



# UNIWERSYTET MEDYCZNY

## IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Zakład Genetyki

prof. dr hab. Maria M. Sasiadek

Wrocław, 18. 12. 2022.

### Ocena

osiągnięć naukowych pani doktor nauk medycznych Agnieszki H. Ludwig-Słomczyńskiej w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, wykonana na podstawie decyzji Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Pani dr Agnieszka Ludwig-Słomczyńska stopień magistra biotechnologii uzyskała w 2003r na Wydziale Chemicznym, kierunku Biotechnologia Politechniki Warszawskiej, na podstawie pracy pt. „Mikrobiologiczna redukcja 1-4-chlorofenyliopropan-2-onu oraz synteza laktonów fosfonianowych”. W 2008r uzyskała stopień doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy „Ocena związku polimorfizmów w receptorach wybranych hormonów z ryzykiem rozwoju raka jajnika”. Promotorem w tym postępowaniu była pani prof. J. Kupriańczyk. W 2012r dr Ludwig-Słomczyńska uzyskała dyplom ukończenia studiów podyplomowych dla tłumaczy tekstów specjalistycznych z języka angielskiego na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie.

Pani dr Agnieszka Ludwig-Słomczyńska w latach 2009-2010 odbyła staż podoktorski w Royal College of Surgeons w Irlandii w Dublinie, jako stypendystka Marie Curie Fellowship FP7. W latach 2012 – 2015 zajmowała stanowisko adiunkta w Katedrze Chorób Metabolicznych, a od 2015r stanowisko adiunkta w Ośrodku Genomiki Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego OMICRON.

### Ocena „osiągnięcia naukowego”

#### **Informacje ogólne:**

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe zatytułowane „Wykorzystanie analiz wysokoprzepustowych w badaniu podłoża genetycznego chorób metabolicznych” stanowi cykl 4 publikacji oryginalnych, opublikowanych w latach 2016 - 2020. Sumaryczny IF tych prac wynosi 16.443 (315 pkt MNiSW). W trzech spośród tych publikacji Habilitantka jest pierwszą autorką, a w jednej pierwszą współautorką.

W skład cyklu weszły następujące publikacje:

1. Ludwig-Słomczyńska AH, Seweryn MT, Kapusta P, Pitera E, Mantaj U, Cyganek K, Gutaj P, Dobrucka Ł, Wender-Ożegowska E, Małecki MT, Wołkow PP. The transcriptome-wide association search for genes and genetic variants which associate with BMI and gestational weight gain in women with type 1 diabetes. *Mol Med*. 2021 Jan 20;27(1):6. doi: 10.1186/s10020-020-00266-z. PMID: 33472578; PMCID: PMC7818927 (IF 6.241, MNiSW 100).
2. Ludwig-Słomczyńska AH, Seweryn MT, Kapusta P, Pitera E, Handelman SK, Mantaj U, Cyganek K, Gutaj P, Dobrucka Ł, Wender-Ożegowska E, Małecki MT, Wołkow PP. Mitochondrial GWAS and association of nuclear - mitochondrial epistasis with BMI in T1DM patients. *BMC Med Genomics*. 2020 Jul 7;13(1):97. doi: 10.1186/s12920-020-00752-7. PMID: 32635923; PMCID: PMC7341625 (IF 3.063, MNiSA 100).
3. Magdalena Szopa, Agnieszka H Ludwig-Galezowska, Piotr Radkowski, Jan Skupien, Julita Machlowska, Tomasz Klupa, Pawel Wolkow, Maciej Borowiec, Wojciech Mlynarski, Maciej T Małecki. A family with the Arg103Pro mutation in the NEUROD1 gene detected by next-generation sequencing—clinical characteristics of mutation carriers, *European Journal of Medical Genetics*, Volume 59, Issue 2, February 2016, Pages 75-79 (IF 2.137, MNiSW 15)
4. Ludwig-Słomczyńska AH, Rehm M. Mitochondrial genome variations, mitochondrial-nuclear compatibility, and their association with metabolic diseases. *Obesity (Silver Spring)*. 2022 Jun;30(6):1156-1169. doi: 10.1002/oby.23424. Epub 2022 May 2. PMID: 35491673.(IF 5.002, MNiSW 100).

Współautorzy artykułów złożyli oświadczenia, w których potwierdzili istotny wkład dr Agnieszki Ludwig-Słomczyńskiej w opracowanie koncepcji, realizację badań i przygotowanie manuskryptów.

