

Prof. dr hab. Maria Górska

15-277 Białystok ul. Świętojańska 19/19

OPINIA

W POSTĘPOWANIU W SPRAWIE NADANIA STOPNIA DOKTORA HABILITOWANEGO W DZIEDZINIE NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O ZDROWIU W DYSCYPLINIE NAUKI MEDYCZNE DR N. MED. AGNIESZCE GACH

I . Dane osobowe i przebieg pracy:

Dr n. med. Agnieszka Gach w 2002 roku uzyskała dyplom lekarza na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie. Bezpośrednio po studiach odbyła dwuletni staż naukowy na stanowisku Research Fellow w Department Cardiology, Brigham and Women`s Hospital and Harvard Medical School w Bostonie. Pod kierunkiem prof. Urliki Mende poznawała techniki biologii molekularnej takie jak izolacja DNA, białka frakcji subkomórkowych, Western blot, Northern blot, real time PCR. Z tak wszechstronnym, doskonałym przygotowaniem rozpoczęła studia doktoranckie w I Katedrze Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Trafiła do znakomitego zespołu kierowanego przez profesora Wojciecha Młynarskiego zajmującego się badaniami genetycznymi w cukrzycy noworodkowej. Studia doktoranckie zakończyła obroną pracy doktorskiej pt. ” Zmienność genu KCNJ11 kodującego podjednostkę Kir6.2 ATP-zależnego kanału potasowego w cukrzycy wieku rozwojowego.” Praca została wyróżniona. Ponadto badania z tego okresu zaowocowały współautorstwem 10 publikacji w tym 4 w najlepszych, światowych pismach diabetologicznych. Kandydatka w 2006 roku rozpoczęła również pracę jako młodszy asystent w Zakładzie Genetyki Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Od 2009 roku kontynuowała prace w tymże Zakładzie jako lekarz rezydent. W 2013 roku uzyskała specjalizację z genetyki klinicznej. Kontynuowała prace w Zakładzie Genetyki Instytutu Matki Polki jako starszy asystent a od 2019 jako adiunkt pełniący obowiązki Kierownika tego Zakładu.

II. Ocena osiągnięcia naukowego

Tytuł osiągnięcia naukowego: „Badania nad podłożem genetycznym wrodzonego hipogonadyzmu hipogonadotropowego”. Na wymienione osiągnięcie składają się trzy prace oryginalne: 1. Expanding the mutational spectrum of monogenic hypogonadotropic hypogonadism: novel mutations in ANOS1 and FGFR1 genes. (*Reprod Biol Endocrinol* 2020) **IF=3.235**; 2. New findings in oligogenic inheritance of congenital hypogonadotropic hypogonadism (*Arch Med. Sci* 2020) **IF=2.807**; 3. Identification of gene variants in a cohort of hypogonadotropic hypogonadism: Diagnostic utility of custom NGS panel and WES in unravelling genetic complexity of the disease. (*Mol Cell Endocrinol* 2020) **IF=3.871**. We wszystkich wymienionych publikacjach dr Agnieszka Gach jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Łączny impact factor tych publikacji wynosi **9,913** a punktacja **MNiSW 310**.

