Załącznik nr 2a
Do wniosku o przeprowadzenie postepowania habilitacyjnego
dr n. med. Moniki Piwowar

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Monika Weronika Piwowar

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

2007 - stopień dr n. med. uzyskany w Krakowie w Collegium Medicum na Wydziale Lekarskim

2001 - stopień magistra Biotechnologii uzyskany we Wrocławiu na Uniwersytecie Wrocławskim na Wydziale Biotechnologii

1999 - stopień licencjata Biotehnologii uzyskany we Wrocławiu na Uniwersytecie Wrocławskim na Wydziale Biotechnologii

Tytuł rozprawy doktorskiej:
„Charakterystyka mikrosatelitarnych sekwencji trinukleotydowych w genomie człowieka za szczególnym uwzględnieniem ich związku z chorobami neurodegeneracyjnymi".

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

2009-01-10 - Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny UJCM; stanowisko:adiunkt

2006-11-01 -Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny UJCM; stanowisko: asystent

2007-2008 - Europejsko-Chiński projekt EuChinaGrid w UJCM; stanowisko naukowe

2003-2007 - Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; studia doktoranckie

2001-2002 - Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii; studia doktoranckie

4. Wskazanie 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. 2016 r. poz. 882 ze

zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

Sumaryczny Impact Factor moich publikacji wynosi **IF=46,439**, **KBN/MNiSW = 632 punktów**, **liczba cytowań** wynosi **102** wg Web of Science Core Collection 1945-2018 z dnia 08.01.2019. **Współczynnik Hirscha** wg bazy Web of Science Core Collection wynosi: **6**

a) **tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:**

„Integracja danych biomedycznych i metod statystycznych, a także bioinformatycznych oraz badania nad ich efektywnością w celu rozszerzenia opisu procesów biologicznych".

b) **Na dorobek habilitacyjny składają się następujące publikacje naukowe:**

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 6 publikacji o łącznej punktacji:

IF: **14,402**

Pkt. MNiSW: **203**

Wymienione prace powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

Piwowar M, Kocemba-Pilarczyk KA, Piwowar P. Regularization and grouping –omics data by GCA method: A transcriptomic case. *PLoS One*. 2018 Nov 1;13(11):e0206608. doi: 10.1371/journal.pone.0206608. eCollection 2018. PubMed PMID: 30383819; PubMed Central PMCID: PMC6211732. **IF: 2,766 KBN/MNiSW: 40 pkt.**

Piwowar M, Kułaga T. "Directional association measurement in contingency tables – genomic case ",*J Comput Biol.* 2018 Dec 18. doi: 10.1089/cmb.2018.0202.[Epub ahead of print] PubMed PMID: 30562062. **IF: 1.191 KBN/MNiSW: 25 points.**

Piwowar M, Jurkowski W. ONION: Functional Approach for Integration of Lipidomics and Transcriptomics Data. *PLoS One*. 2015 Jun 8;10(6):e0128854. doi: 10.1371/journal.pone.0128854. eCollection 2015. PubMed PMID: 26053255; PubMed Central PMCID: PMC4459700. **IF: 3,051 KBN/MNiSW: 40 pkt.**

Waller T, Gubała T, Sarapata K, **Piwowar M**, Jurkowski W. DNA microarray integromics analysis platform. *BioData Min*. 2015 Jun 25;8:18. doi: 10.1186/s13040-015-0052-6. eCollection 2015. PubMed PMID: 26110022; PubMed Central PMCID: PMC4479227. **IF: 1,64 KBN/MNiSW: 30 pkt.**

Piwowar M, Banach M, Konieczny L, Roterman I. Structural role of exon-coded fragment of polypeptide chains in selected enzymes. J Theor Biol. 2013 Nov 21;337:15-23. doi: 10.1016/j.jtbi.2013.07.016. Epub 2013 Jul 26. PubMed PMID: 23896319. **IF: 2,116 KBN/MNiSW: 35 pkt.**

