstytutywnie i po stymulacji induktorami duże ilości TNF, IL6 i IL10. IFN, głównie typu ß, produkowany był w łożyskach z III trymestru ciąży w ilościach śladowych. Niska produkcja i ekspresja aktywności przeciwwirusowej IFN wskazują, że procesy te podlegają w łożysku silnej supresji. Konsekwencją eliminacji aktywności cytokin endogennych swoistymi przeciwciałami był wzrost replikacji badanych wirusów. Stwierdziłam, że najsilniejszą aktywność przeciwwirusową wykazują w łożysku TNFα i interferony typu I. Badania realizowałam we współpracy z ośrodkami klinicznymi: Oddziałem Położnictwa i Ginekologii Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu oraz Oddziałem Położnictwa Zabiegowego i Oddziałem Ginekologii Septycznej Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego we Wrocławiu.

Opiekę naukową nad prowadzonymi badaniami pełniła Prof. Z. Błach-Olszewska, której zawdzięczam zainteresowanie tematyką odporności wrodzonej, przygotowanie do samodzielnej pracy naukowej i wieloletnią przyjaźń. Otrzymane wyniki badań posłużyły mi do przygotowania rozprawy doktorskiej pt. *Przeciwwirusowa aktywność hodowli narządowych ludzkiego łożyska z ciąży donoszonej; rola IFN, TNF i IL-6*, na podstawie której w 1995 r. uzyskałam stopień doktora nauk biologicznych. Przygotowana rozprawa doktorska, po otrzymaniu wyróżnienia rady naukowej Instytutu i pozytywnej opinii Komitetu Naukowego PAN, została wyróżniona w 1996 r. **Nagrodą Prezesa Rady Ministrów**.

Zdobyta wiedza i wyniki otrzymane podczas realizacji pracy doktorskiej zostały przedstawione w następujących publikacjach (***załącznik 6***, część I, prace 3-6; część II, 1 i 2), przy czym pozycje 5 (*J IFN Cyt Res*, 1996) i 6 (*Placenta*, 1997) ukazały się po uzyskaniu stopnia doktora:

- **Broniarek E.** Procesy immunologiczne łożyska ludzkiego i ich znaczenie w przeciwwirusowej odporności. I. Wirusowe zakażenia płodu. Nieswoista przeciwwirusowa odporność. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* [praca przeglądowa], 1994, 48(3), 227-241.
- **Broniarek E.** Procesy immunologiczne łożyska ludzkiego i ich znaczenie w przeciwwirusowej odporności. II. Odporność swoista. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* [praca przeglądowa], 1994, 48(4), 345-362.
- **Paradowska E.** Immunologiczne funkcje łożyska i śródbłonka w zakażeniach wirusowych; nieswoiste mechanizmy obronne. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 1995, 49(1), 137-145.
- **Paradowska E.**, Błach-Olszewska Z., Gierlińska M., Woytoń J. Effect of exogenous tumor necrosis factor α, interleukin 6 and interferons on vesicular stomatitis virus replication in human placenta and amniotic membrane organ cultures. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 1996, 44(1), 57-62.
- **Paradowska E.**, Błach-Olszewska Z., Sender J., Jarosz W. Antiviral nonspecific immunity of human placenta at term: Possible role of endogenous tumor necrosis factors and interferons. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 1996, 16(11), 941-948. IF – 1,275.
- **Paradowska E.**, Błach-Olszewska Z., Gejdel E. Constitutive and induced cytokine production by human placenta and amniotic membrane at term. *Placenta*, 1997, 18(5-6), 441-446. IF – 2,473.

Wyniki badań posłużyły ponadto do przygotowania **10** komunikatów konferencyjnych (m.in. Annual Meeting of the International Society Interferon and Cytokine Research, 1994, Budapeszt; VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologicznego, 1995, Wrocław; First Joint Meeting of the International Cytokine Society and the international Society for Interferon and Cytokine Research, 1996, Genewa; XXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 1996, Łódź).

II. PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA NAUK BIOLOGICZNYCH

W końcu 1995 r. z powodów osobistych przeprowadziłam się do Łodzi, gdzie rozpoczęłam pracę w Pracowni Wirusologii Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN na etacie adiunkta, pod opieką naukową Prof. dr. hab. n. med. Mirosława Kańtocha. W kolejnych latach ośrodek ten został przekształcony w Centrum Biologii Medycznej PAN, a następnie w Instytut Biologii Medycznej PAN, w którym pracuję do chwili obecnej. Podczas pracy w tych jednostkach byłam/jestem zatrudniona w Pracowni Wirusologii Molekularnej i Chemii Biologicznej (PWMiCB) kierowanej przez Prof. dr. hab. Zbigniewa J. Leśnikowskiego.

Mechanizm transmisji wirusa cytomegalii (HCMV) przez łożysko ludzkie. Wpływ polimorfizmu genów HCMV na transmisję zakażeń wewnątrzmacicznych i wybrane właściwości biologiczne wirusa