### **Ocena merytoryczna cyklu pt „Wykorzystanie analiz wysokoprzepustowych w badaniu podłoża genetycznego chorób metabolicznych”.**

Celem badań Habilitantki było wyjaśnienie etiologii genetycznej wybranych chorób metabolicznych. Pierwsza publikacja z cyklu jest poświęcona badaniom nad znaczeniem wariantów genetycznych w etiologii przyrostu wagi ciała (gestational weight gain; GWG) u kobiet w ciąży. Dotychczasowe badania nad tym zagadnieniem wykazały, obok czynników środowiskowych i przedciążowym BMI (body mass index; BMI) czynniki genetyczne mają istotne znaczenie w etiologii GWG (około 43% w pierwszej i około 26% w drugiej ciąży). Jak wynika z analizy literatury (na którą powołuje się Habilitantka) wykonane w 2018r szeroko-skalowe badania GWAS (genome wide association studies) na dużej populacji (ponad 10 000 badanych) nie doprowadziły do identyfikacji wariantów genetycznych o kluczowym znaczeniu w etiologii genetycznej GWG.

Ten fakt skłonił Autorkę do zastosowania w badaniach odmiennej, nowej techniki badań genetycznych czyli TWAS (transcriptome wide association studies), polegającej na przewidywaniu poziomu ekspresji genów na podstawie analizy danych genotypowych. Metoda TWAS charakteryzuje się „uniezależnieniem” wyników od wpływu czynników środowiskowych, który stanowi ważny czynnik zaburzający analizę

związku między wybraną cechą a poziomem ekspresji genów. Również argumentem za stosowaniem tej metody analizy jest fakt, że łączy się z ograniczeniem liczby testowanych hipotez co zwiększa istotność statystyczną uzyskanych wyników.

Badanie przeprowadzono w grupie 316 ciężarnych kobiet z cukrzycą typu I, a analizy TWAS były prowadzone „na danych pochodzących z innych wielkoskalowych projektów: GIANT, T2D I ARIC”. Autorzy w pierwszym etapie badań wykonali predykcję ekspresji genów dla tkanki tłuszczowej (na danych z projektu GIANT), co pozwoliło na identyfikację 175 genów mających znaczenie dla regulacji BMI. Po przeprowadzeniu analizy dla pacjentek w ciąży z cukrzycą typu I, zidentyfikowano 19 wariantów mających związek z GWG, spośród których trzy osiągnęły wartość znamienności statystycznej  $p\text{-value} < 1E-05$ . Kolejno, autorzy pracy przeprowadzili podobną analizę dla osób z cukrzycą, wykorzystując dane projektów T2D-GENES oraz ARIC. W wyniku tych badań zidentyfikowali krytyczne warianty genetyczne i wykazali, że są one powiązane z genami biorącymi udział w regulacji sekrecji insuliny, homeostazy glukozy, metabolizmem mitochondrialnym, ubiquitynizacją, reakcją zapalną oraz funkcjonowaniem łożyska. Wykazali również, że w etiologii GWG i BMI aktywowane są te same szlaki sygnalizacyjne (Ludwig-Słomczyńska AH, Seweryn MT, Kapusta P, Pitera E, Mantaj U, Cyganek K, Gutaj P, Dobrucka Ł, Wender-Ożegowska E, Małecki MT, Wolkow PP. The transcriptome-wide association search for genes and genetic variants which associate with BMI and gestational weight gain in women with type 1 diabetes. *Mol Med.* 2021 Jan 20;27(1):6).

W kolejnej publikacji z cyklu Habilitantka wraz ze współpracownikami podjęła badania mające na celu identyfikację wariantów genetycznych, mających związek z otyłością. Podjęcie tych badań Habilitantka uzasadniła faktem, iż wprawdzie dotychczas zidentyfikowano niewielką liczbę wariantów powiązanych z BMI, ale w badaniach bliźniąt wykazano wysoką dziedziczność otyłości (40-70%), co oznacza, że nie zidentyfikowano większości wariantów genetycznych, determinujących omawianą cechę (tzw. zagubiona dziedziczność, missing heritability).