Piwowar M, Banach M, Konieczny L, Roterman I. Hydrophobic core formation in protein complex of cathepsin. J Biomol Struct Dyn. 2014;32(7):1023-32. doi: 10.1080/07391102.2013.801784. Epub 2013 Jul 5. PubMed PMID: 23826628. **IF: 2,919 KBN/MNiSW: 25 pkt.**

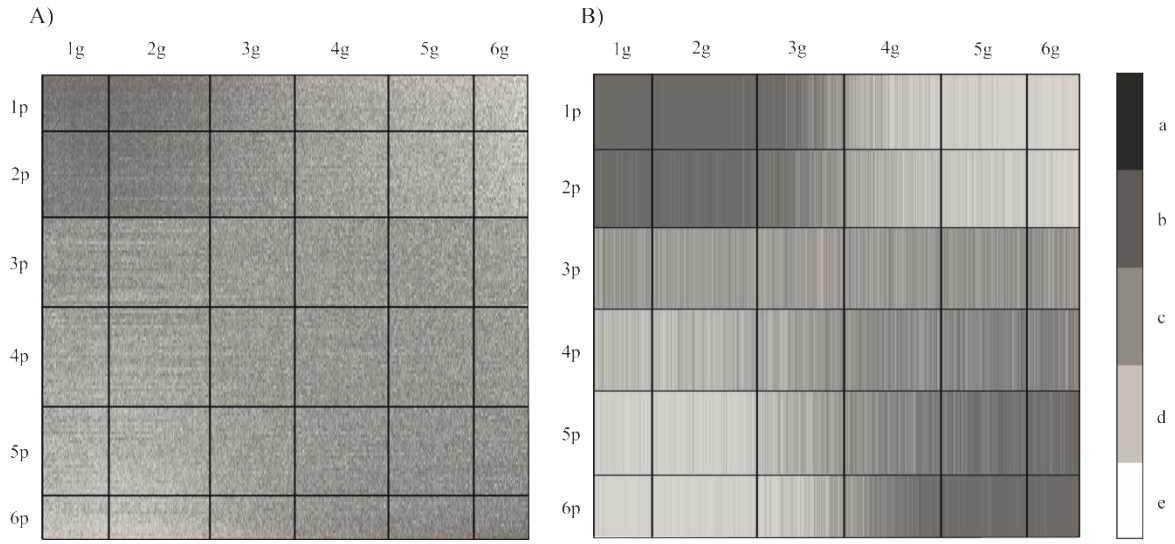
c) Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wraz z rozwojem metod biologii molekularnej, badania naukowe nastawione są na coraz szersze ujęcie procesów biologicznych na poziomie komórki, tkanki, całego organizmu, a także wielu organizmów na raz. Za sprawą rozwoju tych metod lawinowo przyrasta ilości danych biologicznych deponowanych i katalogowanych w stosownych bazach danych. Ogrom gromadzonych informacji powoduje, że dotychczas stosowane metody statystyczne oceny danych ilościowych i jakościowych, są w wielu przypadkach niewydolne. Naturalne staje się dostosowywanie znanych metod obliczeniowych do zadań postawionych przed współczesną Biologia Obliczeniową oraz rozwijanie nowych podejść analitycznych, tak aby prowadzone badania miały możliwie szeroki kontekst przy zachowaniu, jak największej jakości i dokładności obliczeniowej. W ostatnich latach intensywnie rozwija się podejście mające na celu integracje wiedzy biologicznej (np. danych genomicznych, transkryptomicznych, proteomicznych i metabolomicznych czy struktur białkowych) z statystycznymi metodami analizy danych (np. wielowymiarowymi technikami obliczeniowymi) tak aby analizować biomolekuły i procesy biologiczne możliwie szeroko, a tym samym coraz skuteczniej zbliżać się do opisu rzeczywistości.

