RPW/4176/2022
Data:2022-06-10

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Lekarski Collegium Medicum
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

SCP/1475/2022
ID:17900300002365

Agnieszka H. Ludwig-Słomczyńska
Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Kopernika 7c
Kraków

Wniosek

z dnia 6 czerwca 2022 roku

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie[1] nauki medyczne.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego:

„Wykorzystanie analiz wysokoprzepustowych w badaniu podłoża genetycznego chorób metabolicznych"

Wnioskuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **jawnym***[2]

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl , tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu.

Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

.....
(podpis wnioskodawcy)

[1] Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

[2] * Niepotrzebne skreślić.

1. IMIĘ i NAZWISKO: **AGNIESZKA H. LUDWIG-SŁOMCZYŃSKA (także LUDWIG-GAŁĘZOWSKA)**

2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE:

1998–2003	**Magister biotechnologii (dyplom z wyróżnieniem, indywidualny tok studiów)** Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, kierunek: biotechnologia Specjalność: technologia środków biologicznie czynnych i kosmetyków Temat pracy magisterskiej: *Mikrobiologiczna redukcja 1-4-chlorofenylotio)propan-2-onu* oraz *Synteza laktonów fosfonianowych*
2004–2008	**Doktor nauk medycznych (obrona z wyróżnieniem)** Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa Temat rozprawy doktorskiej: *Ocena związku polimorfizmów w receptorach wybranych hormonów z ryzykiem rozwoju raka jajnika* Promotor: prof. dr hab. n. med. Jolanta Kupryjańczyk
2011–2012	**Dyplom ukończenia studiów podyplomowych dla tłumaczy tekstów specjalistycznych** Język angielski, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH:

2009–2010	Staż podoktorski Marie Curie Fellowship FP7 (NBIP CEMP), Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin
2012–2015	Adiunkt, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Katedra Chorób Metabolicznych
od 2015	Adiunkt, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON

4. WYKAZANIE OSIĄGNIĘCIA* WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

„Wykorzystanie analiz wysokoprzepustowych w badaniu podłoża genetycznego chorób metabolicznych"

Osiągnięcie habilitacyjne zostało przedstawione jako cykl powiązanych tematycznie czterech pozycji. Trzy z nich to prace eksperymentalne, jedna jest pracą przeglądową.

Prace oryginalne

- ***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**

- ***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, MNiSW: 100**

- *Szopa M*, **Ludwig-Gałęzowska AH***, Radkowski P, Skupień J, Machlowska J, Klupa T, Wołkow P, Borowiec M, Młynarski W, Małecki MT. A family with the Arg103Pro mutation in the NEUROD1 gene detected by next-generation sequencing – Clinical characteristics of mutation carriers. Eur J Med Genet. 2016 Feb;59(2):75-9. doi: 10.1016/j.ejmg.2016.01.002. Epub 2016 Jan 8. PMID: 26773576.* **IF: 2,137, MNiSW: 15**

Praca przeglądowa

- ***Ludwig-Słomczyńska AH#**, Rehm M. Mitochondrial genome variations, mitochondrial-nuclear compatibility and their association with metabolic diseases. Obesity 2022, May 2, doi: 10.1002/oby.23424* **IF:5,002, MNiSW:100**

**** pierwszy, równorzędny autor***

 # autor korespondencyjny

Sumaryczny IF prac wchodzących w skład osiągnięcia: 11,441 (wraz z pracą przeglądową 16,443)
Łączna punktacja KBN/MNiSW: 215 (wraz z pracą przeglądową 315)

WSTĘP

Choroby metaboliczne, a wśród nich: otyłość, cukrzyca typu 2 (**ang.** *Type 2 Diabetes mellitus*, T2DM), cukrzyca ciążowa (**ang.** *Gestational diabetes mellitus*, GDM) oraz cukrzyca typu 1 (**ang.** *Type 1 Diabetes mellitus*, T1DM) urosły do rangi epidemii, co czyni je znaczącym problemem zdrowotnym, ekonomicznym i społecznym[1]. Do zachorowania na nie predysponują czynniki genetyczne i środowiskowe. Czynniki środowiskowe to między innymi zmieniający się styl życia – ograniczenie aktywności fizycznej i spożywanie wysokokalorycznej diety – oraz starzenie się społeczeństwa. Badania nad czynnikami genetycznymi wpływającymi na zwiększone ryzyko zapadalności na choroby metaboliczne to wciąż rozwijająca się w nowych kierunkach dziedzina[2].

W Polsce na cukrzycę choruje około 6-7% społeczeństwa, czyli ponad 3 miliony osób; zdecydowana większość – około 90% – to pacjenci z T2DM (https://www.pzh.gov.pl/wp-content/uploads/2020/01/Ekspertyza_cukrzyca_raport_ko%C5%84cowy.pdf). Jednocześnie jednak w ostatnim ćwierćwieczu obserwuje się ponadtrzykrotny wzrost zapadalności na T1DM. Choć pojawiły się próby wyjaśnienia opisywanych trendów, przyczyna zjawiska pozostaje nieznana. Ponadto rozwój metod biologii molekularnej umożliwił wyodrębnienie trzeciej formy cukrzycy – tzw. typ monogenowy, w którym bezpośrednią przyczyną choroby jest występowanie pojedynczych, określonych mutacji genetycznych[3].

W badaniu podłoża genetycznego wszystkich typów cukrzycy niezaprzeczalne zasługi wniosły metody wysokoprzepustowe (wielkoskalowe). Niniejszy cykl publikacji przedstawiony jako Osiągnięcie skupia się na wykorzystaniu metod wysokoprzepustowych w określeniu tła genetycznego związanego z rozwojem i przebiegiem cukrzycy wielogenowej oraz na ich wykorzystaniu w diagnostycznym określeniu przyczyn rozwoju cukrzycy monogenowej.

W przedstawionym Osiągnięciu badania dotyczące cukrzycy typu 1 prowadziłam dzięki wsparciu finansowemu udzielonemu przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu *Poszukiwanie wariantów genetycznych związanych z narastaniem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzycą typu 1 przy zastosowaniu metody badania asocjacji całego genomu*, w którym pełniłam rolę kierownika. Badania dotyczące cukrzycy monogenowej zostały wykonane w ramach grantu Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego *Zastosowanie metody Sekwencjonowania Nowej Generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej w Polsce*, w którym pełniłam funkcję kierownika oraz grantu MNiSW *Poszukiwanie i charakterystyka kliniczna rzadkich form cukrzycy MODY*, w którym pełniłam rolę wykonawcy.

---

[1] J. Divers and others, 'Trends in Incidence of Type 1 and Type 2 Diabetes Among Youths — Selected Counties and Indian Reservations, United States, 2002–2015', *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69.6 (2020), 161–65 <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6906a3>.

[2] 'Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes—2021', *Diabetes Care*, 44.Supplement_1 (2021), S1–2 <https://doi.org/10.2337/dc21-Sint>; Joanne B. Cole and Jose C. Florez, 'Genetics of Diabetes Mellitus and Diabetes Complications', *Nature Reviews Nephrology*, 16.7 (2020), 377–90 <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5>.

[3] LH Carmody D, J Støy, SAW Greeley, GI Bell, Philipson, 'A Clinical Guide to Monogenic Diabetes', in *Genetic Diagnosis of Endocrine Disorders*, 2016, pp. 21–30.

Wykorzystanie metod wysokoprzepustowych do badania podłoża genetycznego cukrzyc wielogenowych

Podłoże genetyczne rozwoju chorób wielogenowych jest już od wielu lat badane za pomocą metod wysokoprzepustowych. Pierwszą tego typu metodą, która znalazła zastosowanie w badaniu podłoża molekularnego także w diabetologii, były badania typu GWAS (*ang. genome-wide association study*, GWAS). W badaniu GWAS poszukuje się znamiennych statystycznie związków między częstością występowania wariantów genetycznych a określonym, badanym fenotypem w dużych kohortach podmiotów badanych[4]. Badania GWAS, jako metoda analizy statystycznej, wskazały na wiele potencjalnie interesujących związków między wariantami a rozwojem chorób. Niestety interpretacja tych wyników była często trudna lub niemożliwa, gdyż część rezultatów wskazywała na warianty zlokalizowane w tzw. pustyniach genowych, a więc w miejscach, gdzie nie jest kodowane żadne białko, które są położone bardzo daleko od miejsc kodujących jakiś gen lub których rola w genomie była nieznana. Badania GWAS były więc przyczynkiem do rozwoju innych gałęzi genetyki, które miały na celu wyjaśnienie znaczenia i funkcji rejonów niekodujących (np. projekt ENCODE). Równocześnie jednak podjęto próby poszukiwania nowych metod analitycznych, których wyniki byłyby łatwiejsze w interpretacji[5].

Metodologia TWAS

Jedną ze wspomnianych metod jest metoda TWAS (**ang.** *transcriptome wide association study*, TWAS), która umożliwia predykcję ekspresji genów na podstawie danych genotypowych[6]. Zabieg taki jest możliwy, gdyż wiele sygnałów pochodzących z badań GWAS lokalizowało się blisko wariantów, o których wiadomo, że wpływają na poziom ekspresji genów, tzw. eQTL (**ang**. *expression quantitative trait loci*, eQTL)[7]. Metoda TWAS opiera się więc na przeprowadzeniu imputacji ekspresji, czyli przewidywaniu ekspresji genu w zależności od występowania określonych wariantów genetycznych. Następnie przeprowadza się analizę związku zimputowanej ekspresji genów z badaną cechą, otrzymując pulę genów, które mogą być potencjalnie związane z określonym fenotypem. Tak uzyskane wyniki są więc wolne od wpływu czynników środowiskowych na badany fenotyp oraz „wstecznej przyczynowości", w której dana cecha wpływa na ekspresję genu. Ponadto w związku z ograniczeniem liczby testowanych hipotez zwiększa się istotność statystyczna, a interpretacja wyników staje się

---

[4] Angli Xue and others, 'Genome-Wide Association Analyses Identify 143 Risk Variants and Putative Regulatory Mechanisms for Type 2 Diabetes', *Nature Communications*, 9.1 (2018), 2941 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04951-w>; Flemming Pociot, 'Type 1 Diabetes Genome-Wide Association Studies: Not to Be Lost in Translation', *Clinical & Translational Immunology*, 6.12 (2017), e162 <https://doi.org/10.1038/cti.2017.51>; Lina Cai and others, 'Genome-Wide Association Analysis of Type 2 Diabetes in the EPIC-InterAct Study', *Scientific Data*, 7.1 (2020), 393 <https://doi.org/10.1038/s41597-020-00716-7>.

[5] Eddie Cano-Gamez and Gosia Trynka, 'From GWAS to Function: Using Functional Genomics to Identify the Mechanisms Underlying Complex Diseases', *Frontiers in Genetics*, 11 (2020) <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00424>.

[6] Eric R. Gamazon and others, 'A Gene-Based Association Method for Mapping Traits Using Reference Transcriptome Data', *Nature Genetics*, 47.9 (2015), 1091–98 <https://doi.org/10.1038/ng.3367>.

[7] Farhad Hormozdiari and others, 'Colocalization of GWAS and EQTL Signals Detects Target Genes', *American Journal of Human Genetics*, 99.6 (2016), 1245–60 <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.10.003>.

łatwiejsza[8]. W związku z powyższym postanowiłam zastosować metodologię TWAS do poszukiwania wariantów genetycznych, które mogłyby być związane z przyrostem masy ciała w ciąży u kobiet z cukrzycą typu 1.

Dotychczas przyrost masy ciała w ciąży (**ang.** *gestational weight gain*, GWG) u kobiet z cukrzycą typu 1 był analizowany głównie w badaniach retrospektywnych i obserwacyjnych[9]. Ich nadrzędnym celem było znalezienie związku między GWG a czynnikami środowiskowymi. Opublikowane badania molekularne były stosunkowo nieliczne, choć wskazywały na związek GWG z czynnikami genetycznymi (aż 43% przy pierwszej ciąży i 26% przy drugiej). Pierwsze badanie typu GWAS mające na celu znalezienie wariantów genetycznych modyfikujących GWG w populacji ogólnej zostało przeprowadzone w 2018 roku. Pomimo kohorty, liczącej ponad 10 000 osób, nie udało się wskazać wariantów genetycznych związanych z badaną cechą (ze znamiennością statystyczną istotną przy badaniu całego genomu)[10]. Badanie potwierdziło jednak aż dwudziestoprocentowy udział czynników genetycznych w przyroście masy ciała u kobiet w ciąży. Z drugiej strony, wcześniejsze badania obserwacyjne wskazywały, że istnieje korelacja między GWG i przedciążowym BMI (**ang.** *body mass index*, BMI)[11]. Dlatego, aby zidentyfikować warianty genetyczne, które mogą modulować GWG, postanowiłam wykorzystać metodologię TWAS i ograniczyć poszukiwanie istotnych wariantów tylko do genów, które wcześniej wykazały związek z BMI.

Badanie bazowało na danych genotypowych uzyskanych od 316 kobiet z cukrzycą typu 1. Pacjentki rekrutowane były w dwóch ośrodkach naukowych: Klinice Chorób Metabolicznych Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie oraz Klinice Rozrodczości Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Materiał genetyczny pochodzący z krwi pacjentek został zgenotypowany przy użyciu macierzy Illumina OmniExpress Exome i poddany kontroli jakości (**ang.** *Quality control*, QC) w Ośrodku Genomiki Medycznej OMICRON na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum. Analizy TWAS przeprowadzone były na danych pochodzących z innych wielkoskalowych projektów, tj.: GIANT, T2D Genes i ARIC.

Analiza składała się z kilku etapów. W pierwszym kroku poprzez badanie TWAS zidentyfikowaliśmy geny, które wpływają na BMI. Badanie TWAS dla populacji ogólnej zostało przeprowadzone na danych pochodzących z projektu GIANT (234 069 osób). Predykcję ekspresji wykonaliśmy dla tkanki tłuszczowej. W efekcie w populacji ogólnej zidentyfikowaliśmy 175 genów związanych z BMI. W kolejnym kroku przeprowadziliśmy poszukiwanie wariantów genetycznych zlokalizowanych w oknie 1Mb wokół tych genów

---

[8] Nicholas Mancuso and others, 'Integrating Gene Expression with Summary Association Statistics to Identify Genes Associated with 30 Complex Traits', *American Journal of Human Genetics*, 100.3 (2017), 473–87 <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.01.031>; Binglan Li and others, 'Evaluation of Predixcan for Prioritizing GWAS Associations and Predicting Gene Expression', in *Pacific Symposium on Biocomputing*, 2018, 0, 448–59 <https://doi.org/10.1142/9789813235533_0041>.

[9] Anna Maria Siega-Riz and others, 'The Current Understanding of Gestational Weight Gain Among Women with Obesity and the Need for Future Research', *NAM Perspectives*, 2020 <https://doi.org/10.31478/202001a>.

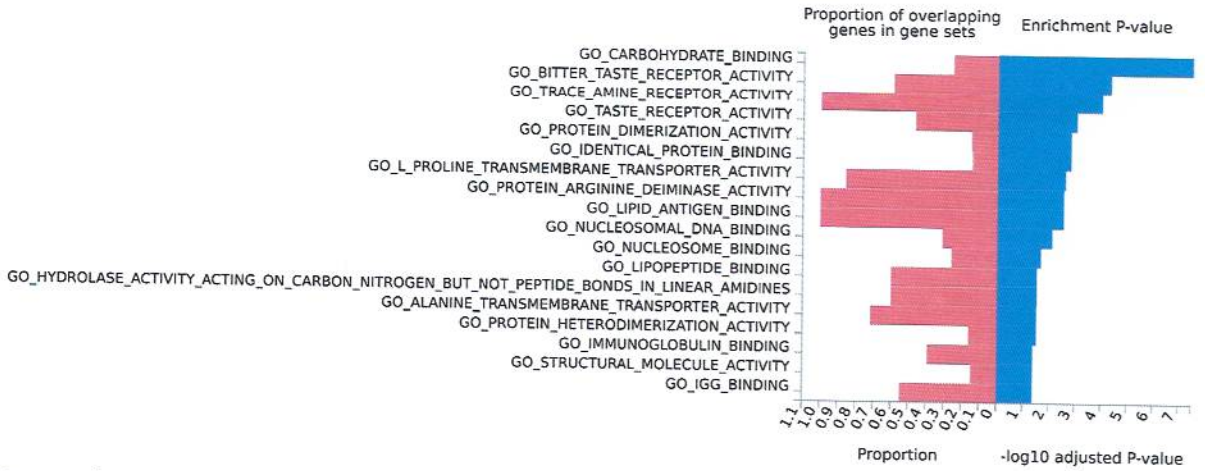
[10] N. M. Warrington and others, 'Maternal and Fetal Genetic Contribution to Gestational Weight Gain', *International Journal of Obesity*, 42.4 (2018), 775–84 <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.248>.