Głównym tematem moich badań są **mechanizmy molekularne zakażeń ludzkim wirusem cytomegalii (HCMV)**. Znaczna część prowadzonej działalności naukowej dotyczy zakażeń wrodzonych i infekcji nabytych w okresie postnatalnym. W latach 1999 – 2002 kierowałam badaniami nad mechanizmem transmisji HCMV przez łożysko ludzkie ze szczególnym uwzględnieniem roli trofoblastów i makrofagów (projekt KBN nr 4P05E 034 16). W cytotrofoblastach oraz makrofagach izolowanych z kosmków i doczesnej zakażonych HCMV *in utero* wykazałam obecność DNA oraz białek wczesnych i późnych wirusa, potwierdzając, że w komórkach łożyska i doczesnej dochodzi do produktywnej infekcji HCMV. Wrażliwość komórek łożyska na zakażenie HCMV potwierdzono także podczas infekcji doświadczalnych różnymi szczepami laboratoryjnymi wirusa w warunkach *in vitro*. Zaobserwowano, że cytomegalowirus namnaża się w makrofagach doczesnej do wyższych mian w

porównaniu do komórek Hofbauera i cytotrofoblastów, w których dochodzi do ekspresji tylko antygenów bezpośrednio-wczesnych i wczesnych wirusa. Podczas realizacji tego projektu rozpoczęłam wieloletnią współpracę z Kliniką Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki oraz Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W latach 2003 – 2007, kierowałam realizacją projektu MNiI nr 3 P05E 001 25 dotyczącego wpływu polimorfizmów w genach wirusa cytomegalii na transmisję zakażeń wewnątrzmacicznych i wybrane właściwości biologiczne wirusa. Nasze główne zainteresowania dotyczyły trzech zmiennych regionów genomu wirusa kodujących geny *UL55*, *UL144* i *US28*. Badania zmienności genetycznej w tych rejonach genomu HCMV zostały później rozszerzone o badania izolatów klinicznych od osób z osłabionym układem odpornościowym, włączając osoby zakażone HIV i biorców przeszczepu nerki. Badania zmienności w obszarze tych genów wykonane u pacjentów z wtórnymi niedoborami odporności oraz 24 noworodków z zakażeniem wrodzonym były przedmiotem pracy doktorskiej dr Mirosławy Studzińskiej (2010 r.). Dodatkowo badano wybrane mechanizmy odporności wrodzonej łożyska ludzkiego, w tym rolę cytokin w odporności wrodzonej i transmisji wertykalnej HCMV. Badania łożysk zakażonych HCMV *in utero* wykazały obecność DNA wirusa w 76% narządów z III trymestru ciąży, przy czym transmisję wirusa z doczesnej do kosmków płodowych stwierdzono w około 2/3 zakażonych narządów. Częstość występowania pierwotnego zakażenia wrodzonego w badanej grupie noworodków oszacowano na 42%. W łożyskach otrzymanych od zdrowych kobiet ciężarnych oraz w łożyskach zakażonych HCMV *in utero* lub *in vitro* określono produkcję i rolę wybranych cytokin: TNF, IFN, IL-6 i IL-18. Stwierdzono, że w połowie badanych narządów endogenny TNFα i w mniejszym stopniu TNFß wykazują nieswoistą odporność przeciwwirusową. Zakażenie HCMV w warunkach *in utero* powodowało stymulację syntezy TNFα na etapie transkrypcji i wzrost aktywności TNFα i ß w różnych typach komórek łożyska.

W ramach realizowanej tematyki badawczej opracowano testy do wykrywania różnych fragmentów regionu US genomu HCMV i zastosowano je do detekcji zakażeń w materiałach klinicznych, włączając płyn owodniowy i łożyska. Jeden z opracowanych testów typu nested-PCR do detekcji fragmentu genu *US14* HCMV został opatentowany (***załącznik 6***, część VI, patent nr 189683). Po odbytym stażu w Royal Free and University College Medical School w Londynie (2003 r.), wprowadziłam metodę PCR w czasie rzeczywistym z sondami typu TaqMan do oznaczania liczby kopii DNA HCMV w materiałach klinicznych i zastosowałam ją do badania replikacji wirusa m.in. w łożyskach i płynach owodniowych.

Otrzymane wyniki zawarto w **4** publikacjach (***załącznik 6***, część I, prace 7, 8, 10, 11), **8** komunikatach typu proceedings (***załącznik 6***; część III, 2-9) oraz **20** streszczeniach konferencyjnych (m.in. Third Joint Meeting of the International Cytokine Society (ICS)/International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR), 2000, Amsterdam; XVII European Congress of Perinatal Medicine, 2002, Oslo; European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2004, Praga; XI International Federation of Placenta Associations Meeting /European Placenta Group/, 2005, Glasgow; Krajowy Kongres Biotechnologii, 1999 Wrocław, 2003 Łódź; Kongres Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2004, Bydgoszcz).

- **Paradowska E.**, Studzińska M., Przepiórkiewicz M.,. Leśnikowski Z. J. Wrażliwość łożyska ludzkiego na zakażenie wirusem cytomegalii, *Działalność naukowa*, 2002, 14, 49-50.
- **Paradowska E.**, Nowakowska D., Przepiórkiewicz M., Studzińska M., Wilczyński J., Leśnikowski Z.J. Study on trophoblasts and placental macrophages susceptibility to human cytomegalovirus infection. *Archives of Perinatal Medicine*, 2003, 9(1), 60-64.
- **Paradowska E.**, Przepiórkiewicz M., Nowakowska D., Wilczyński J., Leśnikowski Z.J. Detection of human cytomegalovirus DNA in pregnant women by single tube PCR with three primers. *Polish Journal of Gynaecological Investigations*, 2006, 9(1), 24-29.