Wychodząc naprzeciw potrzebom Biologii Obliczeniowej w kontekście Medycyny skupiłam się na integracji wielowymiarowych metod statystycznych oraz bioinformatycznych na potrzeby analiz danych biologicznych w tym danych typu OMICS szeroko wykorzystywanych we współczesnej biologii i medycynie.

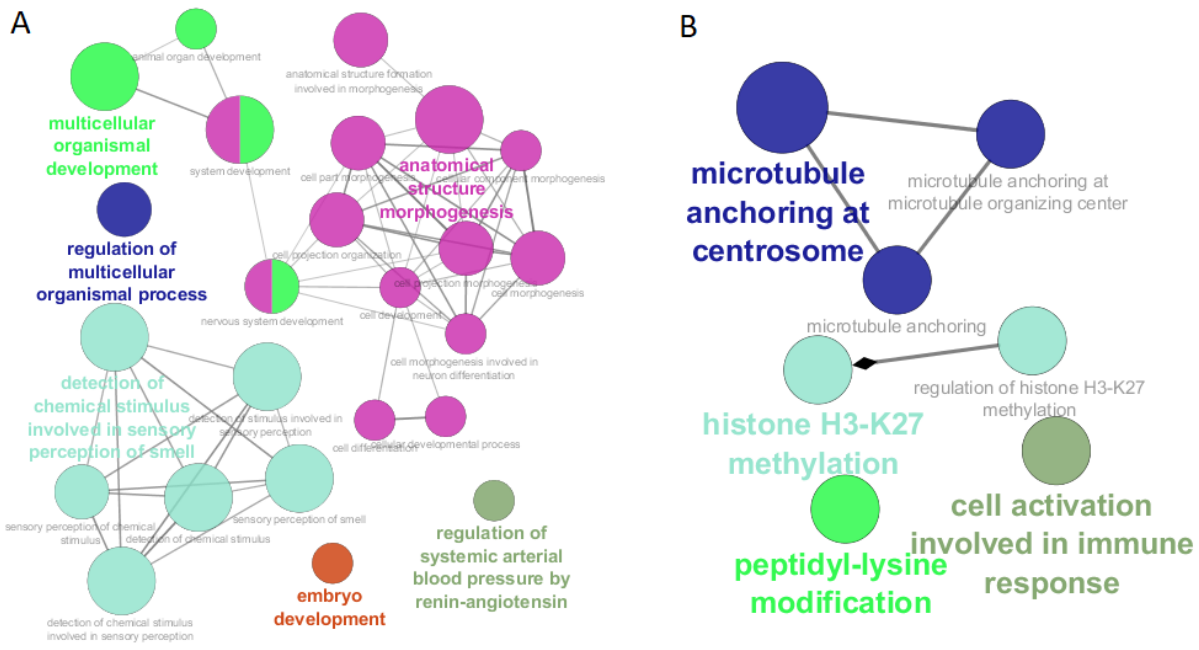
Aplikację jednej z wielowymiarowych analiz przedstawione zostały w pracy pt. „***Regularization and grouping –omics data by GCA method: A transcriptomic case***". Pokazano w niej jakiego typu rezultaty (ważne z punktu widzenia np. klinicysty) można uzyskać stosując Gradacyjną Metodę Korespondencji (ang. Grade Corespondence Analysis) oraz metodę grupowania danych w oparciu o GCA (ang. Grade Correspondence Cluster Analysis). Procedura GCA działa w ten sposób, że iteracyjnie permutuje wiersze i kolumny, aby zmaksymalizować współczynniki tau-Kendall'a lub rho-Spearman'a, co umożliwia ustawienie wierszy i kolumn w macierzy danych w taki sposób, aby te najbardziej podobne pozostały w sąsiedztwie drugiego. Dzięki temu algorytm GCA podkreśla regularności w macierzy danych. Dane rankingowe są następnie grupowane za pomocą metody

GCCA, a dalej agregowane w klastry, zapewniając reprezentację, która jest łatwiejsza do analizy - szczególnie w przypadku dużych zestawów ekspresji genów. Na podstawie danych dotyczących ekspresji genów 256 pacjentów ze szpiczakiem mnogim pokazano, że metoda GCA może być wykorzystywana do znalezienia prawidłowości w analizowanych zbiorach oraz do stworzenia charakterystycznych profili ekspresji genów dla grup pacjentów (Rys 1).