[11] Ellen Luecke and others, 'Similarities in Maternal Weight and Birth Weight Across Pregnancies and Across Sisters', *Maternal and Child Health Journal*, 2019, 138–47 <https://doi.org/10.1007/s10995-018-2602-2>.

z przyrostem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzycą typu 1. Po przesianiu wyników (MAF > 5%, p-value < 1E-04) zidentyfikowaliśmy 19 wariantów wykazujących związek z GWG. Wartość znamienności statystycznej p-value < 1E-05 miały trzy warianty: rs11465293 zlokalizowany w genie *CCL24*, rs1978202 zlokalizowany w genie *CCL26* oraz rs9347707 z genu *PACRG*. Zidentyfikowane warianty poddano analizie FUMA, która, priorytetyzując je, wskazała na ich związek z parametrami krwi, poziomem cholesterolu, niealkoholową chorobą stłuszczenia wątroby (**ang.** *non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD) i ciśnieniem krwi.

W kolejnym kroku analogiczną analizę przeprowadzono odnośnie do osób z cukrzycą. Z powodu braku danych dla osób z cukrzycą typu 1 wykorzystane zostały dane dostępne z projektów T2D-GENES (590 osób) oraz ARIC (8746 osób), w których badano osoby z cukrzycą typu 2. W pierwszym etapie w analizie predykcji ekspresji zidentyfikowaliśmy 1812 genów związanych z BMI. Analiza związku wariantów genetycznych w nich zlokalizowanych z GWG wskazała 207 wariantów (MAF > 5%, p-value < 1E-04), z których 20 wykazywało związek z badaną cechą na poziomie znamienności statystycznej p-value < 1E-05: rs9690213 (*PODXL*), rs11465293 (*CCL24*), rs9393623 (*CMAHP*), rs4796675 (*LINC00974*), rs1978202 (*CCL26*), rs8080053 (*LINC00974*), rs12534221 (*PODXL*), rs6747327 (*CAPN13*), rs4742339 (*KANK1*), rs11714248 (*TRANK1*), rs9347707 (*PCARG*), rs1398095 (*CAPDS*), rs9940705 (*FAM92B*), rs2421052 (*AC008691*), rs6815557 (*LOC107986225*), rs12788347 (*AL137224*), rs11235519 (*AP005019.4*), rs6546217 (*AC118345.1*), rs7609526 (*AC118345.1*). Analizy ścieżek sygnałowych wykazały związek genów, w których znajdują się warianty z chorobami autoimmunologicznymi, receptorami smaku i wiązaniem węglowodanów (Rysunek 1).

Powyższe wyniki po raz pierwszy wskazują warianty genetyczne wpływające na GWG. Badanie umożliwiło identyfikację wariantów, które miały związek z badaną cechą w kohorcie ogólnej, tylko w kohorcie cukrzycowej oraz w obu badanych grupach. Lokalizacja wariantów genetycznych umożliwia interpretacje wyników poprzez sugerowanie możliwych mechanizmów działania[12].



Rysunek 1. *Analiza KEGG wariantów związanych z GWG położonych w genach związanych z BMI w kohortach ARIC I T2D*

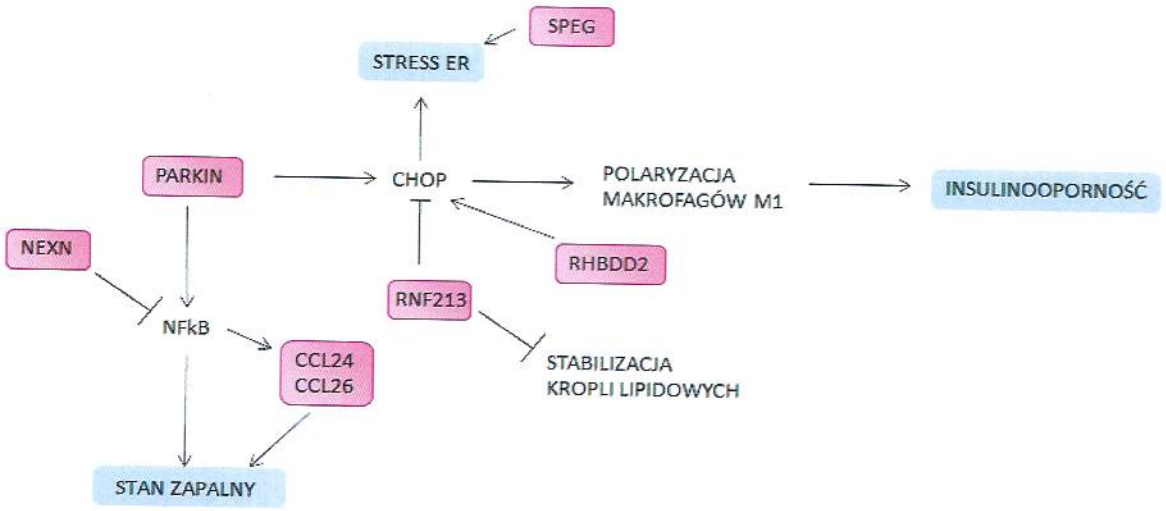
[12] Mengrong Cheng and others, 'Computational Analyses of Obesity Associated Loci Generated by Genome-Wide Association Studies', *PLoS ONE*, 13.7 (2018) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199987>.

Warianty rs1978202 i rs11465293 zidentyfikowane w obu kohortach zlokalizowane są w genach *CCL24* i *CCL26*. Białka CCL24 i CCL26 to chemoatraktanty działające prozapalnie. Wykazano, że zwiększona ekspresja ich receptora koreluje z wyższym BMI i spada po operacji bariatrycznej. *CCL26* jest związany z powstawaniem beżowej tkanki tłuszczowej w odpowiedzi na zimno. Wariant rs9347707, także związany z GWG w obu badanych grupach chorych, zlokalizowany jest w genie *PACRG1* zaangażowanym w mitofagię i ubikwitynację. Deplecja *PACRG1* blokuje przekazywanie sygnału w szlaku NFκB, zwiększa ekspresję CHOP w tkance tłuszczowej i prowadzi do zwiększenia odpowiedzi prozapalnej i insulinooporności.

Zidentyfikowaliśmy sześć wariantów genetycznych (rs4742339, rs11235519, rs1978202, rs13340504, rs4796675, rs13340504) zlokalizowanych w genie *RHBDD2*, które związane są z GWG. Wiadomo, że wyciszenie ekspresji *RHBDD2* prowadzi do zwiększenia ekspresji ATF6, IRE1, PERK, CRT, BiP, ATF4 i CHOP i w efekcie – stresu retikulum endoplazmatycznego (stresu ER).

Nasza analiza wykazała także związek z GWG trzech wariantów genetycznych – rs9659938, rs11807240, rs2136682 – zlokalizowanych w genie *NEXN* lub będących dla niego wariantami eQTL. Gen *NEXN* jest zaangażowany w odpowiedź immunologiczną. Wykazano, że zwiększenie ekspresji antysensownego RNA (*NEXN-AS1*) prowadzi do inhibicji oligomeryzacji TLR4, aktywacji NFκB i zmniejszenia odpowiedzi zapalnej. Ponadto wykazano, że podwyższona ekspresja NEXN koreluje z wysokim stężeniem cukru we krwi.

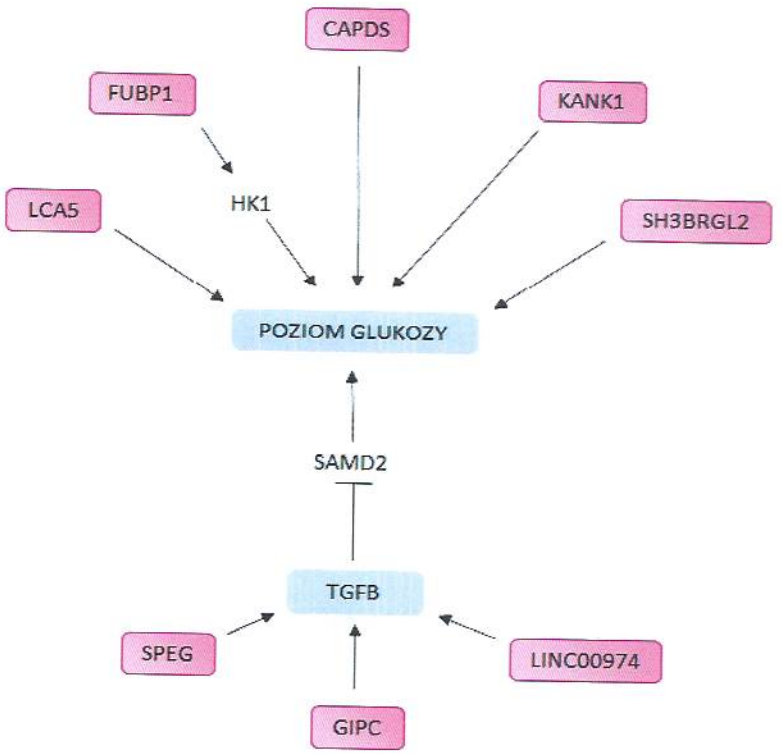
W badaniu zidentyfikowaliśmy także warianty w genie *RNF213*, którego nokaut u myszy Akita (będących zwierzęcymi modelami cukrzycy typu 1) powoduje obniżenie poziomu cukru we krwi o 20% i zwiększa sekrecję insuliny o 150% w porównaniu do zwierząt bez nokautu. Prawdopodobnie RNF213 chroni przez lipotoksycznością poprzez zmniejszenie śmierci komórkowej indukowanej przez palmitynian. Wpływa również na niezależne od mitochondriów wykorzystanie tlenu. RNF213 lokalizuje się w kroplach tłuszczowych będących miejscem magazynowania lipidów, wpływając na ich stabilizację. Rysunek 2 przedstawia schematycznie zależności między genami, w których zlokalizowane są warianty związane z GWG i procesami komórkowymi.



Rysunek 2. *Schematyczne przedstawienie ścieżek sygnalizacyjnych (niebieskich), w których zlokalizowane są geny (różowe), których warianty związane są z GWG*

Inne zidentyfikowane przez nas warianty genetyczne związane były ze szlakiem sygnalizacyjnym TGFβ (rs2136682 – *GIPC2*, rs9690213, rs9393623, rs1978202 – eQTL dla *LINC000974,* rs1978202, rs4796675, rs8080053 – *LINC000974*, rs7564856 – *SPEG).* Gen *GIPC2* związany jest z regulacją proliferacji, cytokinezą oraz transbłonowym przekazywaniem białek. Jest też niezbędny do utrzymywania błonowej ekspresji receptorów IGF1R i TGFβR3. Inhibicja *LINC000974* prowadzi do sekrecji TGFβ i hamuje fosforylację SMAD2. Zarówno TGFβ, jak i białka SMAD mają wpływ na sekrecję insuliny. Wykazano, że zmniejszenie ekspresji SMAD4 zwiększa tolerancję glukozy i indukowaną przez glukozę sekrecję insuliny (Rysunek 3). Wykazano ponadto, że ekspresja genu *SPEG* jest zwiększona u sportowców trenujących sporty wytrzymałościowe w stosunku do osób trenujących sporty wysiłkowe. Eksperymenty immunoprecypitacji wykazały, że SPEG wiąże się z białkami JNK i TGFβ, wpływającymi na sygnalizację szlaku insuliny i odpowiedź na stres ER (Rysunki 2, 3).

W wyniku analiz zidentyfikowaliśmy także grupę genów, które mogą być związane z utrzymywaniem homeostazy glukozy we krwi oraz funkcjonowaniem trzustki (rs72849841 – *RNF213,* rs11807240 – *FUBP1,* rs9352745 – eQTL dla *SH3BRGL2, rs7609526 – KANK1). FUBP1* jest odpowiedzialny za regulację poziomu ekspresji genów *Hk1* i *Hk2* będących głównymi regulatorami glikolizy. Wariant rs9352745 jest eQTL dla genu SH3BRGL2, którego ekspresja w metaanalizach powiązana została z cukrzycą typu 1, typu 2 i cukrzycą ciężarnych. Wariant rs7609526 w genie *KANK1* został wcześniej powiązany w badaniach GWAS z poziomem glukozy i insuliny na czczo. Gen *CADPS* prawdopodobnie bierze udział w regulacji sekrecji insuliny, gdyż region ten podlega różnej metylacji w zależności od poziomu HbA1c (Rysunek 3).



Rysunek 3. Geny, których warianty związane są z GWG (różowe) i które wpływają na regulację glukozy i sygnalizacje TGFβ (niebieskie)

W badaniu poszukiwaliśmy także odwrotnej korelacji – wpływu genów związanych z GWG na BMI. W kohorcie GIANT zidentyfikowaliśmy 648 genów i 2091 wariantów w nich zlokalizowanych związanych z GWG i wpływających na BMI. Wiele spośród nich znajdowało się w bazie GWAS Catalog, w której wykazano ich związek z rozkładem tkanki tłuszczowej, częstością uprawiania sportu, wzrostem, poziomem lipoprotein oraz poziomem cholesterolu. Dane uzyskane na podstawie kohorty ARIC wykazały 15 wariantów związanych z BMI. Wśród nich były warianty w genach *MCTP1*, *SOX6*, *ATP5G3*, *ZFHX2-AS1*, *HSPB8*, *ADIPOR1*, *SLC24A2* czy *PGC-1*. Geny te wpływają na kontrolę sytości, promocję adipogenezy, regulację metabolizmu glukozy i kwasów tłuszczowych czy kontrolę transkrypcji mitochondrialnej. Wyniki te potwierdzają adekwatność zastosowanej przez nas metodologii do badanego procesu.

Podsumowując, można stwierdzić, że uzyskane wyniki po raz pierwszy wskazują na warianty genetyczne związane z przyrostem masy ciała u kobiet w ciąży. W badaniu wskazaliśmy na warianty charakterystyczne dla populacji ogólnej oraz te, które mogą być związane z obecnością cukrzycy. Ponadto nasze wyniki potwierdzają związek GWG i BMI na poziomie genetycznym. Nasze badanie wskazuje też na szlaki i ścieżki sygnalizacyjne, która są charakterystyczne dla GWG, BMI lub obu fenotypów. Powyższe wyniki zawarłam w pierwszej publikacji składającej się na osiągnięcie naukowe **[Ludwig-Słomczyńska AH, 2021]**.

Metodologia epistazy genetycznej

Jak napisałam we wstępie, badania typu GWAS umożliwiły identyfikację związków wariantów genetycznych z określonymi fenotypami. W przypadku badania przyczyn otyłości przeprowadzone analizy doprowadziły jednak do wskazania jedynie relatywnie niewielkiej liczby wariantów genetycznych związanych z BMI. Jednocześnie badania bliźniąt wskazują na wysoką dziedziczność otyłości (**ang**. *heritability*). Uważa się, że 40–70% zmienności BMI zależne jest od genów[13]. Wskazuje to na fakt, że znacznej części podłoża genetycznego, które wpływa na ten fenotyp, nie udało się, jak dotąd, zidentyfikować. Różnica między wartością oczekiwaną na podstawie badań rodzinnych i znalezioną w badaniach GWAS nazywana jest nieodkrytą (zgubioną) dziedzicznością (**ang.** *missing heritability*)[14]. Zaproponowano wiele różnych teorii dotyczących przyczyn tego stanu rzeczy, a także kierunków dalszych poszukiwań. Jedna z teorii mówi o konieczności badania zmian epigenetycznych, inna sugeruje, że należy szukać związku z wariantami rzadszymi, czyli występującymi w populacji z częstością mniejszą niż 5%[15], zaś kolejna, że zmienność ta ukryta jest nie w pojedynczych wariantach genetycznych, ale w ich interakcjach[16]. Metodą analizy odpowiednią dla tej

---

[13] Noah Zaitlen and others, 'Using Extended Genealogy to Estimate Components of Heritability for 23 Quantitative and Dichotomous Traits', *PLoS Genetics*, 9.5 (2013) <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003520>.

[14] A. E. Locke and others, 'Genetic Studies of Body Mass Index Yield New Insights for Obesity Biology', *Nature*, 518.7538 (2015), 197–206 <https://doi.org/10.1038/nature14177>.

[15] A. Sazonovs and J.C. Barrett, 'Rare-Variant Studies to Complement Genome-Wide Association Studies', *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 19.1 (2018), 97–112 <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083117-021641>.

[16] Anlu Chen and others, 'Widespread Epistasis Regulates Glucose Homeostasis and Gene Expression', ed. by Gregory S. Barsh, *PLOS Genetics*, 13.9 (2017), e1007025 <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007025>; Brooke Sheppard and others, 'A Model and Test for Coordinated Polygenic Epistasis in Complex Traits',

ostatniej teorii jest analiza epistazy genetycznej, w której bada się związek dwóch lub więcej alleli z cechą fenotypową. Ujawnienie się cechy jest zależne od obecności wszystkich badanych wariantów. Taką metodologię postanowiłam zastosować w poszukiwaniu wariantów genetycznych związanych z BMI u kobiet chorujących na cukrzycę typu 1.

Zmiany masy ciała i otyłość są postrzegane jako choroba zaburzenia bilansu między ilością energii dostarczanej organizmowi a ilością energii przez niego zużywanej. Głównymi organellami odpowiedzialnymi za produkcję energii w organizmie są mitochondria. Mitochondria to jedyne organelle, które posiadają swój własny genom – genom mitochondrialny, który koduje 37 genów. Wśród nich jest 13 białek wchodzących w skład łańcucha oddechowego, 2 rRNA oraz 22 tRNA niezbędne do translacji. W naszym badaniu zdecydowaliśmy się zatem poszukać związków wariantów genetycznych genomu mitochondrialnego z BMI oraz epistazy genetycznej pomiędzy wariantami genomu mitochondrialnego i genomu jądrowego[17].