Hipogonadyzm hipogonadotropowy jest rzadką jednostką chorobową, dotyczy około 0,025% populacji. Przyczyną tego zespołu jest zaburzenie funkcji osi podwzgórze - przysadka-gonady. Może ono wynikać z przyczyn wrodzonych albo uszkodzenia okolicy podwzgórza i przysadki mózgowej. Klinika tego zespołu jest bardzo zróżnicowana. Objawy kliniczne mogą występować w okresie noworodkowym, okresie dojrzewania ale też w wieku dorosłym. W ponad połowie przypadków hipogonadyzmowi towarzyszą zaburzenia węchu, mówimy wtedy o Zespole Kallmanna. Mogą też współwystępować inne wady takie jak rozszczep wargi i podniebienia, zniekształcenie małżowin usznych, wady uzębienia, niedosłuch. Wrodzony hipogonadyzm jest związany z mutacją ponad 40 genów. Sposób dziedziczenia w tych schorzeniach też jest różny. Wszystkie te sytuacje powodują, że podłoże molekularne hipogonadyzmu nie we wszystkich przypadkach jest możliwe do ustalenia. Celem badań Kandydatki było pogłębienie wiedzy na ten temat. Autorka do swoich badań bardzo starannie wyselekcjonowała przypadki wykluczając inne przyczyny hipogonadyzmu hipogonadotropowego. Stosowała sekwencjonowanie następnej generacji, nowoczesną metodę dobrą do oceny przyczyn genetycznych rzadkich chorób. Stosowała ogólnodostępne bazy danych do porównywania uzyskanych wyników oraz odpowiednie oprogramowanie do analizy wariantów. Doktor Gach poszukiwała nowych wariantów znanych genów, ewentualnych nowych kombinacji genowych. Spodziewała się, że wyniki jej badań pogłębią wiedzę o molekularnym podłożu hipogonadyzmu hipogonadotropowego co w efekcie mogłoby poprawić i przyspieszyć diagnostykę molekularną tych przypadków. Wszystkie

warianty patogenne były weryfikowane metodą sekwencjonowania Sangera co zwiększa wiarygodność wyników.

W pierwszej z cyklu publikacji wchodzącego w skład osiągnięcia naukowego (*Expanding the mutational spectrum of monogenic hypogonadotropic hypogonadism: novel mutations in ANOS1 and FGFR1 genes* . *Reprod Biol Endocrinol* 2020) dr Agnieszka Gach przedstawiła wyniki badań dwóch najdłużej i najlepiej znanych genów związanych z występowaniem hipogonadyzmu hipogonadotropowego. Gen ANOS1 koduje białko anosminę-1 które stymuluje wzrost aksonów neuronów GnRH i migrację neuronów węchowych. Mutacje tego genu występują u chorych z zespołem Kallmanna. Gen FGFR1 koduje receptor dla czynnika wzrostu fibroblastów. Receptor ten odgrywa ważną rolę w migracji i różnicowaniu neuronów. Oba te geny warunkują ok 20% przypadków hipogonadyzmu hipogonadotropowego. Autorka zidentyfikowała w grupie 47 badanych wariant genu ANOS1 – nieopisaną wcześniej delecję pojedynczego nukleotydu c.313delT. Analiza zmienności genu FGFR1 wykazała również nieopisane wcześniej warianty u 4 pacjentów w tym 3 mutacje typu missens. Wszystkie te warianty zostały zakwalifikowane jako prawdopodobnie patogenne.

Uzyskane wyniki potwierdzają dużą zmienność genetyczną badanych regionów i wskazują na konieczność kontynuacji takich badań celem poszerzenia patogenezy rzadkiego zespołu jakim jest hipogonadyzm hipogonadotropowy.

Druga z cyklu publikacja (*New findings in oligogenic inheritance of congenital hypogonadotropic hypogonadism*. *Arch Med. Sci* 2020) poświęcona jest dziedziczeniu niemendlowskiemu wrodzonego hipogonadyzmu hipogonadotropowego. Doktor Agnieszka Gach zaplanowała zbadanie panelu 51 genów. Zawierał on zarówno geny znane jako przyczyna hipogonadyzmu hipogonadotropowego jak również geny kandydackie wybrane na podstawie danych wskazujących na ich rolę w regulacji osi podwzgórze – przysadka – gonady. Te badania pozwoliły na wykazanie u 5 badanych 12 rzadkich heterozygotycznych wariantów o patogenności w klasach 5,4 i 3. Warianty te występowały w układzie dwu i trzygenowym. Autorka badała również rodziców pacjentów co pozwoliło na wykazanie kilku kombinacji wariantów od obojga rodziców. Wszystkie nowo opisane warianty znajdowały się w genach wiązanych wcześniej z wrodzonym hipogonadyzmem hipogonadotropowym. Jednakże kombinacje wariantów przedstawione w tych badaniach po raz pierwszy zostały opisane przez Autorkę tej publikacji. Doktor Gach wnioskuje, że warianty oligogenowe nie powodujące efektów fenotypowych mogą być zaniżone . Uzyskane wyniki sugerują konieczność dalszych badań w tym zakresie.