- **Paradowska E.**, Przepiórkiewicz M., Nowakowska D., Studzińska M., Wilczyński J., Emery V.C., Leśnikowski Z.J. Detection of cytomegalovirus infection in human placental cells by polymerase chain reaction. *APMIS*, 2006, 114(11), 764-771. IF – 1,875,

Zakażenia prenatalne i perinatalne HCMV

W latach 2008 – 2011 kierowałam międzynarodowym projektem Mechanizmu Finansowego EOG pt. *Zakażenia prenatalne i perinatalne ludzkim wirusem cytomegalii* (PL0270); dane o projekcie dostępne na stronie http://www.ibmpan.pl/pl/projekty-pan-ibm/eea-grants/zakazenia-prenatalne-i-perinatalne-ludzkim-wirusem-cytomegalii. Projekt realizowany był w Instytucie Biologii Medycznej PAN (IBM PAN) w Łodzi w partnerstwie z Department of Cancer Research and Molecular Medicine, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norwegia, oraz z wiodącymi krajowymi ośrodkami naukowymi i dydaktycznymi: Uniwersytetem Medycznym w Łodzi, UM (Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii, III Katedra Ginekologii i Położnictwa), Instytutem Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, ICZMP (III Klinika Pediatrii), Instytutem Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie, ICZD (Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej), *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (CM UJ): Zakład Wirusologii Katedry Mikrobiologii, Klinika Neonatologii Katedry Ginekologii i Położnictwa, Klinika Chorób Dzieci Katedry Pediatrii Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii i Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego. Współpraca między partnerami umożliwiła interdyscyplinarne podejście do problemu zakażeń HCMV na pograniczu medycyny, biologii i chemii oraz umożliwiła badanie pacjentów z obszarów zróżnicowanych geograficznie. Celem bezpośrednim projektu było poznanie roli genomu wirusa i wybranych czynników odporności wrodzonej w zakażeniach prenatalnych i perinatalnych HCMV. W ramach projektu: 1) wykonano pierwsze badanie polskich kobiet ciężarnych i noworodków w kierunku wykrywania zakażeń HCMV w celu określenia prewalencji, częstości występowania zakażeń HCMV w ciąży i zakażeń wrodzonych u noworodków (UM); 2) przeprowadzono badania zmienności genetycznej szczepów HCMV wywołujących zakażenia wrodzone i nabyte w okresie postnatalnym w populacji polskich niemowląt (IBM PAN, PWMiCB); 3) wykonano pierwsze kompleksowe badania polimorfizmów genu *MBL2* (mannose/mannan binding lectin) u noworodków oraz kobiet ciężarnych z zakażeniami HCMV; w tkankach łożyska określono ponadto ekspresję genów *MASP2* (*mannan-binding lectin serine peptidase 2*) oraz *FCN2* (*fikolin 2*) (IBM PAN, Pracownia Immunobiologii Zakażeń); 4) w łożyskach pochodzących z ciąż niepowikłanych i łożyskach zakażonych HCMV określono na poziomie mRNA ekspresję cytokin o potencjalnej aktywności przeciwwirusowej, ich syntezę i aktywność biologiczną (IBM PAN, PWMiCB); 5) oznaczono polimorfizmy w genach wybranych cytokin/chemokin i ich receptorów w zakażeniach perinatalnych HCMV (ICZD); 6) określono ekspresję receptorów Toll-like i aktywację ligandów TLR w trofoblastach, wpływ zakażenia HCMV *in vitro* na aktywację TLR i ekspresję HLA-G (NTNU); oraz 7) poszukiwano nowych związków o aktywności przeciw-HCMV; otrzymano pochodne znanych leków przeciwwirusowych i nowych związków modyfikowanych farmakoforem karboranylowym oraz zbadano ich właściwości fizykochemiczne i biologiczne (IBM PAN, PWMiCB). Efektem realizacji projektu jest opublikowanie 14 artykułów oryginalnych, 3 zgłoszeń patentowych i 36 komunikatów konferencyjnych. Do publikacji nie stanowiących osiągnięcia naukowego, w których jestem współautorem należą (***załącznik 6***, część I, prace 12, 14, 17 i 18):

- Szala A., **Paradowska E.**, Nowakowska D., Świerzko A.S., Dzierżanowska-Fangrat K., Sokołowska A., Studzińska M., Gaj Z., Suski P., Kasztelewicz B., Wilczyński J., Cedzyński M. Mannan-binding lectin-2 (MBL2) gene polymorphisms in prenatal and perinatal cytomegalovirus infections. *Molecular Immunology*, 2011, 48(15-16), 2203-2206. IF – 2,897.

- Olejniczak A.B., Adamska A.M., **Paradowska E.**, Studzińska M., Suski P., Leśnikowski Z.J. Modification of selected anti-HCMV drugs with lipophilic boron cluster modulator. Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research, 2013, 70(3), 489-504. IF – 0,693.
- Rycel M., Gaj Z., Wilczyński J., **Paradowska E.**, Studzińska M., Suski P., Nowakowska D. Ocena związku poziomu wiremii HCMV u matki z przebiegiem ciąży i stanem urodzeniowym noworodków. *Ginekologia Polska*, 2013, 84(12), 1005-1011. IF – 0,675.
- Gaj Z., Wilczyński J., Nowakowska-Głąb A., Boakye-Agyeman F., **Paradowska E.**, Leśnikowski Z.J. Nowakowska D. Decrease in 3-nitrotyrosine in the amniotic fluid of women with cytomegalovirus infection. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2014, 34(3), 251-254. IF – 0,604.

Badania dotyczące występowania zakażeń mieszanych u kobiet ciężarnych, płodów i noworodków na podstawie analizy genotypów *gB* HCMV były kontynuowane we współpracy z Kliniką Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii UM/ICZMP w Łodzi i Zakładem Wirusologii CM UJ w Krakowie. Wykazały one, że około 78% badanych kobiet ciężarnych było zakażonych jednym szczepem wirusa o genotypie gB1, gB2 lub gB3, natomiast w pozostałych przypadkach wykryto zakażenia mieszane szczepami o genotypach głównie gB1-gB2 lub gB2-gB3. Stwierdzono ponadto, że zakażenia jednym lub wieloma szczepami HCMV występują w przypadkach bezobjawowej, jak również objawowej cytomegalii wrodzonej. Wyniki przedstawiono w publikacji (***załącznik 6***, część I, praca 23):

- Rycel M., Wujcicka W., Zawilińska B., **Paradowska E.**, Suski P., Gaj Z., Wilczyński J., Leśnikowski Z., Nowakowska D. Mixed infections with distinct cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in Polish pregnant women, fetuses, and newborns. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2014, 34 (3), 585-591. IF – 2,544.