Podobnie jak w poprzedniej pracy, w badaniu wzięły udział kobiety z cukrzycą typu 1 (435 osób). Pacjentki zostały zrekrutowane w Klinice Chorób Metabolicznych Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie oraz Klinice Rozrodczości Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Materiał genetyczny pochodzący z krwi pacjentek został zgenotypowany przy użyciu macierzy Illumina OmniExpress Exome i poddany kontroli jakości (QC) w Ośrodku Genomiki Medycznej OMICRON na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum.

Analiza mitoGWAS została przeprowadzona na 42 wariantach genomu mitochondrialnego. Zidentyfikowaliśmy 4 nominalnie znamienne związki wariantów genetycznych z BMI, spośród których jeden – rs28357980 – znajduje się w genie kodującym białko. Wariant prowadzi do zmiany asparaginy na kwas asparaginowy w pozycji 150 białka MT-ND2 będącego składnikiem kompleksu I łańcucha oddechowego. Związek tego wariantu genetycznego z BMI potwierdziliśmy także w niezależnej kohorcie Framingham Heart Study (FHS), w której badaliśmy 87 wariantów mitochondrialnych u 1889 pacjentów.

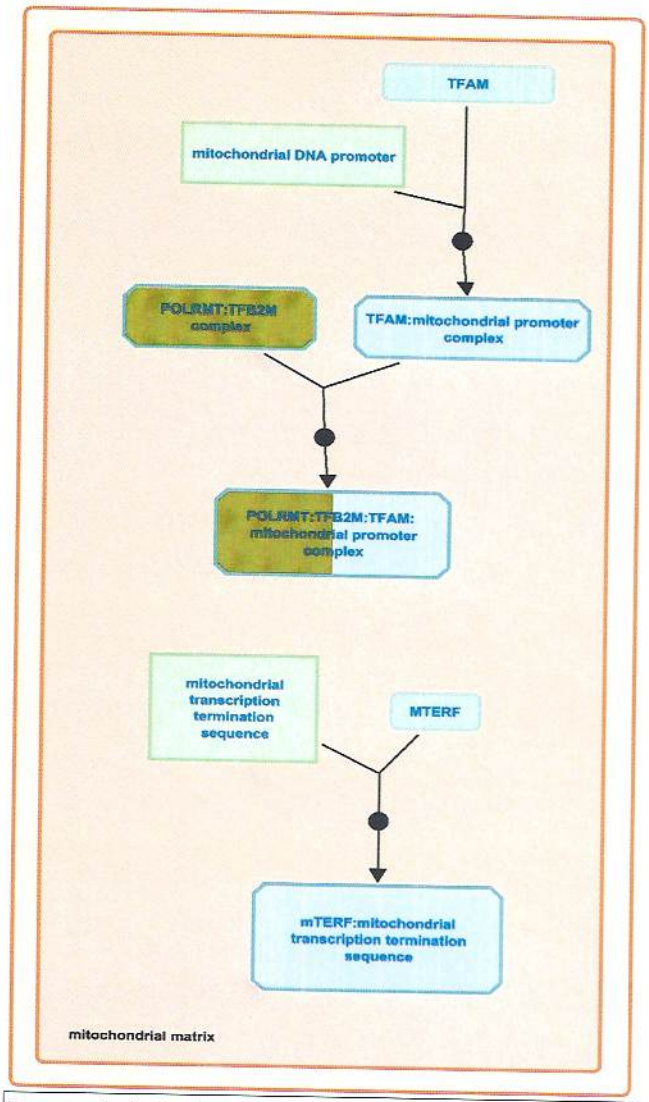
Aby efektywnie produkować energię, musi istnieć ścisła komunikacja między genomem mitochondrialnym i jądrowym. Dlatego w kolejnym etapie poszukiwaliśmy wariantów genetycznych zlokalizowanych w genomie jądrowym, które wchodziłyby w interakcję z wariantami mitochondrialnymi zlokalizowanymi genie *MT-ND2*. Nasze poszukiwania przeprowadziliśmy w bazie MitoCarta, zawierającej listę genów, dla których wykazano związek z działaniem mitochondriów. W kohorcie pacjentek z cukrzycą typu 1 zidentyfikowaliśmy 273 interakcje wariantów genu *MT-ND2* z wariantami genów znajdujących się w MitoCarta, zaś w kohorcie FHS – 367 interakcji. Analiza z użyciem Reactome umożliwiła przyporządkowanie uzyskanych wariantów do określonych szlaków sygnałowych. Należały one do następujących ścieżek: cykl kwasów karboksylowych, metabolizm aminokwasów, mitochondrialny import białek, metabolizm pirogronianu, łańcuch oddechowy i biogeneza

---

Proceedings of the National Academy of Sciences, 118.15 (2021), e1922305118 <https://doi.org/10.1073/pnas.1922305118>.

[17] Pedro M. Quirós, Adrienne Mottis, and Johan Auwerx, 'Mitonuclear Communication in Homeostasis and Stress', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2016, 213–26 <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.23>; M. D. Doynova and others, 'Interactions between Mitochondrial and Nuclear DNA in Mammalian Cells Are Non-Random', *Mitochondrion*, 30 (2016), 187–96 <https://doi.org/10.1016/j.mito.2016.08.003>.

mitochondriów (FDR < 1E-05). Ta ostatnia kategoria ma prawdopodobnie największy wpływ na produkcję energii. W Reactome ścieżka ta składa się z 17 genów (*POLRMT, TFB1M, TFB2M, TFAM, MTERF, PERM1, ATP5B, SSBP1, SIRT3, POLG2, PPARGC1A, CYCS, NRF1, ALAS1, PEO1, GABPA, ESRRA*), spośród których 5 było obecnych w naszej analizie – 2 warianty w *SIRT3* (rs113919457, rs11607019), 1 wariant w *ATP5B* (rs2950393), 1 wariant w *CYCS* (rs10215217), 1 w *POLRMT* (rs41542013) i 1 w *TFB2M* (rs6701836).



Rysunek 4. *Rola TFB2M i POLRMT w transkrypcji mitochondrialnej*

Te dwa ostatnie geny są ściśle związane z transkrypcją mitochondrialną (Rysunek 4). TFB2M jest mitochondrialnym czynnikiem transkrypcyjnym, który wraz z TFAM tworzy kompleks promotorowy i umożliwia działanie mitochondrialnej polimerazie POLRMT. Przyjrzeliśmy się więc związkom między wariantem mitochondrialnym a wariantami w tych genach. Nasza analiza wykazała obecność epistazy genetycznej miedzy wariantem rs30210888 (*MT-ND2*) i rs6701836 (*TFB2M*), ponieważ obecność tych dwóch wariantów zmniejszała BMI [p(inter) = 0,0241], podczas gdy pojedyncze warianty nie miały takiego efektu. Podobnie potwierdziliśmy istnienie epistazy dla wariantu rs30210888 (*MT-ND2*) oraz rs41542013 (*POLRMT*), gdzie obecność dwóch wariantów prowadziła do wzrostu BMI [p(inter) = 0,0004], a każdy z wariantów z osobna nie miał takiego wpływu na tę cechę. Badanie funkcjonalne na podstawie analizy danych z projektu GTEx potwierdziło istnienie interakcji między wskazanymi wariantami. W wątrobie poziomy ekspresji genów *MT-ND2* oraz *TFB2M* korelowały z wyższym BMI, lecz ich interakcja prowadziła do związku z niższym BMI [p = 0,0308, inter_eff = 1,009E-05]. W podskórnej tkance tłuszczowej poziomy *MT-ND2* i *POLRMT* korelowały z niższym BMI, podczas gdy ich interakcja prowadziła do związku z wyższym BMI [p = 0,0235, inter_eff = 1,023E-05].

W podsumowaniu w naszym badaniu wykazaliśmy, że metoda epistazy genetycznej prowadzi do odkrycia zależności miedzy wariantami genetycznymi, które mogą modulować efekty fenotypowe w sposób odmienny, niż jeśli są rozpatrywane odrębnie. Ponadto wykazaliśmy, że w przypadku badania fenotypu, jakim jest BMI, w kohorcie osób z cukrzycą, istnieje związek, potwierdzony badaniem epistazy genetycznej, między wariantami zlokalizowanymi w genomie jądrowym i mitochondrialnym. Powyższe wyniki zawarłam

w drugiej publikacji składającej się na Osiągnięcie naukowe **[Ludwig-Słomczyńska AH, 2020]**. W oparciu o dane doświadczalne dokonałam również przeglądu piśmiennictwa na temat związku mitochondrialnych wariantów genetycznych i haplogrup z rozwojem chorób metabolicznych, tj. otyłości i cukrzycy **[Ludwig-Słomczyńska AH, 2022]**.

Wykorzystanie metody sekwencjonowania następnej generacji do diagnozowania cukrzycy monogenowej w Polsce

Jak wspomniałam we wstępie, formy monogenowe cukrzycy są wynikiem mutacji pojedynczych genów. Do tej grupy chorób należą: cukrzyca typu MODY (**ang.** *Maturity Onset Diabetes of the Young*, MODY), cukrzyca mitochondrialna (**ang.** *Maternally Inherited Diabetes with Deafness*, MIDD), utrwalona cukrzyca noworodkowa (**ang.** *Permanent Neonatal Diabetes Mellitus*, PNDM), ciężkie formy oporności na insulinę oraz szereg innych[18]. Formy monogenowe dotyczą kilku procent wszystkich pacjentów z cukrzycą, czyli kilkudziesięciu tysięcy osób w Polsce.

Mutacje sprawcze najczęściej występują w genach, które kodują białka odgrywające istotną rolę w sekrecji insuliny. Ponieważ genów tych jest kilkanaście, a pacjentów charakteryzuje znaczna różnorodność fenotypowa, która występuje nawet wśród nosicieli tej samej mutacji, diagnostyka różnicowa nie jest zadaniem łatwym. Jednocześnie jednak właściwa diagnoza molekularna i rozpoznanie różnicowe mają znaczenie dla prawidłowego rozumienia patogenezy choroby, doboru terapii hipoglikemizującej, rokowania dla chorego oraz jego krewnych[19]. Historycznie badania takie wykonywano za pomocą metody sekwencjonowania Sangera. Na podstawie fenotypu pacjenta i historii rodzinnej typowano, jako potencjalnie sprawczy, jeden z genów związanych z rozwojem cukrzycy monogenowej, a sekwencjonowaniu poddawano tylko ten rejon genomu. Przepustowość takiego procesu, a także jego koszt powodowały, że na tego typu badania kierowani byli tylko pacjenci, których obraz kliniczny i analiza rozkładu choroby w rodzinie jednoznacznie wskazywały na podejrzenie cukrzycy monogenowej. Wprowadzenie metod sekwencjonowania następnej generacji (**ang.** *Next Generation Sequencing*, NGS) umożliwia znacznie szybszą diagnostykę medyczną różnych schorzeń dla znacznie większej liczby pacjentów. Metodyka NGS umożliwia równoczesną analizę bardzo dużej liczby genów, nawet wszystkich obecnych w organizmie człowieka. Nowa technologia pozwala więc na skokowe zwiększenie wydajności i zmniejszenie kosztów, co prowadzi do dynamicznego rozwoju genomiki personalnej[20].

---

[18] Katharine R. Owen, 'Monogenic Diabetes: Old and New Approaches to Diagnosis', *Clinical Medicine*, 13.3 (2013), 278–81 <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.13-3-278>.

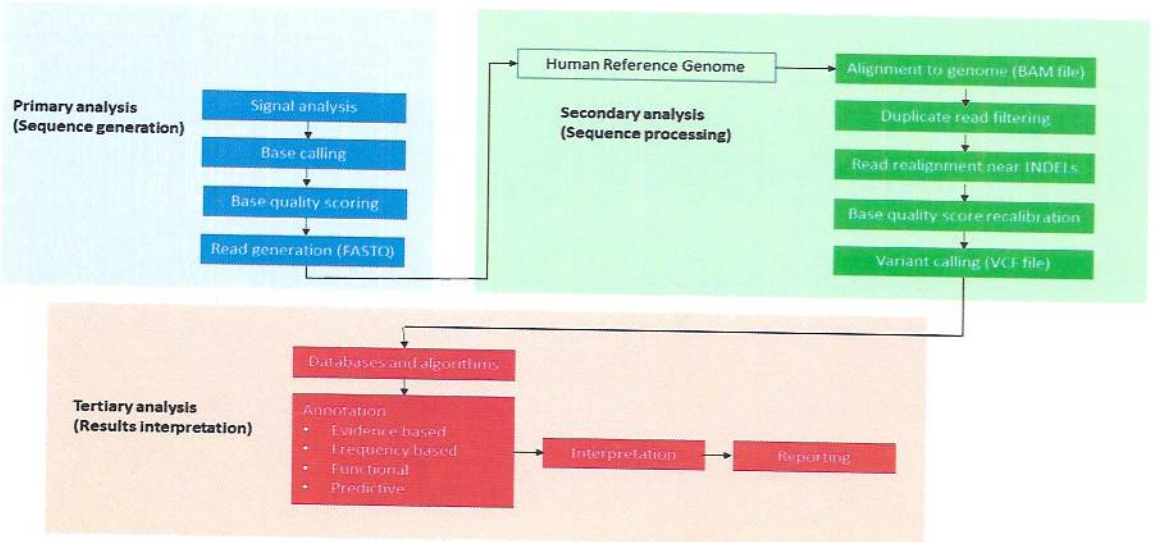
[19] Haichen Zhang and others, 'Monogenic Diabetes: A Gateway to Precision Medicine in Diabetes', *Journal of Clinical Investigation*, 131.3 (2021) <https://doi.org/10.1172/JCI142244>; Ken Munene Nkonge, Dennis Karani Nkonge, and Teresa Njeri Nkonge, 'The Epidemiology, Molecular Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)', *Clinical Diabetes and Endocrinology*, 6.1 (2020), 20 <https://doi.org/10.1186/s40842-020-00112-5>.

[20] S. Ellard and others, 'Improved Genetic Testing for Monogenic Diabetes Using Targeted Next-Generation Sequencing', *Diabetologia*, 56.9 (2013), 1958–63 <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2962-5>; G. Alkorta-Aranburu and others, 'Phenotypic Heterogeneity in Monogenic Diabetes: The Clinical and Diagnostic Utility of a Gene Panel-Based next-Generation Sequencing Approach', *Molecular Genetics and Metabolism*, 113.4 (2014), 315–20 <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.09.007>.

Głównym celem badania przedstawionego w Osiągnięciu było wykorzystanie metody sekwencjonowania następnej generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej. Przyświecało mu założenie, że NGS stanie się w najbliższych latach podstawowym narzędziem badań molekularnych stosowanym w celu poszukiwania pacjentów z cukrzycą monogenową w Polsce. W badaniu uczestniczyło 156 osób z podejrzeniem cukrzycy monogenowej. Pacjenci pochodzili z całej Polski, choć większość została zebrana w Klinice Chorób Metabolicznych Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

We współpracy z Prof. Marcusem Pezzolezzi z Joslin Diabetes Center Harvard Medical School w Bostonie przygotowaliśmy pełną procedurę analizy wyników uzyskanych w procesie NGS. Po pierwsze, w ramach projektu stworzyliśmy panel genów, których mutacje są najczęstszą przyczyną cukrzycy monogenowej. W skład panelu wchodziło 29 genów – związanych z cukrzycą monogenową (*GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, NEUROD1, INS, CEL, PDX1, PAX4, BLK, KLF11, KCNJ11, ABCC8*), cukrzycą noworodkową (*GCK, KCNJ11, ABCC8, INS, PDX1, PTFA1A, HNF1B, NEUROD1, NEUROG3, RFX6, EIF2AK3, FOXP3, GLIS3, SLC19A2, SLC2A2, IER31P, ZFP57, WFS1, 9 GATA6, GATA4*), mitochondrialną (cały genom mitochondrialny) i lipodystrofią (*LMNA, PPARG*). Panel działał na zasadzie sond skierowanych przeciw sekwencjom eksonowym i splice-site tych genów. Do przygotowania bibliotek wykorzystaliśmy zmodyfikowany protokół[21], który umożliwił nam zmniejszenie kosztów całego procesu.

Po drugie, przygotowaliśmy procedurę bioinformatycznej obróbki danych (analiza pierwotna i drugorzędowa). W końcu opracowaliśmy metodologię analizy trzeciorzędowej, umożliwiającą anotację, interpretację i raportowanie wyników. Schemat obróbki i analizy danych uzyskanych w wyniku sekwencjonowania następnej generacji przedstawione zostały na Rysunku 5.



Rysunek 5. *Schematyczne przedstawienie procesu analizy bioinformatycznej przygotowanej do poszukiwania wariantów sprawczych cukrzycy monogenowej (za Oliver et. al. 'Bioinformatics for clinical next generation sequencing' Clin Chem. 2015 Jan;61(1):124-35).*

[21] Nadin Rohland and David Reich, 'Cost-Effective, High-Throughput DNA Sequencing Libraries for Multiplexed Target Capture', *Genome Research*, 22.5 (2012), 939–46 <https://doi.org/10.1101/gr.128124.111>.