Trzecia publikacja (*Identification of gene variants in a cohort of hypogonadotropic hypogonadism: Diagnostic utility of custom NGS panel and WES in unravelling genetic complexity of the disease. Mol Cell Endocrinol 2020*) zawiera analizę skuteczności i praktycznej przydatności metody sekwencjonowania następnej generacji z wykorzystaniem autorskiego panelu genów oraz diagnostyki metodą sekwencjonowania całoksomowego WES. W pierwszym etapie sekwencjonowaniem następnej generacji 47 pacjentów u 12 badanych uzyskano diagnozę molekularną hipogonadyzmu hipogonadotropowego . wykazano wśród nich nowe, wcześniej nieopisane warianty w genach CHD7 i PROKR2. U 5 pacjentów znaleziono potencjalnie patogenne warianty genów. W drugim etapie badania u 15 pacjentów wykonano sekwencjonowanie całoksomowe. Odczyty porównano z najnowszą wersją genomu referencyjnego GRCh38. Wynikiem tego badania było zidentyfikowanie w sześciu przypadkach obecności rzadkiego wariantu w pojedynczym genie. W tym dwuetapowym badaniu w efekcie zidentyfikowano potencjalnie istotne warianty u 28 z 47 pacjentów, z czego u 19 uznano, że wykazana zmienność wystarczy do ustalenia diagnozy molekularnej. Autorka uzasadnia, że stosowanie obu tych metod znacznie poprawia diagnostykę molekularną hipogonadyzmu hipogonadotropowego.

Doktor nauk medycznych Agnieszka Gach przy zastosowaniu nowoczesnych, złożonych metod molekularnych uzyskała bardzo interesujące wyniki i opublikowała je w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Badania te poza wartością naukową mają też duże znaczenie praktyczne. Poszerzyły też spektrum mutacji przyczyniających się do rozwoju hipogonadyzmu hipogonadotropowego. Ponadto wskazują na możliwość i konieczność badań prowadzących do ustalenia pełnego spektrum. Należy podkreślić, że przeprowadzone badania były finansowane z grantu naukowego uzyskanego przez Kandydatkę z NCN.

III. Pozostałe osiągnięcia naukowe i dydaktyczne

Dr nauk medycznych Agnieszka Gach jest autorką i współautorką 32 publikacji. Łączny IF Jej dorobku wynosi **84.605** a punktacja **KBN/MNiSW 1113**. Liczba cytowań wynosi 403, bez autocytowań 392; indeks Hirscha – 8

Po wyłączeniu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe wartość dorobku wynosi **IF= 74.69**, w tym publikacje, w których Kandydatka jest pierwszym autorem **IF=7.851**. Przed doktoratem dr Agnieszka Gach była już współautorką i autorką 13 publikacji o wartości

IF=36.104 i punktacji KBN/MNiSW 161. Natomiast po doktoracie jest współautorką i autorką 17 publikacji o wartości IF=48.501 i punktacji KBN/MNiWS 959.

Bezpośrednio po studiach, w trakcie 2 letniego stażu naukowego dr n.med. Agnieszka Gach pracowała w zespole zajmującym się molekularnymi mechanizmami rozwoju przerostu mięśnia sercowego. Efektem tej pracy było współautorstwo dwóch publikacji: *Selective loss of fine tuning of Gq/11 signaling by RGS2 protein exacerbates cardiomyocyte hypertrophy. J Biol Chem* 2006 oraz *Enhanced calcium cycling and contractile function in transgenic hearts expressing constitutively active G alpha^o*protein. Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007. Badania były prowadzone na hodowlach kardiomiocytów oraz na transgenicznym myszach. Wyniki pozwalają na precyzyjniejsze wyjaśnienie patomechanizmów przerostu i niewydolności mięśnia sercowego.