Identyfikacja molekularnych mechanizmów zakażeń wirusowych i wrodzonej odporności nieswoistej

W okresie 2010 – 2014 uczestniczyłam w realizacji zadania pt. *Identyfikacja molekularnych mechanizmów zakażeń wirusowych i wrodzonej odporności nieswoistej oraz poszukiwania nowych tarcz terapeutycznych i związków aktywnych* w ramach projektu pt. *Badania mechanizmów molekularnych na styku organizm ludzki – patogen – czynniki środowiska (InterMolMed)* współfinansowanego ze środków Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, 2007 – 2013. Realizowane zadanie dotyczyło zarówno kontynuacji badań nad zmiennością genetyczną szczepów HCMV (stanowiące część osiągnięcia naukowego), jak również zbadania wpływu zmienności w wybranych genach gospodarza na rozwój zakażeń HCMV. W zakresie projektu zbadano występowanie polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) w genach kodujących receptory Toll-podobne (TLR): TLR2, TLR4 i TLR9 u osób zakażonych HCMV, określono ekspresję TLR1-10 na poziomie mRNA w warunkach zakażeń wirusowych łożyska i doczesnej oraz opracowano testy do wykrywania i mianowania wybranych herpeswirusów. Określono częstości występowania zmienności sekwencji DNA w grupie niemowląt i osób dorosłych z cytomegalią oraz w populacji osób nie zakażonych wirusem. Wykazano, że polimorfizmy *TLR2* (Arg677Trp, Arg753Gln) i *TLR4* (Asp299Gly) nie stanowią czynników ryzyka rozwoju objawów cytomegalii u dzieci. Interesujące, że genotypy „typu dzikiego" *TLR2* były związane ze wzrostem ryzyka rozwoju zakażenia HCMV, podczas gdy heterozygotyczność względem TLR2 i TLR4 obserwowano częściej u osób zdrowych w porównaniu do osób dorosłych zakażonych HCMV. Zaobserwowano, że u pacjentów z układem homozygotycznym AA względem *TLR4* Asp299Gly SNP występuje ponad 3-krotnie wyższy poziom wiremii w porównaniu do pozostałych osób. Badane polimorfizmy *TLR2* nie mają wpływu na stopień replikacji wirusa u osób zakażonych HCMV. Wykazano ponadto, że polimorfizm -1237T/C TLR9 nie jest związany z infekcją wirusową, natomiast *TLR9* SNP w pozycjach -1486T/C i/lub 2848C/T mogą

stanowić czynnik ryzyka rozwoju zakażenia objawowego HCMV (praca w recenzji). Genotypy homozygotyczne -1486CC i 2848TT występują częściej u niemowląt zakażonych HCMV niż u zdrowych dzieci i osób dorosłych. Podobne obserwacje poczyniono u płodów i noworodków zakażonych wewnątrzmacicznie HCMV, wśród których heterozygoty względem *TLR9* 2848 miały zwiększone ryzyko rozwoju cytomegalii wrodzonej w porównaniu z nosicielami innych wariantów genotypowych.

Wyniki badań realizowanych we współpracy z Instytutem Centrum Zdrowia Matki Polki oraz Uniwersytetem Medycznym w Łodzi (Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii) posłużyły do przygotowania 5 manuskryptów oryginalnych, w tym 3 znajdujących się aktualnie w recenzji. Publikacje w badanej tematyce (***załącznik 6***, część I, prace 20 i 26). Wyniki badań dotyczących ekspresji receptorów Toll-like-podobnych i RIG-I-podobnych na poziomie mRNA w łożyskach ludzkich z ciąży donoszonej oraz w warunkach wirusowych zakażeń doświadczalnych łożyska zawarto w dwóch manuskryptach (w recenzji) i 5 komunikatach konferencyjnych (15th International Congress of Immunology, 2013, Mediolan; I Zjazd Polskiego Towarzystwa Wirusologicznego, 2013, Lublin; XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, 2012, Lublin). Opublikowano ponadto jedną pracę przeglądową (***załącznik 6***, część II, pozycja 4)

- Jabłońska A.[#], **Paradowska E.**[#], Studzińska M., Suski P., Nowakowska D., Wiśniewska-Ligier M., Woźniakowska-Gęsicka T., Wilczyński J., Leśnikowski Z.J. Relationship between Toll-like receptor 2 Arg677Trp and Arg753Gln, and Toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphisms and cytomegalovirus infection. *International Journal of Infectious Diseases*, 2014, 25, 11-15. IF – 2,330. [#], pierwszy autor.
- Wujcicka W., **Paradowska E.**, Studzińska M., Gaj Z., Wilczyński J., Leśnikowski Z., Nowakowska D. TLR9 2848 GA heterozygotic status possibly predisposes fetuses and newborns to congenital Infection with human cytomegalovirus. *PLoS One*, 2015, 10(4), e0122831. IF – 3,534.
- Jabłońska A., Paradowska E. Rola receptorów RIG-I-podobnych w odpowiedzi przeciwwirusowej. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 68, 541-556 (2014). IF (2013/2014) = 0,633.