W trakcie prac wykazaliśmy, że metodologia NGS spełnia wszystkie kryteria, aby w przyszłości stać się metodą diagnostyczną cukrzycy monogenowej. Co więcej, wykazaliśmy, że metoda umożliwia szybszą identyfikację i diagnostykę pacjentów nie tylko z najczęstszymi mutacjami (tj. w genach *GCK* czy *HNF1A*), ale także rodzin, które przed erą NGS miały niewielkie szanse na właściwe rozpoznanie. Wśród 156 przebadanych probantów zidentyfikowaliśmy nową mutację w genie *NEUROD1*. NEUROD1 jest czynnikiem transkrypcyjnym niezbędnym do normalnego rozwoju i funkcjonowania komórek trzustki. W 1999 roku wykazano, po raz pierwszy, że mutacje w tym genie związane są z rozwojem cukrzycy monogenowej[22]. Od tego czasu udało się zidentyfikować zaledwie kilka innych przypadków[23].

Zidentyfikowana przez nas mutacja c.308 G>C (Arg103Leu) prawdopodobnie wpływa na zmianę konformacji regionu domeny wiążącej DNA białka NEUROD1, zaburzając w ten sposób jego funkcjonowanie. Analiza w programie PSIPHRED wykazała, że wariant powoduje zaburzenie struktury jednej z helis, skutkując zmniejszeniem właściwości transkrypcyjnych. Także inne analizy bioinformatyczne (SIFT, PolyPhen) wskazują, że zidentyfikowany wariant jest patogenny. Analiza rozkładu wariantu w rodzinie probanta wykazała, że mutacja segreguje się w rodzinie. Wśród 17 innych członków rodziny probanta 7 z 8 dorosłych osób miało rozpoznaną cukrzycę, a 3 z nich zdiagnozowane zostały przed 3. rokiem życia. Wyniki te wskazują, że zidentyfikowana mutacja jest przyczyną występowania cukrzycy w tej rodzinie.

Powyższe wyniki zawarłam w trzeciej publikacji składającej się na Osiągnięcie naukowe **[Szopa M*, Ludwig-Gałęzowska AH*, 2016]**. Wyniki prac dotyczących użycia sekwencjonowania następnej generacji w diagnostyce cukrzycy monogenowej w Polsce opublikowane zostały także w innych publikacjach, które nie weszły w skład Osiągnięcia, a są przedstawione poniżej.

W podsumowaniu, do najważniejszych osiągnięć poznawczych przedstawionego cyklu należą:

- identyfikacja wariantów genetycznych związanych z przyrostem masy ciała w ciąży (GWG), zarówno w populacji chorych na cukrzycę typu 1, jak i populacji ogólnej;
- wykazanie istnienia epistazy jądrowo-mitochondrialnej i jej wpływu na BMI u chorych na cukrzycę typu 1;
- wprowadzenie, po raz pierwszy w Polsce, metody sekwencjonowania nowej generacji do poszukiwania przyczyn rozwoju cukrzycy monogenowej i wykazanie jej przydatności do identyfikowania, nawet rzadkich, wariantów przyczynowych.

---

[22] Maciej T. Malecki and others, 'Mutations in NEUROD1 Are Associated with the Development of Type 2 Diabetes Mellitus', *Nature Genetics*, 23.3 (1999), 323–28 <https://doi.org/10.1038/15500>.

[23] S. Y. Kristinsson and others, 'MODY in Iceland Is Associated with Mutations in HNF -1? and a Novel Mutation in NeuroD1', *Diabetologia*, 44.11 (2001), 2098–2103 <https://doi.org/10.1007/s001250100016>; Lucie Gonsorčíková and others, 'Autosomal Inheritance of Diabetes in Two Families Characterized by Obesity and a Novel H241Q Mutation in NEUROD1', *Pediatric Diabetes*, 9.4pt2 (2008), 367–72 <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2008.00379.x>; Limei Liu and others, 'A Novel Mutation, Ser159Pro in the NeuroD1/BETA2 Gene Contributes to the Development of Diabetes in a Chinese Potential MODY Family', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 303.1–2 (2007), 115–20 <https://doi.org/10.1007/s11010-007-9463-0>.

5. INFORMACJA O WYKAZANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ – OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych brałam udział w realizacji wielu projektów naukowych, które nie weszły w skład Osiągnięcia. Poniżej przedstawiam rozdział w książce, uzyskane patenty oraz udział w grantach naukowych, do których będę się odnosić w dalszej części tekstu:

ROZDZIAŁ W KSIĄŻCE (R)

(R1) Christian T. Hellwig, **Agnieszka H. Ludwig-Gałęzowska**, and Markus Rehm *FRET-based measurement of apoptotic caspase activities by high-throughput screening flow cytometry Apoptosis Methods in Toxicology, Humana Press/Springer*; doi: 10.1007/978-01-4939-3588-8_7

PATENTY (P)

(P1) Patent 235777, PL – Wynalazek pod tytułem *Startery, sposób i zestaw diagnostyczny do diagnozowania sepsy*
(P2) Patent EP 3320110, EU – Niemcy, Wielka Brytania, Francja, Włochy, Hiszpania, Szwajcaria – *16S Ribosomal RNA universal primers and use thereof in microbial analysis and diagnostics*
(P3) Patent US 2018/0195111 A1, US – *16S Ribosomal RNA universal primers and use thereof in microbial analysis and diagnostics*

PROJEKTY NAUKOWE

Jako Kierownik (K)

K1. *Badanie wpływu zmian metabolicznych na ekspresję genów w tkance tłuszczowej, ze szczególnym uwzględnieniem roli mitochondriów, w mysim modelu otyłości –* ***Polskie Towarzystwo Diabetologiczne*** 2018–2022

K2. *Zastosowanie metody Sekwencjonowania Nowej Generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej w Polsce –* ***Polskie Towarzystwo Diabetologiczne*** 2015–2018

K3. *Poszukiwanie wariantów genetycznych związanych z narastaniem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzycą typu 1 przy zastosowaniu metody badania asocjacji całego genomu –* ***Sonata Narodowe Centrum Nauki*** 2014–2018

K4. *Establishing biophotonic workflows for high-throughput cytometry and 3D time lapse imaging to investigate cancer cell resistance to apoptosis –* ***Grant Europejski (7. Program Ramowy) – Marie Curie*** 2009–2011

Jako Wykonawca (W):

W1. *Ocena mechanizmów molekularnych działania terapii podciśnieniowej w leczeniu owrzodzeń neuropatycznych w zespole stopy cukrzycowej* – ***Narodowe Centrum Nauki***
W2. *Targeting the Cell Death Resistance of Cervical Cancer Cells: a qualitative and quantitative evaluation of Smac/Smac like Peptides and Proteasome Inhibitors in the treatment of cancer* – ***Health Research Board Ireland***
W3. *New approach to Existing MODY Biomarkers and the Development of Novel Ones* – ***European Association for the Study of Diabetes***
W4. *Poszukiwanie i charakterystyka kliniczna rzadkich form cukrzycy MODY* – Iuventus, ***Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego***
W5. *Poszukiwanie defektów monogenowych w patogenezie wrodzonej hipoglikemii noworodków* – ***Polskie Towarzystwo Diabetologiczne***
W6. *Badanie flory bakteryjnej przewodu pokarmowego u pacjentów z cukrzycą typu 1 i 2 oraz z otyłością olbrzymią lub patologiczną poddawanych zabiegowi rękawowej resekcji żołądka* – ***Narodowe Centrum Nauki***
W7. *Mechanizmy epigenetyczne jako nowe czynniki ryzyka rozwoju neuropatii cukrzycowej w cukrzycy typu 1* – ***Narodowe Centrum Nauki***
W8. *Wpływ inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV na ilościowe i jakościowe parametry jelitowej flory bakteryjnej u pacjentów z cukrzycą typu 2 i cukrzycą typu HNF1A* – „Generacja Przyszłości" ***Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego***

Przed uzyskaniem stopnia doktora:
W9. *Analiza genów wytypowanych w badaniach mikromacierzy DNA, potencjalnych markerów chemiooporności i przeżycia u pacjentek z rakiem jajnika. Ocena ich statusu w nowotworze i klinicznego znaczenia* – ***Komitet Badań Naukowych***
W10. *Próba ustalenia molekularnych wskazań do wyboru rodzaju chemioterapii u pacjentek z rakiem jajnika. Retrospektywne badania wieloośrodkowe* – ***Komitet Badań Naukowych***
W11. *Badania nad molekularną patogenezą nowotworów oraz wykorzystanie metod biologii molekularnej, genomiki i proteomiki dla wczesnego wykrywania, optymalizacji leczenia i rozwoju nowych metod terapii nowotworów złośliwych* – ***Komitet Badań Naukowych***

Inne badania dotyczące cukrzycy monogenowej

Metodologia opracowana przeze mnie w pracy, która weszła w skład Osiągnięcia **[Szopa M*, Ludwig-Gałęzowska AH*, 2016]**, została zastosowana także w kilku innych pracach dotyczących oceny sekwencjonowania NGS i jego zastosowania do badania częstości i diagnostyki cukrzycy monogenowej.

Badania te bazowały na grancie (którego byłam kierownikiem **(K2)**) *Zastosowanie metody Sekwencjonowania Nowej Generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej w Polsce,* przyznanym mi przez Polskie Towarzystwo Diabetologiczne oraz projektach pt. *Poszukiwanie i charakterystyka kliniczna rzadkich form cukrzycy MODY* – Iuventus, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego **(W4)** i *Poszukiwanie defektów monogenowych w patogenezie wrodzonej hipoglikemii noworodków* **(W5)**, w których pełniłam funkcję wykonawcy.

W pracy **[Szopa M*, Ludwig-Gałęzowska A* et al. 2015]** badaliśmy przydatność sekwencjonowania NGS jako narzędzia diagnostycznego. Bazując na zebranym materiale, przeprowadziliśmy analizę 54 probantów, którzy byli wcześniej poddani badaniu metodą Sangera, a u których nie udało się wykryć mutacji w genach *HNF1A* i *GCK*. Ponadto do badania włączono 9 osób, u których metodą Sangera zidentyfikowano mutacje w tych genach i które traktowane były jako kontrole pozytywne. Sekwencjonowanie metodą NGS umożliwiło nam potwierdzenie wszystkich kontroli pozytywnych. Wśród badanych 54 osób zidentyfikowano 16 mutacji. Co więcej, zastosowanie metody wysokoprzepustowej umożliwiło zidentyfikowanie mutacji sprawczych w genach u osób, u których sekwencjonowanie Sangera dało wyniki negatywne (np. *GCK*). Świadczy to o niezawodności tej metody, jej wysokiej czułości i wskazuje, że sekwencjonowanie następnej generacji może być stosowane, przy zachowaniu wszystkich zasad, do diagnostyki pacjentów z podejrzeniem cukrzycy monogenowej.

W kolejnym badaniu **[Hohendorff et al. 2019]** staraliśmy się określić przydatność klasyfikatora pacjentów z podejrzeniem cukrzycy monogenowej – MODY Probability Calculator – zaproponowanego przez University of Exeter. Badanie objęło grupę 155 probantów, wśród których 64 miało mutację w genie *GCK*, 37 – w genie *HNF1A*, 3 w genie *HNF4A*, a u 51 nie wykryto mutacji w żadnym z tych genów w sekwencjonowaniu NGS. W badaniu stwierdziliśmy, że wartość predykcyjna dodatnia (**ang.** *predictive positive value*, PPV) dla osób ze stwierdzonymi mutacjami w genie *GCK* wynosiła 75,5%, w genie *HNF1A* – 49,4%, *HNF4A* – 45,5%, a dla osób, u których nie stwierdzono mutacji w badaniu NGS – 49,4%. Wartość pola pod krzywą (**ang.** *area under curve*, AUC) wynosząca 0,62 wskazuje na średnie dopasowanie modelu z czułością na poziomie 71,2% i specyficznością 51%. Wyniki sugerują, że dalsze dopracowywanie testu MODY Probability Calculator w celu lepszego diagnozowania i klasyfikowania pacjentów jest niezbędne.

W kolejnej pracy **[Hohendorff et al. 2021]** zastosowaliśmy metodę poszukiwania mutacji cukrzycy monogenowej wśród pacjentów z cukrzycą typu 1, którzy pomimo długiego czasu życia z chorobą nie wykazują cech mikroangiopatii. Sugeruje się, że w grupie takich pacjentów, nazywanych „medalistami", istnieje genetyczny lub środowiskowy mechanizm ochrony przed tym niebezpiecznym powikłaniem. Aby mieć pewność, że badane osoby rzeczywiście są „medalistami", a bezobjawowość ze strony układu krążenia nie wynika ze złego rozpoznania (tj. nierozpoznanej cukrzycy monogenowej), przebadaliśmy grupę 45 pacjentów. W wyniku badania zidentyfikowaliśmy 10 wariantów genetycznych zlokalizowanych w następujących genach: *ABCC8* – 5 wariantów, *GCK* – 2 warianty, *HNF1B* – 2 warianty i *HNF1A* – 1 wariant. Analiza wariantów wykazała, że żaden z nich nie był prawdopodobną przyczyną choroby, potwierdzając, że badana kohorta to pacjenci-„medaliści".

1. *Szopa M*, **Ludwig-Gałęzowska A***, *Radkowski P, Skupień J, Zapała B, Płatek T, Klupa T, Kieć-Wilk B, Borowiec M, Młynarski W, Wołkow P, Małecki MT. Genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing in patients with maturity-onset diabetes of the young. Pol Arch Med Wewn. 2015;125(11):845-51. c. Epub 2015 Nov 9. PMID: 26552609,* **IF: 2,054, MNiSW: 25**

   *** pierwszy, równorzędny autor**

2. *Hohendorff J, Zapała B, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Solecka I, Ucieklak D, Matejko B, Mrozińska S, Małecki MT, Szopa M. The utility of MODY Probability Calculator in probands of families with early-onset autosomal dominant diabetes from Poland.*

Minerva Med. 2019 Dec;110(6):499-506. doi: 10.23736/S0026-4806.19.06053-1. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31638358, **IF: 3,031, MNiSW: 70**

3. *Hohendorff J, Kwiatkowska M, Pisarczyk-Wiza D,* ***Ludwig-Słomczyńska A****, Milcarek M, Kapusta P, Zapała B, Kieć-Wilk B, Trznadel-Morawska I, Szopa M, Zozulińska-Ziółkiewicz D, Małecki MT. The clinical characteristics and mutation search within monogenic diabetes genes in type 1 diabetes patients with long-term disease and preserved kidney function. Pol Arch Intern Med. 2022 Nov 26. doi: 10.20452/pamw.16143. Epub ahead of print. PMID: 34825797,* **IF: 3,277, MNiSW: 140**

Badania dotyczące opieki nad pacjentami z cukrzycą

Kolejnym obszarem badań, w które angażowałam się w ciągu ostatnich lat, były badania związane z opieką nad chorym z cukrzycą. Badania te można podzielić na badania molekularne, głównie analizy transkryptomiczne i epigenetyczne oraz metaanalizy.

Badania molekularne były wykonywane w ramach trzech grantów – *Ocena mechanizmów molekularnych działania terapii podciśnieniowej w leczeniu owrzodzeń neuropatycznych w zespole stopy cukrzycowej* **(W1)** *i Mechanizmy epigenetyczne jako nowe czynniki ryzyka rozwoju neuropatii cukrzycowej w cukrzycy typu 1* **(W7)** przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki oraz *New approach to Existing MODY Biomarkers and the Development of Novel Ones* **(W3)** przyznanego przez przez European Association for the Study of Diabetes.

Jednym z ważnych obszarów opieki nad pacjentem z cukrzycą jest leczenie stopy cukrzycowej (**ang.** *Diabetes foot syndrome*, DFS), przewlekłego powikłania tej choroby. Patomechanizm powstawania zespołu stopy cukrzycowej jest złożony i obejmuje neuropatię cukrzycową oraz lokalne niedokrwienie. Prowadzi to do pozbawienia pacjenta czucia bólu i temperatury, powstania trudno gojącej się rany, która obniża jakość życia, a nawet może prowadzić do amputacji. Standardowe leczenie obejmuje odciążenie kończyny, zabiegi rewaskularyzacyjne, antybiotykoterapię systemową (w przypadku zakażenia), opracowanie chirurgiczne rany w celu usunięcia tkanek martwiczych i kontrolę glikemii. W praktyce klinicznej wykorzystuje się też metodę terapii podciśnieniowej (**ang.** *negative pressure wound therapy*, NPWT), która może być alternatywą lub uzupełnieniem terapii standardowej. Procesy biologiczne związane z działaniem metody podciśnieniowej nie są jednak znane. Dlatego przeprowadziliśmy analizę molekularną dotyczącą zmian zachodzących w trakcie leczenia terapią standardową i podciśnieniową u pacjentów z zespołem stopy cukrzycowej. Analizowane były mechanizmy molekularne działania NPWT w neuropatycznym owrzodzeniu stopy cukrzycowej w cukrzycy typu 2 i ich wpływ na profil ekspresji genów, metylację DNA, a także ekspresję białka Ang-2 w osoczu pacjentów. W badaniach tych po raz pierwszy wskazaliśmy na molekularne mechanizmy związane z leczeniem terapią podciśnieniową.