Hipoteza badawcza omawianych badań została oparta na teorii mówiącej, że u podstaw omawianych zaburzeń nie leżą zmiany w pojedynczych genach, ale zasadniczą rolę odgrywają interakcje pomiędzy wariantami i ścieżkami sygnałowymi. W związku z tym badania polegały na poszukiwaniu interakcji pomiędzy wariantami genomu mitochondrialnego i genomu jądrowego. Badania przeprowadzono w grupie 435 pacjentów z cukrzycą typu I. Badania przeprowadzono, zgodnie z założeniami na podstawie analizy genomu jądrowego i mitochondrialnego. W pierwszym etapie poszukiwano wariantów DNA jądrowego, które wchodziłyby w interakcję z wariantami DNA mitochondrialnego, na podstawie analizy bazy MitoCarta. W grupie „z cukrzycą typu 1 zidentyfikowano 273 interakcje wariantów genu MT-ND2 z wariantami znajdującymi się w w MitoCarta, a w kohorcie FHS 367”. Wykazano istnienie epistazy genetycznej pomiędzy wariantami MT-ND2 i wariantami dwóch genów (TFAM I POLRMT).

Podsumowując, Habilitantka wraz ze współpracownikami wykazali, że w genetycznej regulacji BMI kluczową rolę odgrywają interakcje pomiędzy wariantami SNPs DNA jądrowego i mitochondrialnego. (Ludwig-Słomczyńska AH, Seweryn MT, Kapusta P, Pitera E, Handelman SK, Mantaj U, Cyganek K, Gutaj

P, Dobrucka Ł, Wender-Ożegowska E, Małecki MT, Wołkow PP. Mitochondrial GWAS and association of nuclear - mitochondrial epistasis with BMI in T1DM patients. BMC Med Genomics. 2020 Jul 7;13(1):97).

Trzeci artykuł spośród zaliczonych do „Osiągnięcia” przedstawiał wyniki badań nad opracowaniem „panelu genów” dla molekularnego rozpoznania cukrzycy monogenowej. Habilitantka wraz ze współpracownikami opracowali panel składający się z 29 genów oraz zoptymalizowali procedurę laboratoryjną i bioinformatyczną do analizy uzyskanych danych. Kolejno, przebadali za pomocą tego panelu klinicznego 156 pacjentów, wśród których znaleźli nową mutację genu NEUROD1, segregującą w rodzinie z cukrzycą co pozwoliło na stwierdzenie, że mutacja jest patogenna i odpowiedzialna za rozwój cukrzycy w badanej rodzinie (Magdalena Szopa, Agnieszka H Ludwig-Galezowska, Piotr Radkowski, Jan Skupien, Julita Machłowska, Tomasz Klupa, Paweł Wolkow, Maciej Borowiec, Wojciech Młynarski, Maciej T Małecki. A family with the Arg103Pro mutation in the NEUROD1 gene detected by next-generation sequencing—clinical characteristics of mutation carriers, European Journal of Medical Genetics, Volume 59, Issue 2, February 2016, Pages 75-79 (IF 2.137, MNiSW 15).

Czwarty artykuł włączony do „Osiągnięcia” jest opracowaniem przeglądowym, w którym autorzy przedstawili najnowsze teorie i wyniki badań nad genetyczną etiologią chorób metabolicznych. Jest to bardzo dobre, aktualne kompendium wiedzy, znakomicie dopełniające cykl badań własnych Habilitantki. (Ludwig-Słomczyńska AH, Rehm M. Mitochondrial genome variations, mitochondrial-nuclear compatibility, and their association with metabolic diseases. Obesity (Silver Spring). 2022 Jun;30(6):1156-1169. doi: 10.1002/oby.23424. Epub 2022 May 2. PMID: 35491673.(IF 5.002, MNiSW 100).

*Podsumowując analizę cyklu publikacji, który jest podstawą postępowania habilitacyjnego pani dr Ludwig-Słomczyńskiej stwierdzam, że trafność, nowatorskość i oryginalność tematyki badawczej jest wysoka, zarówno z badawczego, jak i klinicznego punktu widzenia. Opracowany przez Habilitantkę panel kliniczny dla molekularnej diagnostyki cukrzycy monogenowej będzie miał wielkie znaczenie w postępowaniu klinicznym oraz opiece genetycznej nad pacjentami z podejrzeniem cukrzycy monogenowej oraz członkami ich rodzin.*

*Na podkreślenie również zasługuje wykorzystanie techniki TWAS do poszukiwań zależności pomiędzy cechą kliniczną, determinowaną w modelu wieloczynnikowym a wariantami genetycznymi oraz udowodnienie, że w etiologii otyłości mają znaczenie nie tylko pojedyncze warianty, ale ich interakcje. W szczególności za ważne uważam wykazanie interakcji pomiędzy wariantami DNA jądrowego i mitochondrialnego.*

*Należy również podkreślić fakt, że przeprowadzone badania były finansowane z 2 grantów NCN, a kierownikiem jednego z nich była Habilitantka.*

*Tym samym bardzo wysoko oceniam „Osiągnięcie” naukowe pani dr Ludwig-Słomczyńskiej zarówno z badawczego, metodologicznego, jak i klinicznego punktu widzenia.*

Wszystkie publikacje z cyklu zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym z przyznaniem współczynnikiem wpływu, a w związku z tym są bardzo starannie i rzetelnie przygotowane.