W ostatnich latach brałam także udział w badaniach realizowanych przez Klinikę Immunologii, Reumatologii i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi dotyczących wpływu zakażenia wirusa paragrypy typu 3 (HPIV3) na produkcję IFNγ i RANTES w hodowli komórek nabłonka nosa. Otrzymane wyniki zawarto w publikacji (***załącznik 6***, część I, pozycja 24) i komunikacie konferencyjnym (The European Academy of Allergy and Clinical Immunology and World Allergy Organization World Allergy and Asthma Congress, 2013, Mediolan, Włochy)

- Lewandowska-Polak A., Brauncajs M., **Paradowska E.**, Jarzębska M., Kurowski M., Moskwa S., Leśnikowski Z.J., Kowalski M.L. Human parainfluenza virus type 3 (HPIV3) induces production of IFNγ and RANTES in human nasal epithelial cells (HNECs). *Journal of Inflammation (London)*, 2015, 12, 16. IF – 2,216.

Aktywność cytotoksyczna i przeciwwirusowa pochodnych nukleozydów i innych związków chemicznych

Podczas swojej pracy naukowej prowadziłam równocześnie badania dotyczące aktywności cytotoksycznej i przeciwwirusowej pochodnych nukleozydów, koniugatów klasterów boru i innych związków chemicznych (wykaz projektów na str. 28-30). Ich celem było wyselekcjonowanie struktur o wysokiej aktywności biologicznej, które mogą mieć potencjalne zastosowanie w terapii. Aktywność cytotoksyczną związków oznaczano testem zahamowania żywotności komórek linii ciągłych lub półciągłych. Określano także zdolność związków do zahamowania replikacji wirusów DNA (HSV-1, HCMV) i RNA (HPIV-3, EMCV, VSV). Wpływ związków na replikację wirusów DNA określano przy

użyciu testu redukcji liczby łysinek, natomiast test redukcji miana wirusa był stosowany do oceny liczby wirusów RNA. Dla badanych związków określano wartości CC50 (ang. *cytotoxicity concentration*, stężenie związku hamujące wzrost komórek w 50%) i IC50 (ang. *inhibitory concentration*, stężenie związku zmniejszające liczbę łysinek/wirionów o 50%) w badanych modelach linii komórkowych i szczepów wirusowych. Otrzymane wyniki zostały przedstawione w postaci **9** komunikatów na konferencjach krajowych i zagranicznych (m.in. International Conference on Boron Chemistry Imeboron, 2014, Praga; Challenges in organic chemistry, 2014, Szanghaj; World Chemistry Congress, 2013, Istanbul).

Publikacje habilitantki w tej tematyce (***załącznik 6***, część I, pozycje 9, 14, 16, 22; część II, pozycja 3):

- Leśnikowski Z. J., **Paradowska E.**, Olejniczak A.B., Studzińska M., Seekamp P., Schüßler U., Gabel D., Shinazi R. F., Plešek J. Towards new boron carriers for boron neutron capture therapy: metallocarboranes and their nucleoside conjugates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005, 13(13), 4168-4175. IF – 2,286.
- Semioshkin A., Ilinova A., Lobanova I., Bregadze V., **Paradowska E.**, Studzińska M., Jabłońska A., Lesnikowski Z.J. Synthesis of the first conjugates of 5-ethynyl-2'-deoxyuridine with closo-dodecaborate and cobalt-bis-dicarbollide boron clusters. *Tetrahedron*, 2013, 69(37), 8034-8041. IF – 2,817.
- Ilinova A., Semioshkin A., Lobanova I., Bregadze V., Mironov A.F., **Paradowska E.**, Studzińska M., Jabłońska A., Bialek- Pietras M., Leśnikowski Z.J. Synthesis, cytotoxicity and antiviral activity studies of the conjugates of cobalt bis(1,2-dicarbollide)(-I) with 5-ethynyl-2'-deoxyuridine and its cyclic derivatives. *Tetrahedron*, 2014, 70, 5704-5710. IF – 2,817.
- Leśnikowski Z. J., **Paradowska E.**, Przepiórkiewicz M., Olejniczak A., Emery V.C. Leki Przeciwko Ludzkiemu Wirusowi Cytomegalii (HCMV). *Polski Merkuriusz Lekarski* [praca przeglądowa], 2002, 13(75), 242-249.

oraz wymieniona wcześniej publikacja:

- Olejniczak A.B., Adamska A.M., **Paradowska E.**, Studzińska M., Suski P., Leśnikowski Z.J. Modification of selected anti-HCMV drugs with lipophilic boron cluster modulator. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 2013, 70(3), 489-504. IF - 0,693.

KIEROWANIE MIĘDZYNARODOWYMI LUB KRAJOWYMI PROJEKTAMI BADAWCZYMI LUB UDZIAŁ W TAKICH PROJEKTACH

Kierowanie międzynarodowym projektem badawczym

1. Grant Mechanizmów Finansowych EOG i Norweskiego Mechanizmu Finansowego nr PL0270 pt. *Zakażenia prenatalne i perinatalne ludzkim wirusem cytomegalii. Priorytet: Badania naukowe.* 01.09.2008 – 30.04.2011, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi (beneficjent projektu).

   Projekt realizowany w partnerstwie z:

- Norwegian University of Science and Technology, Department of Cancer Research and Molecular Medicine; Trondheim, Norwegia
- Uniwersytetem Medycznym w Łodzi, Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii, III Katedra Ginekologii i Położnictwa, Łódź
- *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Wirusologii, Katedra Mikrobiologii; Klinika Neonatologii, Katedra Ginekologii i Położnictwa; Klinika Chorób Dzieci, Katedra Pediatrii, Polsko - Amerykański Instytut Pediatrii, Kraków
- Instytutem Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka, Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Warszawa,
- Instytutem Centrum Zdrowia Matki Polki, III Klinika Pediatrii, Łódź.