Rys. 1 Mapy nadreprezentacji ekspresji genów po zastosowaniu procedury GCCA A) wynik grupowania wcześniej uporządkowanych danych w rzędach i kolumnach w sześciu grupach. B) dane zagregowane w klastrach; pogrubione pionowe linie oddzielają klastry genów (1-6); pogrubione linie poziome oddzielają skupiska pacjentów (1-6)

Porządkowanie (ang. regularization) danych transkryptomicznych, przedstawione w manuskrypcie, umożliwiło podział zbioru danych na grupy (klastry) kolumnowe reprezentujące geny i grupy wierszowe reprezentujące pacjentów. Prezentowana analiza stała się punktem wyjścia do opisu genów różnicujących w poszczególnych grupach (klastrach) pod kątem aktywności ich produktów w różnych procesach biochemicznych (Rys. 2).

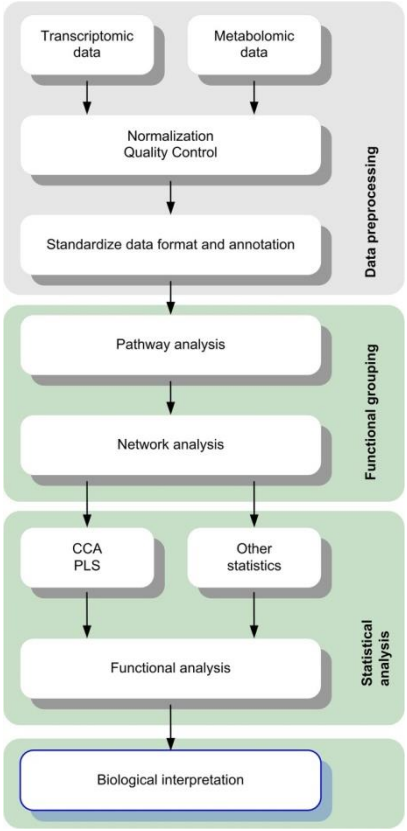


Rys. 2 Charakterystyczne procesy biologiczne dla dwóch grup pacjentów z różnym poziomem ekspresji genów. Procesy wyznaczone w oparciu o geny o A) obniżonej ekspresji (DOWN regulated) B) zwiększonej ekspresji (UP regulated).

Przedstawione w manuskrypcie podejście wykorzystujące metodę GCA do analizy zbiorów transkryptomicznych, pokazuje że metoda GCA może być alternatywą w stosunku do obecnie stosowanych metod wyznaczania genów różnicujących podczas analizy np. ekspresji genów, ale także m.in. w metodach analiz epigenetycznych (metylacji, acetylacji), które obecnie z coraz większym rozmachem są wykorzystywane w badaniach procesów biologicznych.