*Poprawność redakcyjną tych prac oceniam jak najwyższą.*

## 1. Ocena metodologiczna pracy:

- a. Dr Ludwig-Słomczyńska i współautorzy ocenianych w cyklu, publikacji cytowali artykuły adekwatne do problemu poruszanego w ich tekście, literatura była aktualna, a sposób wykorzystania informacji zawartych w cytowanych tekstach jest bez zarzutu.
- b. Problemy i hipotezy badawcze w każdym z artykułów cyklu są prawidłowo sformułowane, a przeprowadzone badania odpowiadają na postawione problemy.
- c. Narzędzia badawcze są wysoce nowoczesne i zostały dobrane bezbłędnie i zgodnie z aktualną wiedzą dla realizacji postawionych zadań badawczych.

*Uważam, że od strony metodologicznej publikacje Habilitantki są na najwyższym poziomie.*

## 2. Ocena dorobku naukowego z wyłączeniem publikacji z cyklu habilitacyjnego:

Dorobek naukowy Habilitantki obejmuje 31 publikacji, a sumaryczny IF za wszystkie prace z udziałem Habilitantki wyniósł 111,022 pkt i 1654pkt. MEiN, prace te były cytowane 528 razy (bez autocytowań 514), a IH wynosi 14.

Pani dr Ludwig-Słomczyńska jest również współautorką jednego rozdziału w monografii naukowej (Apoptosis methods in Toxicology; Humana Press/Springer) oraz 1 zgłoszenia patentowego.

### *Ocena osiągnięć naukowo-badawczych:*

Dorobek naukowy dr Ludwig-Słomczyńskiej, poza artykułami, które weszły w skład „Osiągnięcia” stanowi 30 publikacji, a Habilitantka jest pierwszą autorką w 7 pracach. Ponadto, w czasopiśmie Diabetologia ukazały się 2 streszczenia zjazdowe, autorstwa Habilitantki.

Badania naukowe dr Ludwig-Słomczyńskiej poza cyklem prac włączonych do „Osiągnięcia” koncentrowały się konsekwentnie wokół badań molekularnych pacjentów z cukrzycą, poszukiwaniem optymalnych metod badań genetycznych (w tym „klasyfikatora” pacjentów z podejrzeniem cukrzycy monogenowej), opieką medyczną nad pacjentami z cukrzycą z wykorzystaniem metod z zakresu transkryptomiki, badań nad znaczeniem zmian epigenetycznych oraz metaanalizy. Autorzy skupili się głównie na poszukiwaniu mechanizmów genetycznych odgrywających istotną rolę w leczeniu podciśnieniowym pacjentów ze stopą cukrzycową oraz angiogenezą w procesie gojenia ran cukrzycowych. Badania własne zostały poszerzone i uzupełnione o metaanalizę, której wyniki wskazały, że pacjenci leczeni za pomocą terapii podciśnieniowej mają niższe ryzyko amputacji, niż leczeni metodami standardowymi. Druga publikacja oparta na metaanalizie była poświęcona ocenie efektywności metody insulinoterapii u pacjentek w ciąży – wykazano, że metoda ciągłego podskórnego wlewu insuliny za pomocą pompy insulinowej lepiej niż metoda podskórnych wstrzyknięć stabilizuje poziom insuliny u pacjentek, ale też prowadzi do wyższego GWG oraz zwiększa ryzyko makrosomii i niskiej masy urodzeniowej płodu.

Ciekawym obszarem badań dr Ludwig-Słomczyńskiej były badania NGS nad mikrobiomem jelitowym u pacjentów z cukrzycą. Badania te zakończyły się szeregiem ważnych spostrzeżeń, które mogą mieć zna-

czenie kliniczne, jak np. stwierdzenie, że pacjenci z różnymi postaciami cukrzycy różnią się struktura mikrobiomu jelitowego, a w związku z tym powinni otrzymywać inne probiotyki. Wyniki tych badań zostały opublikowane w 9 artykułach oraz zostały opatentowane (1 patent, chroniony w Polsce, UE i USA).

Kolejnym obszarem badań dr Ludwig-Słomczyńskiej były badania nad znaczeniem zmian molekularnych w mitochondriach dla rozwoju i przebiegu cukrzycy.