Kierownik i Koordynator projektu

Kierowanie krajowymi projektami badawczymi

2. NCN nr 2014/13/B/NZ7/02317 pt. *Czynniki ryzyka zakażeń wrodzonych i postnatalnych wirusem cytomegalii.* 02.02.2015 – 01.02.2018, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi.
Kierownik projektu

3. MNiI nr 3 P05E 001 25 pt. *Wpływ polimorfizmu genów wirusa cytomegalii na transmisję zakażeń wewnątrzmacicznych i wybrane właściwości biologiczne wirusa. Odporność wrodzona łożyska.* 07.11.2003 – 06.02.2007, Centrum/Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi.
Kierownik projektu

4. KBN nr 4P05E 034 16 pt. *Badanie mechanizmu przenoszenia zakażenia wirusem cytomegalii przez łożysko ludzkie. Rola trofoblastów i makrofagów.* 01.04.1999 – 31.03.2002, Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi.
Kierownik projektu

Udział w międzynarodowych projektach badawczych

5. POIG.01.01.02-10-107/09 pt. *Badania mechanizmów molekularnych na styku organizm ludzki – patogen – czynniki środowiska (InterMolMed).* 01.11.2010 – 30.04.2014, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Kierownik/Koordynator: Prof. dr hab. Jarosław Dziadek. Wykonawca zadania.

Udział w krajowych projektach badawczych

6. NCN Nr N N204 531739 pt. *Klastery boru jako znaczniki elektrochemiczne do konstrukcji bioczujnika DNA do detekcji zakażeń wirusowych.* Boron clusters as electrochemical labels to construction of DNA biosensors to detection of viral infections. 17.09.2010 – 16.09.2013, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Kierownik: Dr hab. Agnieszka Olejniczak. Wykonawca.

7. MNiSzW nr K152/H03/2007/10 pt. *Laboratorium skriningowe-wirusologia i bakteriologia* w ramach projektu zamawianego PMZ-MNiSzW-07/I/2007 pt. *Biofosforany oraz oligonukleotydy i ich kontenery jako diagnostyki oraz leki nowych generacji.* 02.01.2008 – 18.12.2010, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Kierownik: Prof. dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski. Główny wykonawca

8. MNiSW nr K152/H03/2007/09 pt. *Fosforany nukleozydów i ich oligomery modyfikowane lipofilowym farmakoforem karboranylowym.* W ramach projektu zamawianego PBZ-MNiSW-07/I/2007 pt. *Biofosforany oraz oligonukleotydy i ich kontenery jako diagnostyki oraz leki nowych generacji.* 02.01.2008 – 18.12.2010, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Kierownik: Prof. dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski. Wykonawca

9. MNiSW N405 051 32/3592 pt. *Pochodne adenozyny modyfikowane klasterami boru – Nowy typ modulatorów funkcji biologicznych ludzkich neutrofilów in vitro.* 22.02.2007 – 15.04.2010, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Kierownik: Prof. dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski. Główny wykonawca

10. MNiSW 1 T09A 121 30 pt. *Metalokarborany – nowy typ znaczników elektrochemicznych do konstrukcji bioczujników DNA.* 05.05.2006 – 04.05.2009, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi. Kierownik: Dr Agnieszka Olejniczak. Wykonawca

11. KBN nr PBZ-KBN059/T09/08 pt. *Grupa kaboranylowa - nowa chemiczna modyfikacja kwasów nukleinowych. Synteza, badanie właściwości fizykochemicznych i biologicznych karboranylo-DNA-oligonukleotydów i ich zastosowania* realizowanego w ramach projektu zamawianego PBZ-KBN-059/T09/2001 pt. *Kwasy nukleinowe i ich analogi jako potencjalne terapeutyki.* 01.09.2002 – 31.08.2005, Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi. Kierownik: Prof. dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski. Główny wykonawca
12. KBN nr 4P05F 006 14 pt. *Modyfikowane borem kwasy nukleinowe dla molekularnej diagnostyki medycznej.* 01.01.1998 – 31.12.2000, Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi. Kierownik: Dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski. Główny wykonawca
13. KBN nr 4.0689.91.01 pt. *Makrofagi i endotelium łożyska (znaczenie dla AIDS).* 01.05.1992 – 31.12.1994, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN we Wrocławiu. Kierownik: Prof. dr hab. Zofia Blach-Olszewska. Wykonawca

WYNALAZEK I ZGŁOSZENIA PATENTOWE

1. Wynalazek nr 189683. „Oligonukleotyd, jego zastosowanie oraz sposób i zestaw do wykrywania obecności DNA wirusa cytomegalii (HCMV)". Leśnikowski Z. J., Przepiórkiewicz M., **Paradowska E.**, Cieślikowski T. 30.09.2005.

Zgłoszenia krajowe:

2. Tytuł wynalazku: „Sposób badania aktywności przeciwwirusowej związków względem HCMV", P 394 695. **Paradowska E.**, Studzińska M., Leśnikowski Z.J., Suski P. 29.04 2011.
3. Tytuł wynalazku: „Pochodna leku przeciwwirusowego", P 394 696. Leśnikowski Z.J., Olejniczak A., Adamska A., **Paradowska E.**, Studzińska M. 29.04.2011.

Zgłoszenie międzynarodowe:

4. Tytuł wynalazku: „Antiviral drug dereivative", PZ/1199/AW. Leśnikowski Z.J., Olejniczak A., Adamska A., **Paradowska E.**, Studzińska M. 29.04.2011.

UDZIAŁ W MIĘDZYNARODOWYCH I KRAJOWYCH KONFERENCJACH NAUKOWYCH

Łączna liczba streszczeń zjazdowych **91** (**7** przed uzyskaniem stopnia doktora, **84** po uzyskaniu stopnia doktora), w tym **45** na konferencjach zagranicznych lub międzynarodowych i **46** na konferencjach krajowych.