W analizie transkryptomicznej przeprowadzonej u 21 pacjentów leczonych terapią podciśnieniową lub terapią standardową zidentyfikowaliśmy 4 geny, których ekspresja różniła się pomiędzy grupami po ośmiu dniach od rozpoczęcia terapii **[Borys et al. 2018]**. U pacjentów leczonych NPWT zaobserwowaliśmy nadekspresję genu *C1QBP* oraz obniżoną ekspresję genów *GFRA2*, *RAB35*, *SYNJ1*. Analiza funkcji genów *RAB35* i *SYNJ1* sugeruje, że NPWT wpływa na zmniejszenie adhezji międzykomórkowej, co umożliwia migrację komórkową. NPWT

reguluje także ekspresję genu *GFRA2*, receptora dla GDNF, który jest już opatentowaną terapią stosowaną w leczeniu ran. Także *C1QBP*, element układu dopełniacza, wpływa na potencjał migracyjny komórek, a obniżenie jego ekspresji zmniejsza szanse na zagojenie się rany. W badaniu tym wykazaliśmy zatem, że NPWT działa poprzez regulację epitelializacji i angiogenezy oraz poprzez regulację układu dopełniacza.

Wyniki te zostały potwierdzone także w badaniu metylacji DNA przeprowadzonej u 23 osób **[Ludwig-Słomczyńska et al. 2019]**. W porównaniu tkanek osób leczonych metodą podciśnieniową pobranych przed rozpoczęciem terapii i 8 dni później zaobserwowaliśmy zmianę metylacji 426 genów. Po przeprowadzeniu analizy ścieżek sygnałowych wykazaliśmy, że geny te regulują 11 ścieżek sygnalizacyjnych w komórce, z których aż 4 związane są z układem dopełniacza. Ponadto w badaniu udało się nam wykazać, że NPWT zmienia skład komórkowy rany poprzez usuwanie komórek epitelialnych i fibroblastów oraz komórek układu odpornościowego. W trakcie terapii podciśnieniowej nie zmieniła się ilość monocytów. Nasze wyniki sugerują, że w trakcie leczenia następuje zmiana fenotypowa makrofagów z prozapalnych (typu M1) do przeciwzapalnych (typu M2). Jedyną subpopulacją komórkową, której ilość nie malała w ranie poddanej terapii podciśnieniowej, były neutrofile, czyli komórki o potencjalne fagocytarnym. Można zatem podsumować, że NPWT zmniejsza potencjał prozapalny rany, działając poprzez inaktywację układu dopełniacza i usunięcie lub modyfikację prozapalnych komórek układu immunologicznego do komórek przeciwzapalnych.

Ponieważ nasze badania sugerowały związek terapii podciśnieniowej z angiogenezą i zmianą składu komórkowego rany głównie poprzez zmiany składu komórek układu odpornościowego, zbadaliśmy poziom angiopoetyny 2 (Ang-2), białka odgrywającego ważną rolę w angiogenezie, u pacjentów leczonych z powodu zespołu stopy cukrzycowej **[Hohendorff et al. 2019]**. Jako materiał do badań posłużyło serum od 49 pacjentów pobrane w dwóch punktach czasowych – przed terapią NPWT i 8 dni od jej rozpoczęcia. Nasze wyniki wskazują na znaczne obniżenie stężenia Ang-2 w grupie leczonej NPWT, lecz nie w grupie leczonej terapią standardową. W badaniu zmierzyliśmy także ilość mikropęcherzyków w tkankach pochodzących od pacjentów z obu grup i wykazaliśmy, że NPWT stymuluje komórki do zwiększonego wytwarzania mikropęcherzyków.

1. *Borys S, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Seweryn M, Hohendorff J, Koblik T, Machlowska J, Kieć-Wilk B, Wołkow P, Małecki MT. Negative pressure wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcers may be mediated through differential gene expression. Acta Diabetol. 2019 Jan;56(1):115-120. doi: 10.1007/s00592-018-1223-y. Epub 2018 Sep 17. PMID: 30221321; PMCID: PMC6346079,* **IF: 2,996, MNiSW: 30**
2. ***Ludwig-Słomczyńska AH**, Borys S, Seweryn MT, Hohendorff J, Kapusta P, Kieć-Wilk B, Pitera E, Wołkow PP, Małecki MT. DNA methylation analysis of negative pressure therapy effect in diabetic foot ulcers. Endocr Connect. 2019 Nov;8(11):1474-1482. doi: 10.1530/EC-19-0373. PMID: 31634866; PMCID: PMC6865364,* **IF: 2,592, MNiSW: 100**
3. *Hohendorff J, Dróżdż A, Borys S, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Kieć-Wilk B, Stępień EL, Małecki MT. Effects of Negative Pressure Wound Therapy on Levels of Angiopoetin-2 and Other Selected Circulating Signaling Molecules in Patients with Diabetic Foot Ulcer. J Diabetes Res. 2019 Oct 28;2019:1756798. doi: 10.1155/2019/1756798. PMID: 31781660; PMCID: PMC6855047,* **IF: 2,965, MNiSW: 100**

Metaanalizy

W trakcie ostatnich lat zaangażowałam się także w przygotowanie metaanaliz. Badania były realizowane w ramach grantów *Ocena mechanizmów molekularnych działania terapii podciśnieniowej w leczeniu owrzodzeń neuropatycznych w zespole stopy cukrzycowej* **(W1)** oraz *Poszukiwanie wariantów genetycznych związanych z narastaniem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzycą typu 1 przy zastosowaniu metody badania asocjacji całego genomu* **(K3),** przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki.

Pierwsza z prac dotyczyła terapii podciśnieniowej stopy cukrzycowej i porównania jej skuteczności ze standardową terapią **[Ryś et al. 2020]**. Analiza bazowała na badaniach obserwacyjnych, co wiązało się z dużym poziomem heterogeniczności włączonych do niej badań, jednakże wykazaliśmy niższe ryzyko amputacji u osób leczonych za pomocą terapii podciśnieniowej w stosunku do terapii standardowej.

Druga praca skupiała się na wpływie modelu insulinoterapii – metody wielokrotnych wstrzyknięć (**ang.** *multiple daily injections*, MDI) lub ciągłego podskórnego wlewu insuliny za pomocą pompy insulinowej (**ang.** *continuous subcutaneous insulin infusion*, CSII) – na wyrównanie glikemiczne, ciężką hipoglikemię, kwasicę ketonową, zapotrzebowanie na insulinę, przyrost masy ciała oraz ryzyko wystąpienia powikłań matczynych i płodowych **[Ryś PM*, Ludwig-Słomczyńska AH* et al. 2018]**. Analiza wykazała, że CSII w porównaniu do MDI skutkuje lepszym wyrównaniem glikemii w pierwszym trymestrze ciąży oraz niższą średnią dawką dobową insuliny. Jednocześnie CSII było związane z wyższym GWG i większym ryzykiem makrosomii (**ang.** *large for gestational age*, LGA) lub zmniejszonej masy ciała noworodka (**ang.** *small for gestational age*, SGA).

1. *Ryś P, Borys S, Hohendorff J, Zapała A, Witek P, Monica M, Frankfurter C,* ***Ludwig-Słomczyńska A****, Kieć-Wilk B, Małecki MT. NPWT in diabetic foot wounds-a systematic review and meta-analysis of observational studies. Endocrine. 2020 Apr;68(1):44-55. doi: 10.1007/s12020-019-02164-9. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31919770,* ***IF: 3,633; MNiSW: 100***
2. *Ryś PM*,* ***Ludwig-Słomczyńska AH****, Cyganek K, Małecki MT. Continuous subcutaneous insulin infusion vs multiple daily injections in pregnant women with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. Eur J Endocrinol. 2018 May;178(5):545-563. doi: 10.1530/EJE-17-0804. Epub 2018 Mar 15. PMID: 29545258,* ***IF: 5.107; MNiSW: 30.000***

**** pierwszy, równorzędny autor***

Badania metagenomiczne

Innym aspektem moich badań naukowych w ciągu ostatnich kilku lat była analiza składu mikrobiologicznego próbek. Badania dotyczyły głównie składu mikrobiomu jelitowego, najbardziej złożonego ekosystemu bakteryjnego w ciele człowieka, i bazowały na wykorzystaniu sekwencjonowania genu *16S rRNA*. Metodologia sekwencjonowania podjednostki *16S rRNA* bazuje na odkryciu Carla Woelsa, który wykazał, że gen ten może być używany jako ewolucyjny chronometr, gdyż występuje u wszystkich bakterii, a jego sekwencja

jest charakterystyczna (unikalna) dla poszczególnych gatunków. Jednocześnie częstość zmian genetycznych w *16S rRNA* związana jest z filogenetycznym pokrewieństwem. Pierwsze badania tego typu prowadzone były przy użyciu sekwencjonowania metodą Sangera. Wprowadzenie technologii sekwencjonowania następnej generacji umożliwiło wgląd w niezwykle skomplikowane nisze środowiskowe, w tym te zlokalizowane w ludzkim ciele. W Ośrodku Genomiki Medycznej OMICRON byłam odpowiedzialna za uruchomienie pełnej procedury przygotowania bibliotek i sekwencjonowania opartego na badaniu fragmentów V3 i V4 genu *16S rRNA*.

Jako efekt tych badań powstało 9 prac i 1 patent (chroniony w Polsce, EU i USA). Spośród 9 opublikowanych prac 3 dotyczą analizy mikrobiomu jelitowego u osób z cukrzycą i otyłością.

Badania bazowały na grantach *Badanie flory bakteryjnej przewodu pokarmowego u pacjentów z cukrzycą typu 1 i 2 oraz z otyłością olbrzymią lub patologiczną poddawanych zabiegowi rękawowej resekcji żołądka* **(W6)** przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki oraz *Wpływ inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV na ilościowe i jakościowe parametry jelitowej flory bakteryjnej u pacjentów z cukrzycą typu 2 i cukrzycą typu HNF1A* **(W8)** przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Generacja Przyszłości".

W badaniu **[Mrozińska et al. 2016]** po raz pierwszy badaliśmy różnice w mikrobiomie jelitowym pacjentów z cukrzycą typu 2 (23 pacjentów), cukrzycą typu HNF1A-MODY (10 pacjentów) oraz 16 zdrowych osób dopasowanych pod względem wieku i BMI do kohorty HNF1A-MODY. Badanie α-różnorodności wykazało zmniejszoną różnorodność bakterii w grupie osób z cukrzycą typu 2 w stosunku do kontroli. Ponadto wykazaliśmy zwiększoną ilość *Enterobacteriales* w kohorcie z cukrzycą typu 2 w stosunku do grupy kontrolnej, a w próbkach pochodzących od pacjentów z cukrzycą HNF1A-MODY – zwiększoną ilość *Turicibacteriales* w stosunku do kontroli i grupy z cukrzycą typu 2. Dane te wskazują, że różne typu cukrzycy, w tym cukrzyca monogenowa, mogą mieć inny wpływ na strukturę mikrobiomu jelitowego, a co za tym idzie – mogą wymagać różnych typów interwencji, np. stosowania odpowiednich probiotyków.

W kolejnej pracy skupiliśmy się na porównaniu mikrobiomu jelitowego pacjentów z dwoma najczęstszymi typami cukrzycy – cukrzycą typu 1 (22 osoby) i typu 2 (23 osoby). Badanie obejmowało także 23 zdrowych ochotników **[Salamon et al. 2018]**. Zidentyfikowaliśmy różnice w ilości bakterii z gromady *Bacterioidetes* między osobami chorymi na cukrzycę typu 2 i zdrowymi kontrolami, a także między osobami chorymi na cukrzycę typu 1 i 2. Istotnym parametrem wskazującym na funkcjonalność mikrobiomu jelitowego jest stosunek bakterii z gromady *Firmicutes* i *Bacterioidetes* (**ang.** *Firmicutes/Bacterioidetes ratio, F/B ratio*). W naszym badaniu stosunek ten był wyższy u osób z cukrzycą typu 2 w stosunku do osób z cukrzycą typu 1 i do zdrowych ochotników. Już wcześniej wykazano, że zaburzony stosunek *Firmicutes/Bacterioidetes* koreluje z otyłością. Uważa się, że spadek ilości *Firmicutes* związany jest z hiperglikemią, natomiast ich wzrost – z nadwagą. Ponieważ w naszym badaniu większość pacjentów z cukrzycą typu 2 miało nadwagę lub było otyłych, zakładamy, że ten właśnie mechanizm jest odpowiedzialny za zaburzenie równowagi w mikrobiomie jelitowym. Ponadto zidentyfikowaliśmy 10 rodzajów bakterii (wśród nich *Roseburia* oraz *Bacterioides*), które różnicowały osoby z cukrzycą typu 1, typu 2 i zdrowe. Bakterie z rodzaju *Bacterioides* są związane z odpowiedzią przeciwzapalną. Ich niższy poziom u pacjentów z cukrzycą typu 2 związany jest prawdopodobnie ze stanem

zapalnym, który może być przyczyną otyłości. U pacjentów z cukrzycą typu 2 i typu 1 zaobserwowaliśmy także obniżoną ilość bakterii z rodzaju *Roseburia*, które należą do bakterii produkujących kwas masłowy, będący krótkołańcuchowym kwasem tłuszczowym. Kwasy te odpowiedzialne są za uszczelnienie nabłonka jelit, a ich brak może zwiększać przepuszczalność ściany naczyń i wzmagać stan zapalny. W badaniu zaobserwowaliśmy także związki poszczególnych rodzajów bakterii z parametrami klinicznymi: wiekiem, BMI, HbA1c, LDL-C, trójglicerydami – u pacjentów z cukrzycą typu 2 oraz wiekiem, HbA1c, cholesterolem, HDL-C, LDL-C, trójglicerydami i czasem trwania cukrzycy u pacjentów z cukrzycą typu 1.

Związek struktury mikrobiomu jelitowego z parametrami klinicznymi udowodniliśmy także w pracy **[Mrozińska et al. 2021]**, w której po raz pierwszy badaliśmy zależność składu bakteryjnego jelita z poziomem wyrównania cukrzycy typu 1. W badaniu uczestniczyło 89 osób z cukrzycą typu 1, wśród których 43 osoby uważane były za wyrównane glikemicznie (HbA1c < 53mmol/mol (7%)), a 46 – za niewyrównane glikemicznie (HbA1c > 7%). Algorytm LEfSe wykazał pozytywny związek rodziny *Ruminococcaceae* z HbA1c < 7% oraz wzrost ilości bakterii z rodziny *Streptozzaceae* i 4 gatunków (*Ruminococcus torques*, *Eubacteroim dolichum*, *Coprobacillus cateniformis* oraz jednej niezakwalifikowanej bakterii z gatunku *Lactococcus*) z wysokim HbA1c (>7%). Analiza ścieżek metabolicznych na poziomie gromady u pacjentów z HbA1c > 7% wykazała zwiększony metabolizm węglowodanów. Na poziomie klasy zidentyfikowaliśmy wzmożoną aktywność ścieżek związanych z białkami wpływającymi na ruchliwość bakterii, sekrecją, biogenezą rybosomów, translacją i syntezą lipidów.

1. *Mrozińska S, Radkowski P, Gosiewski T, Szopa M, Bulanda M,* ***Ludwig-Gałęzowska AH,*** *Morawska I, Sroka-Oleksiak A, Matejko B, Kapusta P, Salamon D, Małecki MT, Wołkow P, Klupa T. Qualitative Parameters of the Colonic Flora in Patients with HNF1A-MODY Are Different from Those Observed in Type 2 Diabetes Mellitus. J Diabetes Res. 2016;2016:3876764. doi: 10.1155/2016/3876764. Epub 2016 Oct 11. PMID: 27807544; PMCID: PMC5078663,* **IF: 3,639, MNiSW: 30**

2. *Salamon D, Sroka-Oleksiak A, Kapusta P, Szopa M, Mrozińska S,* ***Ludwig-Słomczyńska AH,*** *Wołkow PP, Bulanda M, Klupa T, Małecki MT, Gosiewski T. Characteristics of gut microbiota in adult patients with type 1 and type 2 diabetes based on next-generation sequencing of the 16S rRNA gene fragment. Pol Arch Intern Med. 2018 Jun 30;128(6):336-343. doi: 10.20452/pamw.4246. Epub 2018 Apr 15. PMID: 29657308,* **IF: 2,882, MNiSW: 30**

3. *Mrozińska S, Kapusta P, Gosiewski T, Sroka-Oleksiak A,* ***Ludwig-Słomczyńska AH,*** *Matejko B, Kieć-Wilk B, Bulanda M, Małecki MT, Wołkow PP, Klupa T. The Gut Microbiota Profile According to Glycemic Control in Type 1 Diabetes Patients Treated with Personal Insulin Pumps. Microorganisms. 2021 Jan 12;9(1):155. doi: 10.3390/microorganisms9010155. PMID: 33445500; PMCID: PMC7826603,* **IF: 4,128, MNiSW: 40**

Ponadto w oparciu o opracowany protokół badania zmiennych fragmentów V3 i V4 genu *16S rRNA* przeprowadziliśmy badania, które zaowocowały 2 pracami dotyczącymi związku metagenomu z chorobą Crohna u dzieci, 1 pracę, w której badaliśmy skład metagenomu pochwy u kobiet w ciąży, 2 prace bazujące na próbkach pochodzących ze środowiska oraz 1 pracę, w której badaliśmy krew pacjentów chorych na sepsę. Ta ostatnia procedura została opatentowana i jest chroniona w Polsce, Unii Europejskiej oraz USA.