Habilitantka przedstawiała wyniki swoich badań w formie wykładów na 5 sympoziach krajowych i 1 międzynarodowym oraz w formie plakatów na 26 konferencjach krajowych i międzynarodowych.

*Analiza dorobku Habilitantki pozwala na stwierdzenie, że realizowała projekty o istotnym znaczeniu poznawczym i klinicznym. Prowadzone przez Nią badania były finansowane z grantów, w znacznym stopniu z grantów którymi kierowała.*

*Analiza Jej dorobku wskazuje więc, że zarówno umie kierować zespołami badawczymi, jak też współpracować w ramach projektów kierowanych przez innych badaczy, co stanowi niezbędny warunek prawidłowego rozwoju naukowego i jest dobrym prognostykiem dla dalszego rozwoju naukowego Habilitantki.*

*Podsumowując, wysoko oceniam zarówno „Osiągnięcie” jak i cały dorobek naukowy pani dr Ludwig-Słomczyńskiej.*

#### **Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej:**

- 1. Habilitantka była współorganizatorką 3 konferencji krajowych.**
- 2. Kierowanie międzynarodowymi lub krajowymi projektami badawczymi lub udział w takich projektach:**

Habilitantka kierowała jednym grantem NCN (Sonata, zakończonym w 2018r), jednym grantem EU (zakończonym w 2011r), oraz dwoma grantami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (zakończone w 2018 i 2022r) oraz była wykonawcą w 9 grantach krajowych i dwóch międzynarodowych.

- 3. Udział w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych:**

Habilitantka była współorganizatorką 5 kursów krajowych.

- 4. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych:**

Dr Ludwig-Słomczyńska jest członkiem Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego, Polskiego Towarzystwa Genetycznego, European Association for the Study of Diabetes oraz RNA Society.

- 5. Staże w ośrodkach zagranicznych:**

Pani dr Ludwig-Słomczyńska odbyła 22 miesięczny staż podoktorski w Dublinie, Royal College of Surgeons w ramach Maria Curie Fellowship FP7 oraz 5 krótkoterminowych pobytów (tydzień do 2 tygodni) na kursach i stażach w: Toronto (Kanada), Lyon (Francja), Czeski Krumlow i Berlin oraz Lipsk (Niemcy).

- 6. Habilitantka nie była członkinią komitetów redakcyjnych i rad naukowych.**

- 7. Uczestnictwo w programach europejskich lub innych międzynarodowych:**

Kierownik Grantu Europejskiego (7 Program Ramowy), wykonawczynie w granie Health Research Board Ireland oraz wykonawczynie projektu European Association for the Study of Diabetes.

8. **Recenzentka w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, recenzentka w projekcie NAWA.**
9. **Nagrody:** Habilitantka otrzymała dwukrotnie nagrodę Dyrektora Centrum Onkologii-Institutu im. Marii Skłodowskiej-Curie oraz nagrodę Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego.

#### **Współpraca z otoczeniem:**

Habilitantka jest współautorką 3 patentów

#### **9) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego:**

Dr Ludwig-Słomczyńska prowadzi zajęcia w Szkole Doktorskiej, była opiekunem Koła Studenckiego oraz współorganizatorką 5 kursów z zakresu biologii molekularnej i diabetologii. Jest współorganizatorka Festiwalu Nauki oraz współpracowniczką Uniwersytetu Dzieci.

Jest też aktywną propagatorką wiedzy z zakresu genetyki dla dzieci i dorosłych.

*Podsumowując ten obszar działalności pani dr Ludwig-Słomczyńskiej stwierdzam, że mimo iż jest zatrudniona na etacie naukowym, to prowadzi ciekawą i niestandardową działalność dydaktyczną.*

Chciałabym też podkreślić pozazawodowe zainteresowania Habilitantki, które zaowocowały napisaniem przez Nią czterech książek biograficznych, poświęconych fascynującym postaciom historycznym (Krystyna Skarbek, Mieczysław Bekker, Ernest Malinowski i Simona Kossak),

#### **Wniosek końcowy**

Na podstawie oceny przesłanej mi dokumentacji szczególnego osiągnięcia naukowego (w znaczeniu artykułu 16.2 ustawy) oraz osiągnięć naukowo-badawczych, stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, stwierdzam, że dorobek naukowy pani dr Agnieszki Honoraty Ludwig-Słomczyńskiej w pełni upoważnia do ubiegania się o status samodzielnego pracownika naukowego.

Tym samym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o nadanie pani dr Agnieszce Honoracie Ludwig-Słomczyńskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