Konferencje zagraniczne – jako pierwszy lub ostatni autor: **28,** prezentujący komunikat/poster **15**
m.in. International Conference of Immunology (2013), European Congress of Virology (2013), Annual International Herpesvirus Workshop (2011), Congenital Cytomegalovirus Conference (2010), International Federation of Placenta Association (IFPA) Meeting (2005), European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2004), Meeting of the International Cytokine Society (ICS)/International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR) 1996, 2000.

Konferencje krajowe – jako pierwszy lub ostatni autor: **25**, prezentujący komunikat/poster **24**
m.in. Kongres Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej (1992, 1995, 1998), Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (1996, 2004, 2012), Krajowy Kongres Biotechnologii (1999, 2003, 2007), Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (1999), Kongres Polskiego

Towarzystwa Medycyny Perinatalnej (2002), Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii (2001, 2004, 2006, 2009, 2010), Lubelskie Dni Wirusologiczne (2008, 2010), Zjazd Polskiego Towarzystwa Wirusologicznego (2013).

Wykaz krajowych i zagranicznych komunikatów konferencyjnych umieszczono w ***załączniku 6***.

OTRZYMANE NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

- Nagroda Rektora Uniwersytetu Wrocławskiego dla najlepszych studentów, Wrocław, 1991
- Nagroda Prezesa Rady Ministrów za rozprawę doktorską, Warszawa, 1996
- Grant Fundacji im. Stefana Batorego na uczestnictwo w konferencji First Joint Meeting ICS/ISICR, Genewa, Szwajcaria, 1996
- Grant podróżny The Royal Society, Londyn, Wielka Brytania, 2003
- Nagroda *Bioorganic & Medicinal Chemistry (Elsevier)* za najczęściej cytowany artykuł 2005-2008
- Wyróżnienia za prace przedstawione na konferencjach naukowych: X Konferencji nt. Biologia Molekularna w Diagnostyce Chorób Zakaźnych i Biotechnologii (Warszawa, 2009) i XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (Lublin, 2012).

STAŻE W ZAGRANICZNYCH OŚRODKACH NAUKOWYCH LUB AKADEMICKICH

- Eidgenössische Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau, Zürich Reckenholz, Szwajcaria, czerwiec – wrzesień 1991,
- Danish Cancer Society, Aarhus, Dania, wrzesień 2001,
- Royal Free and University College Medical School, Londyn, Wielka Brytania, maj 2003,
- Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norwegia, październik 2006.

CZŁONKOSTWO W TOWARZYSTWACH NAUKOWYCH I ORGANIZACJACH ZAWODOWYCH

- International Federation of Placenta Associations
- International Cytokine & Interferon Society
- Polskie Towarzystwo Mikrobiologów
- Polskie Towarzystwo Wirusologiczne
- Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych

Członek Rady Naukowej Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w kadencji 1996 – 1998.

RECENZOWANIE MANUSKRYPTÓW DLA REDAKCJI CZASOPISM NAUKOWYCH

2006, 2012	Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, APMIS, *IF(2013/2014) – 1,922*
2013 – 2015	Journal of Medical Virology, *IF(2013/2014) – 2,217*
2014	Viral Immunology, *IF(2013/2014) – 1,636*

RECENZOWANIE PROJEKTU

2012, Narodowe Centrum Nauki, Projekt *Preludium*

EParadowska

6. Działalność dydaktyczna

Promotor prac magisterskich

1. Mgr Agnieszka Płóciennikowska, 2011
   Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, kierunek: biotechnologia, specjalność: biotechnologia medyczna.
   Tytuł pracy: *Analiza genotypowa izolatów wirusa cytomegalii od dzieci z zakażeniem wrodzonym lub nabytym w oparciu o geny kodujące α–chemokiny.*
   Wyróżnienie
2. Mgr Edyta Jaworska, 2012
   Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, kierunek: biotechnologia, specjalność: biotechnologia medyczna.
   Tytuł pracy: Badanie ekspresji receptorów Toll-like 1-10 w łożyskach ludzkich z III trymestru ciąży w odpowiedzi na zakażenia wybranymi herpeswirusami.
   Wyróżnienie
3. Mgr Katarzyna Rudnicka, 2013
   Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, kierunek: biotechnologia, specjalność: biotechnologia medyczna.
   Tytuł pracy: *Polimorfizm genu kodującego TLR9 a ryzyko zakażenia wirusem cytomegalii.*
   Wyróżnienie

Opiekun naukowy prac magisterskich

4. Mgr Magdalena Smołuch, 2003
   Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, kierunek: biologia, specjalizacja: mikrobiologia.
   Tytuł pracy: *Wykrywanie wirusa cytomegalii w ludzkim płynie owodniowym metodą PCR.*
5. Mgr Monika Strycharczyk, 2004
   Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, kierunek: biologia, specjalizacja: mikrobiologia.
   Tytuł pracy: *Badanie zmienności genetycznej ludzkiego wirusa cytomegalii (HCMV) w obszarze genów US13 i US14 oraz ich otoczeniu.*
6. Mgr inż. Cezary Tręda, 2006
   Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biochemii Technicznej, International Faculty of Engineering.
   Tytuł pracy: *Quantitative measurement of mRNA for TNF-α in term human placenta.*
7. Mgr inż. Monika Bęczkowska, 2007
   Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biochemii Technicznej.
   Tytuł pracy: *Zmienność genetyczna w rejonie genów UL144, UL55 i US28 w szczepach klinicznych ludzkiego wirusa cytomegalii izolowanych z przypadków zakażeń wrodzonych oraz od osób z osłabionym układem odpornościowym.*

Opiekun realizacji części doświadczalnej pracy doktorskiej

Dr Mirosława Studzińska, 2008
Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Tytuł pracy: *Wykrywanie i genotypowanie ludzkiego wirusa cytomegalii (HCMV) na podstawie sekwencji genu UL55, UL144 i US28.*
Promotor prof. dr hab. Zbigniew J. Leśnikowski.
Wyróżnienie

Wykłady fakultatywne dla studentów

- *Immunologia ciąży. Wirusowe zakażenia wewnątrzmaciczne* dla studentów Uniwersytetu Wrocławskiego, kwiecień 1993, kwiecień 1994, marzec 1995, Wrocław
- *Wirusologiczna diagnostyka molekularna w oparciu o metody hybrydyzacji kwasów nukleinowych. Zakażenia wrodzone* dla studentów Uniwersytetu Łódzkiego, Instytut Mikrobiologii i Immunologii, styczeń 1999, Łódź.