1. *Kowalska-Duplaga K, Kapusta P, Gosiewski T, Sroka-Oleksiak A,* ***Ludwig-Słomczyńska AH****, Wołkow PP, Fyderek K. Changes in the Intestinal Microbiota Are Seen Following Treatment with Infliximab in Children with Crohn's Disease. J Clin Med. 2020 Mar 4;9(3):687. doi: 10.3390/jcm9030687. PMID: 32143438; PMCID: PMC7141282,* **IF: 4,242, MNiSW: 140**

2. *Kowalska-Duplaga K, Gosiewski T, Kapusta P, Sroka-Oleksiak A, Wędrychowicz A, Pieczarkowski S,* ***Ludwig-Słomczyńska AH****, Wołkow PP, Fyderek K. Differences in the intestinal microbiome of healthy children and patients with newly diagnosed Crohn's disease. Sci Rep. 2019 Dec 11;9(1):18880. doi: 10.1038/s41598-019-55290-9. PMID: 31827191; PMCID: PMC6906406,* **IF: 3,998, MNiSW: 140**

3. *Sroka-Oleksiak A, Gosiewski T, Pabian W, Gurgul A, Kapusta P,* ***Ludwig-Słomczyńska AH****, Wołkow PP, Brzychczy-Włoch M. Next-Generation Sequencing as a Tool to Detect Vaginal Microbiota Disturbances during Pregnancy. Microorganisms. 2020 Nov 18;8(11):1813. doi: 10.3390/microorganisms8111813. PMID: 33217908; PMCID: PMC7698737,* **IF: 4,128, MNiSW: 40**

4. *Zielińska S, Radkowski P, Ossowski T,* ***Ludwig-Gałęzowska A****, Łoś JM, Łoś M. First insight into microbial community composition in a phosphogypsum waste heap soil. Acta Biochim Pol. 2017;64(4):693-698. doi: 10.18388/abp.2017_2297. Epub 2017 Dec 16. PMID: 29247505,* **IF: 1,239, MNiSW: 15**

5. *Zielińska S, Radkowski P, Blendowska A,* ***Ludwig-Gałęzowska A****, Łoś JM, Łoś M. The choice of the DNA extraction method may influence the outcome of the soil microbial community structure analysis. Microbiologyopen. 2017 Aug;6(4):e00453. doi: 10.1002/mbo3.453. Epub 2017 Feb 20. PMID: 28217901; PMCID: PMC5552907,* **IF: 2,682, MNiSW: 20**

6. *Gosiewski T*,* ***Ludwig-Gałęzowska AH****, Humińska K, Sroka-Oleksiak A, Radkowski P, Salamon D, Wojciechowicz J, Kuś-Słowińska M, Bulanda M, Wołkow PP. Comprehensive detection and identification of bacterial DNA in the blood of patients with sepsis and healthy volunteers using next-generation sequencing method – the observation of DNAemia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Feb;36(2):329-336. doi: 10.1007/s10096-016-2805-7. Epub 2016 Oct 22. PMID: 27771780; PMCID: PMC5253159,* **IF: 2,309, MNiSW: 30**

**** pierwszy, równorzędny autor***

7. **(P1) Patent 235777, PL** – Wynalazek pod tytułem *Startery, sposób i zestaw diagnostyczny do diagnozowania sepsy*
8. **(P2) Patent EP 3320110, EU** – Niemcy, Wielka Brytania, Francja, Włochy, Hiszpania, Szwajcaria – *16S Ribosomal RNA universal primers and use thereof in microbial analysis and diagnostics*
9. **(P3) Patent US 2018/0195111 A1, US** – *16S Ribosomal RNA universal primers and use thereof in microbial analysis and diagnostics*

Badania dotyczące działania mitochondriów

Kolejnym obszarem moich zainteresowań naukowych jest funkcjonowanie mitochondriów. W czasie stażu podoktorskiego analizowałam ich działanie w procesie apoptozy komórkowej. Z tego okresu pochodzą dwie prace **[Ludwig-Gałęzowska et al. 2011, Hellwig et al. 2010]** oraz rozdział w podręczniku **(R2)**. Badania były finansowane z grantu europejskiego *Establishing biophotonic workflows for high-throughput cytometry and 3D time lapse imaging to investigate cancer cell resistance to apoptosis* **(K4)**, którego byłam kierownikiem, oraz grantu *Targeting the Cell Death Resistance of Cervical Cancer Cells: a qualitative and quantitative evaluation of Smac/Smac like Peptides and Proteasome Inhibitors in the treatment of cancer* **(W2)**, w którym pełniłam funkcję wykonawcy, przyznanego przez Health Research Board Ireland.

W ostatnim czasie rozpoczęłam też badania dotyczące zmian mitochondrialnych zachodzących podczas rozwoju cukrzycy i otyłości. Badania te prowadzę w ramach grantu *Badanie wpływu zmian metabolicznych na ekspresję genów w tkance tłuszczowej, ze szczególnym uwzględnieniem roli mitochondriów, w mysim modelu otyłości* **(K1)**, przyznanego mi przez Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. Wyniki uzyskane w ramach grantu są obecnie analizowane. Dokonałam również przeglądu literatury dotyczącej wpływu mitochondrialnych wariantów genetycznych na rozwój i fenotyp chorób metabolicznych u myszy konplastycznych w pracy **[Ludwig-Słomczyńska AH, 2022]**, która wchodzi w skład Osiągniecia.

1. ***Ludwig-Gałęzowska AH**, Flanagan L, Rehm M. Apoptosis repressor with caspase recruitment domain, a multifunctional modulator of cell death. J Cell Mol Med. 2011 May;15(5):1044-53. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01221.x. PMID: 21129150; PMCID: PMC3822617* ***IF: 4,125, MNiSW: 35***

2. *Hellwig CT, **Ludwig-Gałęzowska AH**, Concannon CG, Litchfield DW, Prehn JH, Rehm M. Activity of protein kinase CK2 uncouples Bid cleavage from caspase-8 activation. J Cell Sci. 2010 May 1;123(Pt 9):1401-6. doi: 10.1242/jcs.061143. Epub 2010 Mar 31. PMID: 20356928.* ***IF: 6,290, MNiSW: 32***

3. **(R1)** Christian T. Hellwig, **Agnieszka H. Ludwig-Gałęzowska**, and Markus Rehm *FRET-based measurement of apoptotic caspase activities by high-throughput screening flow cytometry Apoptosis Methods in Toxicology, Humana Press/Springer*; doi: 10.1007/978-01-4939-3588-8_7 ***MNiSW: 5***

4. ***Ludwig-Słomczyńska AH#**, Rehm M. Mitochondrial genome variations, mitochondrial-nuclear compatibility and their association with metabolic diseases. Obesity 2022,* ***IF:5,002, MNiSW:100***

   # autor korespondencyjny

Inne prace związane z badaniami wielkoskalowymi w badaniu i leczeniu chorób mono- i wielogenowych.

1. *Hohendorff J, Szopa M, Skupień J, Kapusta M, Zapała B, Płatek T, Mrozińska S, Parpan T, Głodzik W, **Ludwig-Gałęzowska A**, Kieć-Wilk B, Klupa T, Małecki MT. A single dose of dapagliflozin, an SGLT-2 inhibitor, induces higher glycosuria in GCK- and HNF1A-*

MODY than in type 2 diabetes mellitus. Endocrine. 2017 Aug;57(2):272-279. doi: 10.1007/s12020-017-1341-2. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28593615; PMCID: PMC5511327, **IF: 3,179 , MNiSW: 25**

2. *Borys S, Hohendorff J, Koblik T, Witek P,* ***Ludwig-Słomczyńska AH****, Frankfurter C, Kieć-Wilk B, Małecki MT. Negative-pressure wound therapy for management of chronic neuropathic noninfected diabetic foot ulcerations - short-term efficacy and long-term outcomes. Endocrine. 2018 Dec;62(3):611-616. doi: 10.1007/s12020-018-1707-0. Epub 2018 Aug 11. PMID: 30099674; PMCID: PMC6244911,* **IF: 3,296, MNiSW: 25**

3. *Jabrocka-Hybel A, Skalniak A, Piątkowski J, Turek-Jabrocka R, Vyhouskaya P,* ***Ludwig-Słomczyńska A****, Machlowska J, Kapusta P, Małecki M, Pach D, Trofimiuk-Müldner M, Lizis-Kolus K, Hubalewska-Dydejczyk A. How much of the predisposition to Hashimoto's thyroiditis can be explained based on previously reported associations? J Endocrinol Invest. 2018 Dec;41(12):1409-1416. doi: 10.1007/s40618-018-0910-4. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29931474; PMCID: PMC6244553,* **IF: 3,439, MNiSW: 15**

4. *Siedliński M, Nosalski R, Szczepaniak P,* ***Ludwig-Gałęzowska AH****, Mikołajczyk T, Filip M, Osmenda G, Wilk G, Nowak M, Wołkow P, Guzik TJ. Vascular transcriptome profiling identifies Sphingosine kinase 1 as a modulator of angiotensin II-induced vascular dysfunction. Sci Rep. 2017 Mar 9;7:44131. doi: 10.1038/srep44131. PMID: 28276483; PMCID: PMC5343497,* **IF: 4,122, MNiSW: 40**

5. ***Ludwig AH****, Murawska M, Panek G, Timorek A, Kupryjańczyk J. Androgen, progesterone, and FSH receptor polymorphisms in ovarian cancer risk and outcome. Endocr Relat Cancer. 2009 Sep;16(3):1005-16. doi: 10.1677/ERC-08-0135. Epub 2009 May 20. PMID: 19458022,* ***IF: 4,282, MNiSW: 30***

Prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. ***Ludwig AH****, Bujko M, Bidziński M, Kupryjańczyk J. CHFR gene is neither mutated nor hypermethylated in ovarian cancer. Cancer Detect Prev. 2007;31(3):257-61. doi: 10.1016/j.cdp.2006.04.005. Epub 2007 Jul 30. PMID: 17673375,* ***IF: 1,600, MNiSW: 15***

2. ***Ludwig AH****, Kupryjańczyk J. Does MDR-1 G2677T/A polymorphism really associate with ovarian cancer response to paclitaxel chemotherapy? Clin Cancer Res. 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):6204. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1374. PMID: 17062699,* ***IF: 6,177, MNiSW: 21***

3. *Dansonka-Mieszkowska A,* ***Ludwig AH****, Kraszewska E, Kupryjańczyk J. Geographical variations in TP53 mutational spectrum in ovarian carcinomas. Ann Hum Genet. 2006 Sep;70(Pt 5):594-604. doi: 10.1111/j.1469-1809.2006.00257.x. PMID: 16907706,* ***IF: 2,727, MNiSW: 16***

NAGRODY

Moje prace zostały docenione przez Dyrektora Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie (praca w ramach doktoratu) oraz przez Polskie Towarzystwo Diabetologiczne.

1. Nagroda specjalna im. Kazimierza Funka za najlepszą publikację w roku 2019 przyznana przez Polskie Towarzystwo Diabetologiczne (Ryś PM*, **Ludwig-Słomczyńska AH*** et al. Eur J Endocrinol. 2018)
2. Stypendium Marie Curie w ramach Programu FP7 (NBIP CEMP), 2010
3. Nagroda Centrum Onkologii-Instytutu im. Marie Curie-Skłodowskiej za najlepszą publikację w roku 2010 (**Ludwig AH** et al. Endocr Relat Cancer. 2009)

WYJAZDY ZAGRANICZNE

Poza stażem podoktorskim realizowanym w ramach programu Marie Curie Fellowship FP7 (NBIP CEMP) w ***Royal College of Surgeons in Ireland w Dublinie, Irlandia*** odbyłam też kilka innych, krótkich wyjazdów zagranicznych przedstawionych poniżej:

1. **Czerwiec 2014** – *Bioinformatics for Cancer Genomics (BiCG)* – **Toronto, Kanada**
2. **Luty 2014** – *Metagenomic Sequencing* – **Lyon, Francja**
3. **Październik 2013** – *NGS & Bioinformatics Europe Summit* – **Berlin, Niemcy**
4. **Maj 2013** – *Spring School Epigenetics of civilization diseases* – **Lipsk, Niemcy**
5. **Styczeń 2013** – *Workshop on Genomics* – **Cesky Krumlov, Czechy**

6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

DYDAKTYKA

Jestem zatrudniona na etacie naukowym, nie obejmuje mnie więc obowiązek dydaktyczny. Niemniej jednak corocznie prowadzę zajęcia dla Szkoły Doktorskiej w ramach przedmiotu *Zapoznanie się z zasadami funkcjonowania, zakresem badań, metodologią, aparaturą oraz sposobem finansowania uczelnianych i pozauczelnianych nowoczesnych ośrodków badawczych*. Pełniłam także funkcję opiekuna w ramach studenckiego Koła Genomiki. Ponadto wielokrotnie pełniłam funkcję wykładowcy w kursach genomiki, które współorganizowałam w ramach Ośrodka Genomiki Medycznej OMICRON. Jednym z nich był pierwszy w Polsce kurs współorganizowany przez European Molecular Biology Organization (EMBO) – bardzo prestiżową organizację zajmującą się naukami Life Science.

1. Zajęcia dla Szkoły Doktorskiej UJ CM
2. Opieka nad kołem studenckim Genomiki
3. Kurs *Targeted NGS in patients with cancer, mendelian or complex diseases,* European Molecular Biology Organization (EMBO), 19–23 września 2016
4. Kurs *Network Biology Workshop – Cytoscape* – 11–15 stycznia 2016, Kraków
5. Kurs *High-throughput techniques in the fields of genomics, transcriptomics and proteomics,* 2–6 marca 2015, Kraków
6. Kurs *Applications of genetics in clinical practice with diabetic patients*, RISE Seminar, 6–7 maja 2015, Kraków
7. Kurs *At the crossroads of stem cell biology and omics technology,* 29 września – 5 października 2014, Kraków

POPULARYZACJA NAUKI

Jestem aktywnym popularyzatorem nauki. Opublikowałam kilkadziesiąt artykułów popularnonaukowych, brałam udział w wielu inicjatywach promujących naukę, Narodowe Centrum Nauki, a także Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON, w którym jestem zatrudniona. Corocznie współorganizuję Festiwal Nauki. Ponadto szerzę naukę i postawę zainteresowania nauką wśród dzieci. Jestem współpracowniczką Uniwersytetu Dzieci, w ramach którego prowadziłam zajęcia o oddychaniu człowieka. Na podstawie tych zajęć stworzyłam też scenariusz dla nauczycieli oraz nagrałam film o oddychaniu zwierząt. Jestem też autorką 4 książek dla dzieci, wydanych przez Wydawnictwo Czarna Owca, opisujących niezwykłe dokonania Polaków, spośród których 3 osoby to polscy naukowcy.

Dla dorosłych

1. **Kilkadziesiąt artykułów popularnonaukowych** opublikowanych w portalach internetowych (crazynauka.pl, dolinabiotechnologiczna.pl, popnauka.pl, wszystkoconajwazniejsze.pl)
2. **Film promocyjny Narodowego Centrum Nauki** – 2017 – https://www.youtube.com/watch?v=dHZIDlym_eA
3. **Filmy promujące Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON CMUJ**
   a. *Metagenomika* – https://www.youtube.com/watch?v=tvNLknjj0lM
   b. *Genomika chorób monogenowych* – https://www.youtube.com/watch?v=O0TAZvktrlA
   c. *Ośrodek Genomiki Medycznej OMICRON* – https://www.youtube.com/watch?v=e5e3xQLEE6U
4. **Magazyn Medyczny – TVP Kraków** – http://krakow.tvp.pl/17670731/magazyn-medyczny
5. **Gazeta Wyborcza** — https://wiadomosci.gazeta.pl/wiadomosci/7,114881,27528199,20-lat-po-zamachu-na-wtc-wciaz-nie-zidentyfikowano-1-1-tys.html#s=BoxMMt2
6. Udział w przygotowaniu **kalendarza promującego Narodowe Centrum Nauki** – rok 2015
7. **Udział w Festiwalach Nauki** w latach: 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019

Dla dzieci

1. **Film dla Uniwersytetu Dzieci – *Jak oddychają zwierzęta?*** https://www.youtube.com/watch?v=hJQNpJDlKm0
2. **Warsztaty *Jak oddychamy?*** w ramach współpracy z **Uniwersytetem Dzieci**
3. **Scenariusz lekcji dla nauczycieli** *Jak oddychamy?*
4. **Książki dla dzieci z serii *Oni zmienili świat***, Wydawnictwo Czarna Owca https://www.youtube.com/watch?v=cCzHK1vZrYU

- *Mieczysław Bekker. Inżynier pojazdu księżycowego*, ISBN 978-83-8143-897-1
- *Krystyna Skarbek. Szpieg w spódnicy*, ISBN 978-83-8143-898-8
- *Ernest Malinowski. Konstruktor kolei w Andach*, ISBN 978-83-8143-899-5
- *Simona Kossak. Mieszkanka dzikiej puszczy*, ISBN 978-83-8143-912-1

Uczestniczę w życiu naukowym, będąc członkiem towarzystw naukowych, a także aktywnym recenzentem w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym i Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA). Ponadto od kilku lat uczestniczę w spotkaniach Rady Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego jako przedstawiciel pozostałych nauczycieli akademickich.