Kolejna grupa publikacji powstała w czasie studiów doktoranckich, które doktorantka odbyła w Klinice Chorób Dzieci I Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Wojciecha Młynarskiego. Dr Agnieszka Gach badała 49 osobową grupę pacjentów z cukrzycą noworodkową. Należy podkreślić, że była to druga co do wielkości na świecie grupa pacjentów z tą rzadką chorobą. Badania molekularne zmienności genu KCNJ1 kodującego podjednostkę Kir6.2 ATP-zależnego kanału potasowego zaowocowały rozprawą doktorską oraz szeregiem znakomych publikacji. W dwóch pracach z tego cyklu Kandydatka jest pierwszą autorką. Jedną z najlepszych i najbardziej znanych w środowisku diabetologicznym publikacji dr n.med. Agnieszki Gach jest powstała w tym okresie praca pt.: *Islet-specific antibody seroconversion in patients with long duration of permanent neonatal diabetes caused by mutations in the KCNJ1 gene* opublikowana w *Diabetes Care* w 2007 roku. Autorka dowodzi w niej występowania przeciwciał przeciw antygenom wysp trzustkowych u pacjentów z długo trwającą cukrzycą noworodkową skutecznie leczonych pochodnymi sulfonilomocznika i seronegatywnych w momencie rozpoznania.. Autorka tłumaczy to zjawisko wzrostem aktywności zmutowanego białka Kir6.2 prowadzącego do zwiększenia obrotu komórkowego i zwiększoną immunogennością komórek β . Proces autoimmunologiczny jest więc wtórny do dysfunkcji komórek spowodowanej mutacją. Kolejna ważna publikacja, której współautorką jest dr Gach to międzynarodowe badanie dotyczące cukrzycy noworodkowej. (*Referral rates for diagnostic testing support an incidence of permanent neonatal diabetes in three European countries of a least 1 in 2600000 live births. Diabetologia* 2009) Wykazano w nim większy niż szacowano wzrost zachorowań na ten rzadki typ cukrzycy. W tym okresie opublikowała również jako

pierwszy autor ciekawą pracę: *Neonatal diabetes in a child positive for islet cel antibodies at onset and Kir6.2 activating mutation. Diabetes Res Clin Pract 2009*. Opisany przypadek pokazuje trudności diagnostyczne i możliwości popełnienia błędu na przykładzie przypadku dziecka z cukrzycą noworodkową i dodatnimi przeciwciałami przeciwko wyspom. Matka dziecka posiadała identyczne przeciwciała i miała prawidłową tolerancję glukozy. Przeciwciała pochodziły więc od matki i uległy zanikowi. Był to więc przypadek cukrzycy noworodkowej. W kolejnej publikacji, której współautorką jest Kandydatka (*Sulfonylurea improves CNS function in a case of intermediate DEND syndrome caused by mutation in KCNJ1. Nat Clin Pract Neurol 2007*) przedstawiono wpływ glibenklamidu nie tylko na wyrównanie cukrzycy noworodkowej ale również na poprawę funkcji motorycznych i zdolności poznawczych leczonego dziecka. Dr n.med. Agnieszka Gach jest również współautorką czterech publikacji, które powstały w tym okresie w ramach współpracy z ośrodkiem krakowskim. Wszystkie te publikacje dotyczyły przebiegu klinicznego cukrzycy noworodkowej i wpływu pochodnej sulfonylomocznika na jej przebieg. Był to więc bardzo intensywny i owocny okres w karierze naukowej Kandydatki. W następnych latach dr n. med. Agnieszka Gach pracowała w Zakładzie Genetyki Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi.. W 2013 roku zdała egzamin specjalizacyjny z zakresu Genetyki Klinicznej. Podjęła też współpracę z Zakładem Biotechnologii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Owocem tej współpracy był cykl publikacji poświęconych badaniom patomechanizmów stanów przedrzucawkowych w ciąży. Badano gen kodujący białko NEMO. Białko to jest ważnym aktywatorem czynnika transkrypcyjnego NFκB. Wykazano, że ekspresja tego genu i jego transkryptów jest istotnie wyższa w komórkach krwi obwodowej kobiet ze stanem przedrzucawkowym. W badaniach tych wykazano również, że stan przedrzucawkowy ma charakter dziedziczny i wykazano sposób dziedziczenia tej patologii. Wyniki tych badań zostały przedstawione w 4 publikacjach w *Am J Obstet Gin 2016*, *PLoS One 2017*, oraz *Dis Markers 2018 i 2019*. Kandydatka jest współautorka tychże publikacji. W tym okresie powstawały również publikacje wynikające ze współpracy z innymi jednostkami. W wyniku współpracy z Kliniką Gastroenterologii, Immunologii i Pediatrii powstała praca opublikowana w *Adv Med. Sci 2016* w której przedstawiono prawdopodobny wpływ folianów w komórkach Treg u dzieci z różnymi typami alergii. Dr Agnieszka Gach jest też współautorką opisu przypadku pacjentki z lipodystrofią, znaczną opornością na insulinę i zespołem policystycznych jajników u której zidentyfikowała mutację genu laminy i potwierdziła odmatczyne pochodzenie wariantu. (*Endokrynol Pol 2015*). Jest też współautorką pracy poświęconej zależności dysplazji oskrzelowo-płucnej u noworodków a