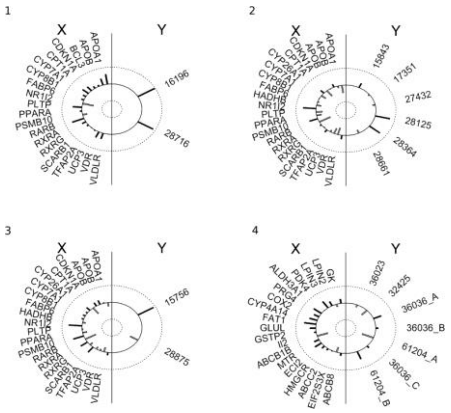
Kolejną pracą zawierającą zestaw wielowymiarowych podejść analitycznych jest manuskrypt pt. ***„ONION: Functional Approach for Integration of Lipidomics and Transcriptomics Data”.*** W opracowaniu tym skupiono się na integracji wielowymiarowych metod statystycznych tj. analiza kanoniczna (CCA) czy regresja cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS) z danymi pochodzącymi z wysokoprzepustowych technik biochemicznych tj. dane transkryptomiczne czy metabolomiczne oraz publicznych repozytoriów danych biologicznych. Typowe podejścia statystyczne stosowane w celu znalezienia związków pomiędzy metabolitami i genami, zawodzą na skutek niewielkiej liczby obserwacji (np. warunków, diety itp.) w porównaniu do rozmiaru danych (liczba genów, metabolitów). Modyfikacje opracowane w celu poradzenia sobie z tym problemem nie są idealne ze względu na konieczność dodawania symulowanych danych, co skutkuje brakiem obliczania wartości p lub zawężaniem zbioru zmiennych, przez co traci się potencjalnie ważne informacje. W zaproponowanym podejściu pokazano, że istnieje możliwość zawężania zbioru danych w sposób biologicznie uzasadniony wykorzystując do tego celu zdeponowane w bioinformatycznych bazach

danych informacje o zweryfikowanych ścieżkach biochemicznych oraz o przypuszczalnych interakcjach molekularnych lub powiązaniach funkcjonalnych analizowanych molekuł realizując kolejne etapy postępowania podczas tego typu analiz (Rys. 3).



Rys. 3 Przebieg procesu integracji danych w opracowanej metodzie i zaimplementowanej w programie R (ONION).

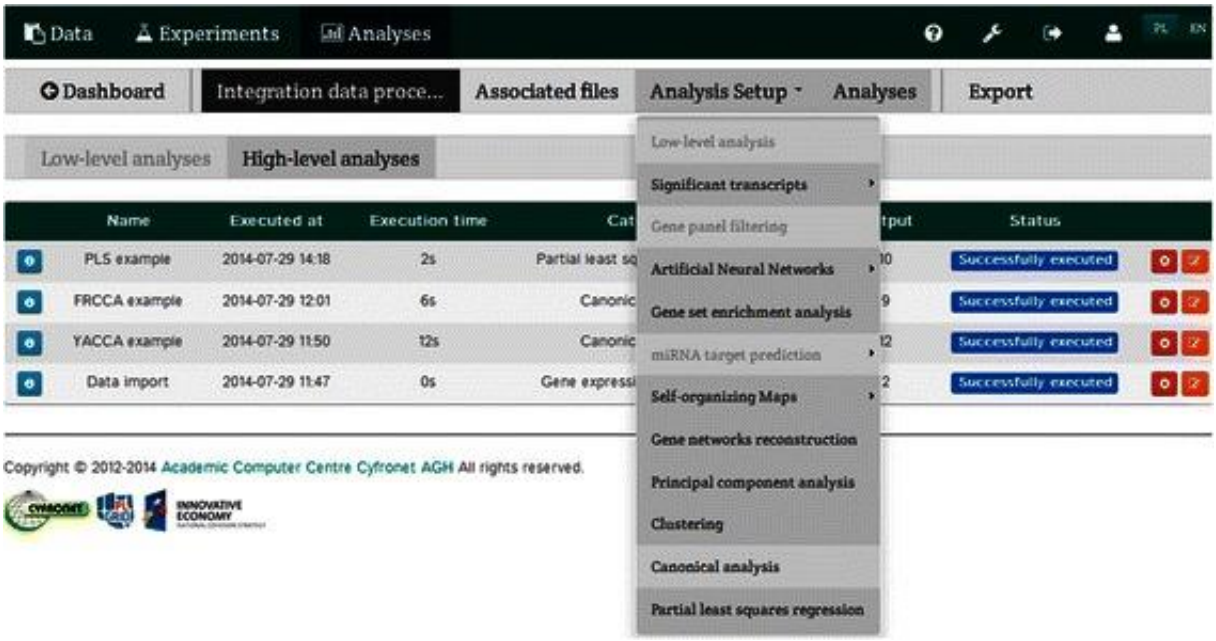
W oparciu o tego typu informacje tworzone są podgrupy danych o określonej strukturze, dzięki której możliwe jest zastosowanie metod typu CCA i innych modeli wielowymiarowych do obliczania obiektywnych statystyk i dostarczania łatwych do interpretacji wyników powiązań między metabolitami i genami w celu lepszego zrozumienia odpowiedzi metabolicznej.