W podsumowaniu jestem autorką 31 prac naukowych, 1 rozdziału w książce oraz 1 zgłoszenia patentowego. Uzyskałam finansowanie i odbyłam staż podoktorski w ramach programu Marie Curie w Royal College of Surgeons in Ireland w Dublinie, Irlandia. Ponadto odbyłam kilka innych wyjazdów naukowych, m.in. do Czech, Francji i Kanady. Dotychczas kierowałam 4 projektami badawczymi (w tym 1 europejskim), a w 11 innych pełniłam funkcję wykonawcy. Moje prace zostały wyróżnione przez Dyrektora Centrum Onkologii im. Marii-Skłodowskiej -Curie oraz Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. Jestem aktywnym popularyzatorem nauki. Napisałam kilkadziesiąt artykułów popularnonaukowych, współpracowałam z Uniwersytetem Dzieci i wydałam 4 książki dla dzieci (wyd. Czarna Owca) propagujące wiedzę o wielkich Polakach, głównie naukowcach.

BIBLIOMETRYCZNE PODSUMOWANIE DOROBKU

Autorka lub współautorka **31** artykułów, **1** rozdziału w podręczniku, **1** zgłoszenia patentowego.
Artykuły opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie ISI Web of Science: **31** (w tym **28** po uzyskaniu stopnia doktora):

- prace oryginalne opublikowane w czasopismach posiadających IF: **29** (w tym **26** po uzyskaniu stopnia doktora)
- prace przeglądowe opublikowane w czasopismach posiadających IF: **2**
- pierwszy lub pierwszy równorzędny autor: **12** prac (w tym **9** po uzyskaniu stopnia doktora)

Sumaryczny IF wg Journal Citation Reports, zgodnie z rokiem opublikowania: **111,022**
Liczba punktów wg MEiN: **1654**
Liczba cytowań wg bazy Web of Science (WoS): **509,** bez autocytowań **494**
Liczba cytowani wg bazy Scopus Author Search: **528,** bez autocytowań **514**
Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): **14**



Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

A. Tytuł osiągnięcia:

„Wykorzystanie analiz wysokoprzepustowych
w badaniu podłoża genetycznego chorób metabolicznych"

B. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego.

Osiągnięcie przedstawione jest jako cykl 4 publikacji powiązanych tematycznie:

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.

   Pkt - 100 IF- 6.241

   Badania przedstawione w pracy były finansowane z projektu badawczego NCN Sonata pt. „Poszukiwanie wariantów genetycznych związanych z narastaniem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzyc typu 1 przy zastosowaniu metody badania asocjacji całego genomu", którego byłam kierownikiem. Byłam autorką pomysłu, przeprowadziłam i nadzorowałam eksperymenty laboratoryjne, współuczestniczyłam w przygotowaniu protokołu do analizy jakości odczytanych mikromacierzy (QC), koordynowałam prace dotyczące dotyczące zbierania danych fenotypowych, bioinformatycznej i statystycznej analizy danych, napisałam szkic, następnie ostateczną wersję manuskryptu, korespondowałam z edytorem i przygotowałam odpowiedzi dla recenzentów. Mój udział w pracy szacuję na 70%.

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.

   Pkt - 100 IF- 3.063 (Scopus$_{AS)}$ 5 ($_{(}$WoS$^{CC}_{BS)}$ 4

   Badania przedstawione w pracy były finansowane z projektu badawczego NCN Sonata pt. „Poszukiwanie wariantów genetycznych związanych z narastaniem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzyc typu 1 przy zastosowaniu metody badania asocjacji całego genomu", którego byłam kierownikiem. Byłam autorką pomysłu, przeprowadziłam i nadzorowałam eksperymenty laboratoryjne, współuczestniczyłam w przygotowaniu protokołu do analizy jakości odczytanych mikromacierzy (QC), koordynowałam prace dotyczące zbierania danych fenotypowych, bioinformatycznej i statystycznej analizy danych, napisałam szkic, a następnie ostateczną wersję manuskryptu. Mój udział w pracy szacuję na 70%.

3. Szopa M*, **Ludwig-Gałęzowska AH***, Radkowski P, Skupień J, Machlowska J, Klupa T, Wołkow P, Borowiec M, Młynarski W, Małecki MT. *A family with the Arg103Pro mutation in the NEUROD1 gene detected by next-generation sequencing – Clinical characteristics of mutation carriers*. Eur J Med Genet. 2016 Feb;59(2):75-9. doi: 10.1016/j.ejmg.2016.01.002. Epub 2016 Jan 8. PMID: 26773576.
**** pierwszy, równorzędny autor***

Pkt - 15 IF- 2.137 ($Scopus_{AS}$)14 (WoS^{CC}_{BS})15

Badania przedstawione w pracy były finansowane z projektu badawczego PTD pt. „Zastosowanie metody Sekwencjonowania Nowej Generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej w Polsce", którego byłam kierownikiem oraz grantu MNiSW "Poszukiwanie i charakterystyka kliniczna rzadkich form cukrzycy MODY", w którym pełniłam rolę wykonawcy. Samodzielnie przeprowadziłam wszystkie eksperymenty laboratoryjne, przygotowałam protokół do analizy danych, zinterpretowałam wyniki analiz, uczestniczyłam w pisaniu manuskryptu i procesie odpowiedzi do recenzentów. Mój udział w pracy szacuję na 40%.

4. **Ludwig-Słomczyńska AH#**, Rehm M. *Mitochondrial genome variations, mitochondrial-nuclear compatibility and their association with metabolic diseases*. Obesity 2022 May 2. doi: 10.1002/oby.23424
 # autor korespondencyjny

Pkt - 100 IF - 5.002

Badania przedstawione w pracy były finansowane z projektu badawczego PTD pt. "Badanie wpływu zmian metabolicznych na ekspresję genów w tkance tłuszczowej, ze szczególnym uwzględnieniem roli mitochondriów, w mysim modelu otyłości", którego jestem kierownikiem. Jestem autorką koncepcji i układu poszczególnych części pracy, napisałam pierwszą wersję pracy, jestem autorką wszystkich rysunków i tabeli, korespondowałam z edytorem i przygotowałam odpowiedzi dla recenzentów. Mój udział w pracy szacuję na 80%.

C. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).
2. **Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.**

A. Christian T. Hellwig, **Agnieszka H. Ludwig-Gałęzowska**, and Markus Rehm "FRET-based measurement of apoptotic caspase activities by high-throughput screening flow cytometry"; **Apoptosis Methods in Toxicology, Humana Press/Springer**; DOI 10.1007/978-01-4939-3588-8_7, ISBN: 978-1-4939-3588-8

3. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.
4. **Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).**

Prace opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora:

1. **Ludwig AH**, Bujko M, Bidziński M, Kupryjańczyk J. *CHFR gene is neither mutated nor hypermethylated in ovarian cancer*. Cancer Detect Prev. 2007;31(3):257-61. doi: 10.1016/j.cdp.2006.04.005. Epub 2007 Jul 30. PMID: 17673375

   Pkt - 15 IF - 1.600 (Scopus$_{AS}$) 5 (WoS$^{CC}_{BS}$) 5

2. **Ludwig AH**, Kupryjańczyk J. *Does MDR-1 G2677T/A polymorphism really associate with ovarian cancer response to paclitaxel chemotherapy?* Clin Cancer Res. 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):6204. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1374. PMID: 17062699

   Pkt - 21 IF - 6.177 (Scopus$_{AS}$) 11 (WoS$^{CC}_{BS}$) 10

3. Dansonka-Mieszkowska A, **Ludwig AH**, Kraszewska E, Kupryjańczyk J. *Geographical variations in TP53 mutational spectrum in ovarian carcinomas.* Ann Hum Genet. 2006 Sep;70(Pt 5):594-604. doi: 10.1111/j.1469-1809.2006.00257.x. PMID: 16907706

   Pkt - 16 IF - 2.727 (Scopus$_{AS}$) 24 (WoS$^{CC}_{BS}$) 25

Prace opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora

Prace przeglądowe:

1. **Ludwig-Galezowska AH**, Flanagan L, Rehm M. *Apoptosis repressor with caspase recruitment domain, a multifunctional modulator of cell death.* J Cell Mol Med. 2011 May;15(5):1044-53. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01221.x. PMID: 21129150; PMCID: PMC3822617.

   Pkt - 35 IF- 4.125 (Scopus$_{AS}$) 33 (WoS$^{CC}_{BS}$) 32

2. **Ludwig-Słomczyńska AH#**, Rehm M. *Mitochondrial genome variations, mitochondrial-nuclear compatibility and their association with metabolic diseases.* Obesity 2022 May 2. doi: 10.1002/oby.23424 *(publikacja wchodzi w skład osiągnięcia)*

Rozdział w monografii:

1. *FRET-based measurement of apoptotic caspase activities by high-throughput screening flow cytometry* Christian T. Hellwig, **Agnieszka H. Ludwig-Gałęzowska**, and Markus Rehm; **Apoptosis Methods in Toxicology, Humana Press/Springer**; DOI 10.1007/978-01-4939-3588-8_7

   Pkt - 5

Prace oryginalne (bez Osiągnięcia, prac przeglądowych i rozdziału w monografii):

1. Hohendorff J, Kwiatkowska M, Pisarczyk-Wiza D, **Ludwig-Słomczyńska A**, Milcarek M, Kapusta P, Zapała B, Kieć-Wilk B, Trznadel-Morawska I, Szopa M, Zozulińska-Ziółkiewicz D, Małecki MT. *The clinical characteristics and mutation search within monogenic diabetes genes in type 1 diabetes patients with long-term disease and preserved kidney function.* Pol Arch Intern Med. 2021 Nov 26. doi: 10.20452/pamw.16143. Epub ahead of print. PMID: 34825797.

Pkt - 140 IF - 3.277

2. Mrozinska S, Kapusta P, Gosiewski T, Sroka-Oleksiak A, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Matejko B, Kiec-Wilk B, Bulanda M, Malecki MT, Wolkow PP, Klupa T. *The Gut Microbiota Profile According to Glycemic Control in Type 1 Diabetes PatientsTreated with Personal Insulin Pumps. Microorganisms.* 2021 Jan 12;9(1):155. doi: 10.3390/microorganisms9010155. PMID: 33445500; PMCID: PMC7826603.

Pkt - 40 IF - 4.128 ($Scopus_{AS}$)3 (WoS^{CC}_{BS})4

3. Sroka-Oleksiak A, Gosiewski T, Pabian W, Gurgul A, Kapusta P, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Wołkow PP, Brzychczy-Włoch M. *Next-Generation Sequencing as a Tool to Detect Vaginal Microbiota Disturbances during Pregnancy.* Microorganisms. 2020 Nov 18;8(11):1813. doi: 10.3390/microorganisms8111813. PMID: 33217908; PMCID: PMC7698737.

Pkt - 40 IF - 4.128 ($Scopus_{AS}$) 5 (WoS^{CC}_{BS})5

4. Kowalska-Duplaga K, Kapusta P, Gosiewski T, Sroka-Oleksiak A, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Wołkow PP, Fyderek K. *Changes in the Intestinal Microbiota Are Seen Following Treatment with Infliximab in Children with Crohn's Disease.* J Clin Med. 2020 Mar 4;9(3):687. doi: 10.3390/jcm9030687. PMID: 32143438; PMCID: PMC7141282.

Pkt - 140 IF - 4.242 ($Scopus_{AS}$)9 (WoS^{CC}_{BS})10

5. Rys P, Borys S, Hohendorff J, Zapala A, Witek P, Monica M, Frankfurter C, **Ludwig-Slomczynska A**, Kiec-Wilk B, Malecki MT. *NPWT in diabetic foot wounds-a systematic review and meta-analysis of observational studies.* Endocrine. 2020 Apr;68(1):44-55. doi: 10.1007/s12020-019-02164-9. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31919770.

Pkt - 100 IF - 3.633 ($Scopus_{AS}$)5 (WoS^{CC}_{BS})5

6. Kowalska-Duplaga K, Gosiewski T, Kapusta P, Sroka-Oleksiak A, Wędrychowicz A, Pieczarkowski S, **Ludwig-Słomczyńska AH**, Wołkow PP, Fyderek K. *Differences in the intestinal microbiome of healthy children and patients with newly diagnosed Crohn's disease.* Sci Rep. 2019 Dec 11;9(1):18880. doi: 10.1038/s41598-019-55290-9. PMID: 31827191; PMCID: PMC6906406.

Pkt - 140 IF - 3.998 ($Scopus_{AS}$)39 (WoS^{CC}_{BS})40

7. Hohendorff J, Drozdz A, Borys S, **Ludwig-Slomczynska AH**, Kiec-Wilk B, Stepien EL, Malecki MT. *Effects of Negative Pressure Wound Therapy on Levels of Angiopoetin-2 and Other Selected Circulating Signaling Molecules in Patients with Diabetic Foot Ulcer.* J Diabetes Res. 2019 Oct 28;2019:1756798. doi: 10.1155/2019/1756798. PMID: 31781660; PMCID: PMC6855047.

Pkt - 100 IF - 2.965 ($Scopus_{AS}$)4 (WoS^{CC}_{BS})3

8. Hohendorff J, Zapala B, **Ludwig-Slomczynska AH**, Solecka I, Ucieklak D, Matejko B, Mrozinska S, Malecki MT, Szopa M. *The utility of MODY Probability Calculator in probands of families with early-onset autosomal dominant diabetes from Poland.* Minerva Med. 2019

Dec;110(6):499-506. doi: 10.23736/S0026-4806.19.06053-1. Epub 2019 Oct 14. PMID: 31638358.

Pkt - 70 IF - 3.031

9. **Ludwig-Slomczynska AH**, Borys S, Seweryn MT, Hohendorff J, Kapusta P, Kiec- Wilk B, Pitera E, Wolkow PP, Malecki MT. *DNA methylation analysis of negative pressure therapy effect in diabetic foot ulcers.* Endocr Connect. 2019 Nov;8(11):1474-1482. doi: 10.1530/EC-19-0373. PMID: 31634866; PMCID: PMC6865364.

Pkt - 100 IF - 2.592 ($Scopus_{AS}$)4 (WoS^{CC}_{BS})4

10. Borys S, **Ludwig-Slomczynska AH**, Seweryn M, Hohendorff J, Koblik T, Machlowska J, Kiec-Wilk B, Wolkow P, Malecki MT. *Negative pressure wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcers may be mediated through differential gene expression.* Acta Diabetol. 2019 Jan;56(1):115-120. doi: 10.1007/s00592-018-1223-y. Epub 2018 Sep 17. PMID: 30221321; PMCID: PMC6346079.

Pkt - 30 IF - 2.996 ($Scopus_{AS}$)11 (WoS^{CC}_{BS})11

11. Borys S, Hohendorff J, Koblik T, Witek P, **Ludwig-Slomczynska AH**, Frankfurter C, Kiec-Wilk B, Malecki MT. *Negative-pressure wound therapy for management of chronic neuropathic noninfected diabetic foot ulcerations - short-term efficacy and long-term outcomes.* Endocrine. 2018 Dec;62(3):611-616. doi: 10.1007/s12020-018-1707-0. Epub 2018 Aug 11. PMID: 30099674; PMCID: PMC6244911.

Pkt - 25 IF - 3.296 ($Scopus_{AS}$)17 (WoS^{CC}_{BS})15

12. Jabrocka-Hybel A, Skalniak A, Piątkowski J, Turek-Jabrocka R, Vyhouskaya P, **Ludwig-Słomczyńska A**, Machlowska J, Kapusta P, Małecki M, Pach D, Trofimiuk- Müldner M, Lizis-Kolus K, Hubalewska-Dydejczyk A. *How much of the predisposition to Hashimoto's thyroiditis can be explained based on previously reported associations?* J Endocrinol Invest. 2018 Dec;41(12):1409-1416. doi: 10.1007/s40618-018-0910-4. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29931474; PMCID: PMC6244553.

Pkt - 15 IF - 3.439 ($Scopus_{AS}$)9 (WoS^{CC}_{BS})8

13. Salamon D, Sroka-Oleksiak A, Kapusta P, Szopa M, Mrozińska S, **Ludwig- Słomczyńska AH**, Wołkow PP, Bulanda M, Klupa T, Małecki MT, Gosiewski T. *Characteristics of gut microbiota in adult patients with type 1 and type 2 diabetes based on next-generation sequencing of the 16S rRNA gene fragment.* Pol Arch Intern Med. 2018 Jun 30;128(6):336-343. doi: 10.20452/pamw.4246. Epub 2018 Apr 15. PMID: 29657308.

Pkt - 30 IF - 2.882 ($Scopus_{AS}$)47 (WoS^{CC}_{BS})45

14. Rys PM*, **Ludwig-Slomczynska AH***, Cyganek K, Malecki MT. *Continuous subcutaneous insulin infusion vs multiple daily injections in pregnant women with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies.* Eur J Endocrinol. 2018 May;178(5):545-563. doi: 10.1530/EJE-17-0804. Epub 2018 Mar 15. PMID: 29545258.

Pkt - 30 **IF- 5.107** **(Scopus$_{AS)}$ 23 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$24**

15. Zielińska S, Radkowski P, Ossowski T, **Ludwig-Gałęzowska A**, Łoś JM, Łoś M. *First insight into microbial community composition in a phosphogypsum waste heap soil.* Acta Biochim Pol. 2017;64(4):693-698. doi: 10.18388/abp.2017_2297. Epub 2017 Dec 16. PMID: 29247505.