Referaty/wykłady na warsztatach/konferencjach organizowanych dla środowiska medycznego

- *Zastosowanie metod biologii molekularnej w rozpoznawaniu zakażeń u kobiet ciężarnych i ich noworodków. Warsztaty Diagnostyka zakażeń HCMV u płodu*, Konferencja naukowo-szkoleniowa "I Łódzkie Dni Medycyny Matczyno-Płodowej", 19 kwietnia 2011, Ossa
- *Zastosowanie metod biologii molekularnej w wykrywaniu zakażeń prenatalnych i perinatalnych ludzkim wirusem cytomegalii.* V Kongres Polskiego Towarzystwa Medycyny Perinatalnej Perinatologia XXI wieku, Sesja: Zakażenia u ciężarnych, 26 czerwca 2009, Łódź
- *Wykrywanie wrodzonych zakażeń wirusem cytomegalii.* III Kongres Polskiego Towarzystwa Medycyny Perinatalnej, Sesja: *Zakażenia wirusami w perinatologii*, 28 września 2002, Łódź.

Prowadzenie szkoleń organizowanych w Instytucie Biologii Medycznej PAN w zakresie: 1) technik prowadzenia hodowli komórkowych oraz namnażania i mianowania wybranych wirusów (2010), 2) wybranych technik laboratoryjnych stosowanych w wirusologii (2002, 2010), zastosowania metody PCR w czasie rzeczywistym w badaniach wirusologicznych (2013).

Prowadzenie szkoleń dotyczących edukacji na temat **AIDS** na terenie miasta Wrocławia, 1993-1995.

Członek Komisji Sesji Magistrantów i Doktorantów Łódzkiego Środowiska Chemików. Wydział Chemii Uniwersytetu Łódzkiego (20.06.2011), Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej (18.06.2013), Łódzki Oddział Polskiego Towarzystwa Chemicznego.

Opiekun naukowy praktyk studenckich i zawodowych dla studentów Uniwersytetu Łódzkiego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Politechniki Łódzkiej, Lycée Général et Technologique-Lycée, Francja.

7. Współpraca w instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi w kraju i za granicą

Współpraca z instytucjami krajowymi

- Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii, III Katedra Ginekologii i Położnictwa; Klinika Perinatologii, I Katedra Ginekologii i Położnictwa, Łódź
- Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii, III Klinika Pediatrii, Łódź
- Instytut Centrum Zdrowia Dziecka, Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Warszawa

- *Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Wirusologii, Katedra Mikrobiologii; Klinika Neonatologii, Katedra Ginekologii i Położnictwa; Klinika Chorób Dzieci, Katedra Pediatrii, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Kraków
- Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra i Klinika Pediatrii i Chorób Infekcyjnych, Wrocław
- Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika, Oddział Nefrologii, Wojewódzki Ośrodek Dializ i Transplantologii, Łódź.

Współpraca z instytucjami zagranicznymi

- Norwegian University of Science and Technology, Department of Cancer Research and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Trondheim, Norwegia
- Royal Free, and University College Medical School, Virology Department, Royal Free Campus, Londyn, Wielka Brytania
- A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences, Moskwa, Rosja.

8. Działalność w zakresie popularyzacji nauki

1. Wykłady w instytucjach polskich i zagranicznych popularyzujące badania naukowe.

   Wykaz wygłoszonych wykładów umieszczono w ***załączniku 6***.
2. Festiwalu Nauki, Techniki i Sztuki, 2002 – 2014. Przygotowanie i prowadzenie warsztatów w Instytucie Biologii Medycznej PAN.
3. Wykład pt. *Bakterie i wirusy jako broń biologiczna.* II Festiwal Nauki, Techniki i Sztuki, Łódź, 29 kwietnia 2003.
4. Popularyzacja badań naukowych na Środkowoeuropejskim Forum Biotechnologii i Innowacyjnej BioGospodarki (Central European Business Forum of Biotechnology & Innovative BioEconomy), BioForum, Łódź; 2-5 czerwca 2009; 19-21 maja 2010; 11-12 maja 2010, Łódź.
5. Popularyzacja wiedzy o zakażeniach wrodzonych HCMV oraz projekcie *Prenatalne i perinatalne zakażenia wirusem cytomegalii* na stronie internetowej Instytutu Biologii Medycznej PAN w języku polskim i angielskim (http://www.ibmpan.pl/pl/projekty-pan-ibm/eea-grants/zakazenia-prenatalne-i-perinatalne-ludzkim-wirusem-cytomegalii).
6. Uczestnictwo w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych:

- IV Konferencja Młodych Immunologów Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, 8-10 października 1994, Łódź
- I Ogólnopolskie Mikrosympozjum "Technologie hybrydyzacji DNA w diagnostyce zakażeń wirusem cytomegalii", 16 maja 2000, Łódź
- II Ogólnopolskie Mikrosympozjum "Technologie hybrydyzacji DNA w diagnostyce zakażeń wirusem cytomegalii (HCMV) i innymi herpeswirusami", 25 września 2002, Łódź.

18/06/2015
.....
Data

Edyta Paradowska
.....
dr Edyta Paradowska