stężeniem dysmutazy ponadtlenkowej (*J Perinat Med. 2019*), publikacji dotyczącej rodzinnej hipercholesterolemii (*Lipids Health Dis 2020*) oraz pracy metodycznej opisującą zmodyfikowaną, tanią, wysoce czułą i specyficzną metodę umożliwiającą szybką ocenę najczęstszych aneuploidii u płodu. (*Intern J Mol Scie 2019*). Jest to więc bogaty i interesujący dorobek.

W ocenie Kandydatki nie można pominąć działalności dydaktycznej. Prowadziła seminaria i ćwiczenia z zakresu pediatrii. Prowadziła również wykłady dla diagnostów specjalizujących się w laboratoryjnej genetyce medycznej oraz na kursach dla lekarzy specjalizujących się w genetyce klinicznej. Jest też autorką trzech dydaktycznych publikacji przeglądowych. Dr n. med. Agnieszka Gach jest opiekunem naukowych w trzech projektach młodych naukowców, promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim. Jest również recenzentem publikacji w kilku czasopismach o zasięgu międzynarodowym co świadczy o tym, że jest znanym naukowcem również poza granicami kraju. Od 2013 roku jest recenzentem NCN w konkursach PRELUDIUM i SONATA.

Podsumowanie

Dr n. med. Agnieszka Gach jest specjalistką w zakresie Genetyki Klinicznej i posiada znakomite przygotowanie z zakresu technik biologii molekularnej . Jest autorka i współautorką interesujących publikacji, których IF wynosi **84.605** a punktacja KBN/MNiSW **1113**. Publikacje Autorki były cytowane 344 razy, index Hirscha wynosi 9. Jest to więc znaczący dorobek. Osiągnięcie naukowe na które składa się cykl trzech publikacji, które ukazały się w czasopismach o zasięgu międzynarodowym wnoszą nowe wartości poznawcze. Dr Agnieszka Gach udokumentowała występowanie nowych wariantów genowych warunkujących wystąpienie hypogonadyzmu hypogonadotropowego. Jej badania przyczyniły się do powstania nowego narzędzia pozwalającego na ułatwienie i pogłębienie diagnostyki molekularnej tego zespołu. Osiągnięcie to zatem spełnia wszelkie kryteria określone w art. 219 ustawy. Z pełnym przekonaniem popieram zatem wniosek dr n. med. Agnieszki Gach o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.



Prof. dr hab. Maria Górską