Pkt - 15 **IF - 1.239** **(Scopus$_{AS)}$4 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$4**

16. Hohendorff J, Szopa M, Skupien J, Kapusta M, Zapala B, Platek T, Mrozinska S, Parpan T, Glodzik W, **Ludwig-Galezowska A**, Kiec-Wilk B, Klupa T, Malecki MT. *A single dose of dapagliflozin, an SGLT-2 inhibitor, induces higher glycosuria in GCK- and HNF1A-MODY than in type 2 diabetes mellitus.* Endocrine. 2017 Aug;57(2):272-279. doi: 10.1007/s12020-017-1341-2. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28593615; PMCID: PMC5511327.

Pkt - 25 **IF - 3.179** **(Scopus$_{AS)}$18 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$16**

17. Siedlinski M, Nosalski R, Szczepaniak P, **Ludwig-Gałęzowska AH**, Mikołajczyk T, Filip M, Osmenda G, Wilk G, Nowak M, Wołkow P, Guzik TJ. *Vascular transcriptome profiling identifies Sphingosine kinase 1 as a modulator of angiotensin II- induced vascular dysfunction.* Sci Rep. 2017 Mar 9;7:44131. doi: 10.1038/srep44131. PMID: 28276483; PMCID: PMC5343497.

Pkt - 40 **IF - 4.112** **(Scopus$_{AS)}$28 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$27**

18. Zielińska S, Radkowski P, Blendowska A, **Ludwig-Gałęzowska A**, Łoś JM, Łoś M. *The choice of the DNA extraction method may influence the outcome of the soil microbial community structure analysis.* Microbiologyopen. 2017 Aug;6(4):e00453. doi: 10.1002/mbo3.453. Epub 2017 Feb 20. PMID: 28217901; PMCID: PMC5552907.

Pkt - 20 **IF - 2.682** **(Scopus$_{AS)}$30 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$28**

19. Mrozinska S, Radkowski P, Gosiewski T, Szopa M, Bulanda M, **Ludwig-Galezowska AH**, Morawska I, Sroka-Oleksiak A, Matejko B, Kapusta P, Salamon D, Malecki MT, Wolkow P, Klupa T. *Qualitative Parameters of the Colonic Flora in Patients with HNF1A-MODY Are Different from Those Observed in Type 2 Diabetes Mellitus*. J Diabetes Res. 2016;2016:3876764. doi: 10.1155/2016/3876764. Epub 2016 Oct 11. PMID: 27807544; PMCID: PMC5078663.

Pkt - 30 **IF - 3.639** **(Scopus$_{AS)}$11 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$8**

20. Gosiewski T*, **Ludwig-Galezowska AH***, Huminska K, Sroka-Oleksiak A, Radkowski P, Salamon D, Wojciechowicz J, Kus-Slowinska M, Bulanda M, Wolkow PP. *Comprehensive detection and identification of bacterial DNA in the blood of patients with sepsis and healthy volunteers using next-generation sequencing method – the observation of DNAemia.* Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Feb;36(2):329-336. doi: 10.1007/s10096-016-2805-7. Epub 2016 Oct 22. PMID: 27771780; PMCID: PMC5253159.

Pkt - 30 **IF - 2.309** **(Scopus$_{AS)}$67 (WoS$^{CC}{}_{BS)}$68**

21. Szopa M*, **Ludwig-Gałęzowska A***, Radkowski P, Skupień J, Zapała B, Płatek T, Klupa T, Kieć-Wilk B, Borowiec M, Młynarski W, Wołkow P, Małecki MT. *Genetic testing for monogenic*

diabetes using targeted next-generation sequencing in patients with maturity-onset diabetes of the young. Pol Arch Med Wewn. 2015;125(11):845-51. doi: 10.20452/pamw.3164. Epub 2015 Nov 9. PMID: 26552609.

Pkt - 25 IF - 2.504 ($Scopus_{AS}$)31 (WoS^{CC}_{BS})27

22. Hellwig CT, **Ludwig-Galezowska AH**, Concannon CG, Litchfield DW, Prehn JH, Rehm M. *Activity of protein kinase CK2 uncouples Bid cleavage from caspase-8 activation.* J Cell Sci. 2010 May 1;123(Pt 9):1401-6. doi: 10.1242/jcs.061143. Epub 2010 Mar 31. PMID: 20356928.

Pkt - 32 IF - 6.290 ($Scopus_{AS}$)24 (WoS^{CC}_{BS})21

23.Ludwig AH, Murawska M, Panek G, Timorek A, Kupryjanczyk J. *Androgen, progesterone, and FSH receptor polymorphisms in ovarian cancer risk and outcome.* Endocr Relat Cancer. 2009 Sep;16(3):1005-16. doi: 10.1677/ERC-08-0135. Epub 2009 May 20. PMID: 19458022.

Pkt - 30 IF - 4.282 ($Scopus_{AS}$)47 (WoS^{CC}_{BS})43

24. **Meeting Abstract** : *Foetal outcomes in pregnancies complicated by type 1 diabetes treated with multiple daily injections of insulin and insulin pumps: a systematic review and meta-analysis*. Diabelologia vol. 60 page S319-S320.

(WoS^{CC}_{BS})1

25. **Meeting Abstract:** *Negative pressure wound therapy effect in diabetic foot ulcer may be mediated through differential gene expression*. Diabetologia vol. 60 page S470-S470.
(WoS^{CC}_{BS})1

(WoS^{CC}_{BS}) - Dane pochodzące z bazy *Web of Science Core Collection Basic Search*

($Scopus_{AS}$) – dane pochodzące z bazy *Scopus Author Search*

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).
6. **Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).**

Seria książek dla dzieci o dokonaniach wielkich Polaków, Wydawnictwo Czarna Owca:

A „Mieczysław Bekker. Inżynier pojazdu księżycowego", ISBN 978-83-8143-897-1
A. „Krystyna Skarbek. Szpieg w spódnicy", ISBN 978-83-8143-898-8
B. „Ernest Malinowski. Konstruktor kolei w Andach", ISBN 978-83-8143-899-5
C. „Simona Kossak. Mieszkanka dzikiej puszczy", ISBN 978-83-8143-912-1

7. **Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.**

Ustne doniesienia zjazdowe (po uzyskaniu stopnia doktora):

- *Analiza interakcji wariantów genowych z genomu jądrowego i mitochondrialnego i ich wpływu na BMI u pacjentek z cukrzycą typu 1* – XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2018
- *Poszukiwanie wariantów genetycznych wpływających na czas rozpoznania cukrzycy HNF1A-MODY* – XVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2017
- *Analiza jakościowa i ilościowa flory bakteryjnej bioptatów z dwunastnicy u pacjentów z otyłością i cukrzycą typu 2 z zastosowaniem sekwencjonowania nowej generacji* - XVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2016
- *Zastosowanie metody sekwencjonowanie nowej generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej w Polsce* – XVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2016
- *Sekwencjonowanie starej i nowej generacji - jak w praktyce wykorzystać ich możliwości* – XVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2015
- *Genetic Testing for Monogenic Diabetes Using Targeted Next-Generation Sequencing in the MODY Registry Cohort of Poland*, Recent Advances in Omics Research and Dissemination Conference of the OMICRON Project 2014

Plakaty

Po uzyskaniu stopnia doktora:

- Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2020
- Zjazd American Diabetes Association 2019
- Zjazd RNA Sociaty 2019
- Donau Sympozjum 2018
- Polish Scientific Network 2018
- Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2018
- ICDM 2018
- World Congress of Mitochondria 2017
- Krakowski Dzień Genomiki 2017
- Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2017
- Zjazd European Association for the Study of Diabetes 2017
- Zjazd SGGD 2017
- Zjazd American Diabetes Association 2017
- Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów 2016
- Polski Kongres Genetyki 2016
- Zjazd Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego 2016
- Zjazd European Association for the Study of Diabetes 2015
- Zjazd EASD Study Group on Genetics of Diabetes meeting 2015
- The Endocrine Society's 97th Annual Meeting and Expo 2015
- VIII Konferencja PFED "Powikłania I cukrzyca – luksus posiadania wyobraźni" 2013
- BioPhotonics and Imaging Conference (BioPIC) 2010

Przed uzyskaniem stopnia doktora:

- National Cancer Research Institute Cancer Conference 2007
- II Polski Kongres Genetyki 2007

- II Kongres Onkologii Polskiej 2006
- 2nd International Congress of the European Society of Pathology 2006

8. Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

A. Kurs *Targeted NGS in patients with cancer, mendelian or complex diseases,* European Molecular Biology Organization (EMBO), 19-23 września 2016, Kraków - współorganizator
B. Kurs *Network Biology Workshop – Cytoscape* - 11-15 stycznia 2016, Kraków - współorganizator
C. Kurs *High-throughput techniques in the fields of genomics, transcriptomics and proteomics,* 2-6 marca 2015, Kraków - współorganizator
D. Kurs *Applications of genetics in clinical practice with diabetic patients*, RISE Seminar, 6-7 maja 2015, Kraków -współorganizator
E. Kurs *At the crossroads of stem cell biology and omics technology,* 29 września – 5 października 2014, Kraków - współorganizator

9. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

Jako Kierownik

A. *Badanie wpływu zmian metabolicznych na ekspresję genów w tkance tłuszczowej, ze szczególnym uwzględnieniem roli mitochondriów, w mysim modelu otyłości* - ***Polskie Towarzystwo Diabetologiczne*** 2018 – 2022
B. *Zastosowanie metody Sekwencjonowania Nowej Generacji do poszukiwania podłoża genetycznego cukrzycy monogenowej w Polsce* - ***Polskie Towarzystwo Diabetologiczne*** 2015 – 2018
C. *Poszukiwanie wariantów genetycznych związanych z narastaniem masy ciała w ciąży u pacjentek z cukrzyc typu 1 przy zastosowaniu metody badania asocjacji całego genomu* – ***Sonata Narodowe Centrum Nauki***, 2014 – 2018
D. *Establishing biophotonic workflows for high-throughput cytometry and 3D time lapse imaging to investigate cancer cell resistance to apoptosis* - ***Grant Europejski (7 Program Ramowy) – Marie Curie*** – 2009-2011

***Jako Wykonawca*:**

A. *Ocena mechanizmów molekularnych działania terapii podciśnieniowej w leczeniu owrzodzeń neuropatycznych w zespole stopy cukrzycowej* - ***Narodowe Centrum Nauki***
B. *Targeting the Cell Death Resistance of Cervical Cancer Cells: a qualitative and quantitative evaluation of Smac/Smac like Peptides and Proteasome Inhibitors in the treatment of cancer* - ***Health Research Board Ireland***

C. *New approach to Existing MODY Biomarkers and the Development of Novel Ones* - ***European Association for the Study of Diabetes***

D. *Poszukiwanie i charakterystyka kliniczna rzadkich form cukrzycy MOD*" – Iuventus, ***Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego***

E. *Poszukiwanie defektów monogenowych w patogenezie wrodzonej hipoglikemii noworodków* - ***Polskie Towarzystwo Diabetologiczne***

F. Badanie flory bakteryjnej przewodu pokarmowego u pacjentów z cukrzycą typu 1 i 2 oraz z otyłością olbrzymią lub patologiczną poddawanych zabiegowi rękawowej resekcji żołądka ***- Narodowe Centrum Nauki***

G. *Mechanizmy epigenetyczne jako nowe czynniki ryzyka rozwoju neuropatii cukrzycowej w cukrzycy typu 1* - ***Narodowe Centrum Nauki***

H. *Wpływ inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV na ilościowe i jakościowe parametry jelitowej flory bakteryjnej u pacjentów z cukrzycą typu 2 i cukrzycą typu HNF1A* - „Generacja Przyszłości" ***Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego***

Przed uzyskaniem stopnia doktora:

A. *Analiza genów wytypowanych w badaniach mikromacierzy DNA, potencjalnych markerów chemiooporności i przeżycia u pacjentek z rakiem jajnika. Ocena ich statusu w nowotworze I klinicznego znaczenia* – ***Komitet Badań Naukowych***

B. *Próba ustalenia molekularnych wskazań do wyboru rodzaju chemioterapii u pacjentek z rakiem jajnika. Retrospektywne badania wieloośrodkowe* - ***Komitet Badań Naukowych***

C. *Badania nad molekularną patogenezą nowotworów oraz wykorzystanie metod biologii molekularnej, genomiki i proteomiki dla wczesnego wykrywania, optymalizacji leczenia i rozwoju nowych metod terapii nowotworów złośliwych* – ***Komitet Badań Naukowych***

10. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

A. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne - członek
B. Polskie Towarzystwo Genetyczne - członek
C. European Association for the Study of Diabetes - członek
D. RNA Society - członek

11. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

A. Listopad 2008 – sierpień 2010 – staż podoktorski Marie Curie Fellowship FP7 (NBIP CEMP), *Royal College of Surgeons* - ***Dublin, Irlandia, 22 miesiące***

B. **Czerwiec 2014** - *Bioinformatics for Cancer Genomics (BiCG)* - ***Toronto, Kanada, 1 tydzień***

C. **Luty 2014** - *Metagenomic Sequencing* – ***Lyon, Francja, 2 tygodnie***

D. **Październik 2013** - *NGS & Bioinformatics Europe Summit* - ***Berlin, Niemcy, 1 tydzień***

E. **Maj 2013** - *Spring School "Epigenetics of civilization diseases"* – ***Lipsk, Niemcy, 1 tydzień***

F. **Styczeń 2013** - *Workshop on Genomics* – ***Cesky Krumlov, Czechy, 2 tygodnie***

12. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).
13. **Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.**

A. Recenzent w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym m.in. *BBA – Molecular Cell Research, Cancers, Pathogens, Diagnostics, Antioxidants, Biomolecules*
B. Recenzent dla Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA)

14. **Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.**

Udział w grantach międzynarodowych:

A. *Establishing biophotonic workflows for high-throughput cytometry and 3D time lapse imaging to investigate cancer cell resistance to apoptosis* - ***Grant Europejski (7 Program Ramowy) – Marie Curie*** – 2009-2011 – ***Kierownik***
B. *Targeting the Cell Death Resistance of Cervical Cancer Cells: a qualitative and quantitative evaluation of Smac/Smac like Peptides and Proteasome Inhibitors in the treatment of cancer* - ***Health Research Board Ireland - Wykonawca***
C. *New approach to Existing MODY Biomarkers and the Development of Novel Ones* - ***European Association for the Study of Diabetes - Wykonawca***

15. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.
16. **Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.**

A. Recenzent dla Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (NAWA)

D. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.
2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym.
3. **Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty, krajowe lub międzynarodowe.**

A. **Patent 235777, PL** – Wynalazek pod tytułem *Startery, sposób i zestaw diagnostyczny do diagnozowania sepsy*
B. **Patent EP 3320110, EU** - Niemcy, Wielka. Brytania, Francja, Włochy, Hiszpania, Szwajcaria - *16S Ribosomal RNA universal primers and use thereof in microbial analysis and diagnostics*

C. **Patent US 2018/0195111 A1, US** - *16S Ribosomal RNA universal primers and use thereof in microbial analysis and diagnostics*

4. Informacja o wdrożonych technologiach.
5. Informacja o wykonanych ekspertyzach lub innych opracowaniach wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.
6. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.
7. Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

E. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

1. **Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).**

Sumaryczny ($_{\Sigma}$) *Impact Factor* (IF) wg bazy *Journal Citation Reports* (JCR) – **IF_{Σ} = 111,022**

2. **Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.**

Analiza cytowań przeprowadzona w dniu 24.05.2022 r. przedstawia się następująco:

- w bazie *Web of Science Core Collection Basic Search* (WoS^{CC}_{BS}):
  - liczna cytowań – **509,** liczba bez autocytowań - **494**
  - indeks Hirscha – ***h = 14***
- w bazie *Scopus Author Search* ($Scopus_{AS}$):
  - liczba cytowań – **528,** liczba bez autocytowań- **514**
  - indeks Hirscha – ***h = 14***

3. **Informacja o posiadanym indeksie Hirscha.**

Indeks Hirscha – ***h = 14***

4. **Informacja o liczbie punktów MNiSW.**

Liczba punktów wg Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) – **1654** pkt

Informacje zawarte w pkt. IV powinny wskazywać również na bazę danych, na podstawie której zostały podane.
Przy wyborze tej bazy należy zwracać uwagę na specyfikę dziedziny i dyscypliny naukowej, w której kandydat ubiega się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.
Rada Doskonałości Naukowej informuje, że podawanie danych naukometrycznych – w opinii Rady Doskonałości Naukowej – jest wskazane i zalecane, wynika to także ze stosowanej powszechnie praktyki przez samych kandydatów ubiegających się o awans naukowy. Należy jednak podkreślić, że podane we wnioskach o wszczęcie postępowania awansowego dane

naukometryczne nie mogą stanowić kryterium oceny dorobku naukowego Kandydata dla podmiotów doktoryzujących, habilitujących oraz samej Rady Doskonałości Naukowej, organów prowadzących postępowania w sprawie nadania stopnia lub tytułu. Zadaniem tych organów jest przede wszystkim ocena ekspercka dorobku naukowego Kandydata ubiegającego się o awans naukowy, zaś decyzja o nadaniu stopnia lub tytułu nie powinna być uzależniona od podania tych danych.

.....

(podpis wnioskodawcy)