Rys. 4 Graficzna prezentacja analizy korelacji kanonicznej lipidów (Y) względem genów (X) w grupach.

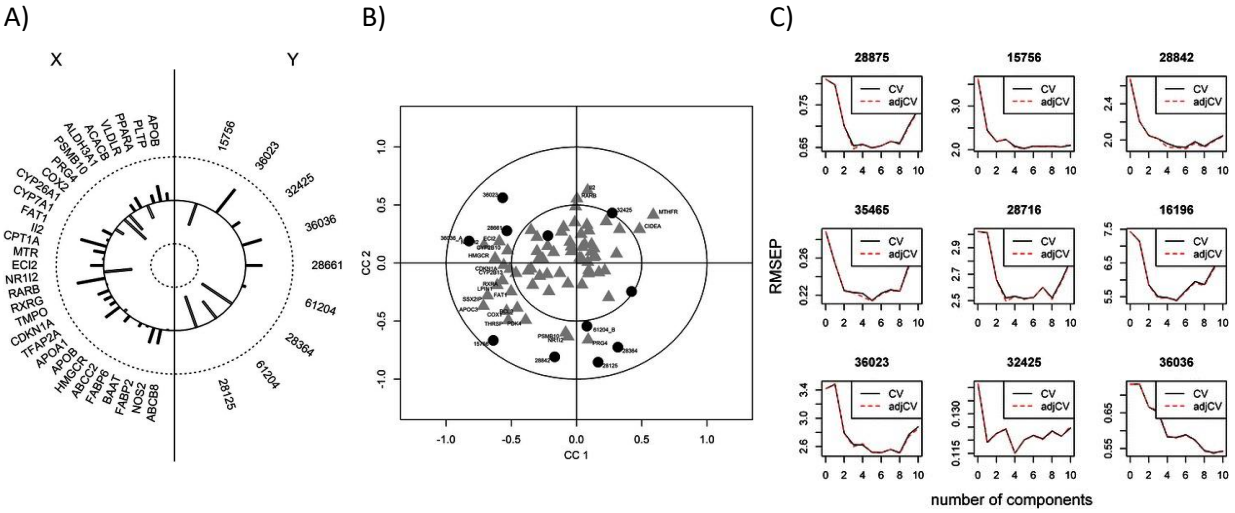
Skuteczność proponowanego podejścia tj. integracji danych lipidomicznych i transkryptomicznych wykazano w oparciu o wykorzystanie ogólnodostępnych nutrigenomicznych zbiorów danych mysich. Wykazano istotną poprawę identyfikacji (powiązania) genów związanych z metabolizmem lipidów oraz pokazano, że proponowane podejście może być zastosowane również do innych zestawów danych metabolomiczno-transkryptomicznych.

Praca nad integracją danych lipidomicznych i transkryptomicznych zaowocowała współpracą ze środowiskiem informatyków budujących platformę obliczeniową na potrzeby polskich naukowców reprezentujących Nauki Przyrodnicze. Efektem współpracy są wyniki licznych badań i analiz testowych oraz opracowania „przepływu" procesów obliczeniowych finalnie przedstawionych w pracy pt. „***DNA microarray integromics analysis platform***". W obecnej postaci platforma ma służyć do zarządzania i analizy danych "multi-omics". Zawiera szereg zestawów funkcji analizy danych m.in. ekspresji genów, normalizacji danych, analizy genów różnicujących czy wielowymiarowych technik statystycznych tj. analiza głównych składowych (PCA), analiza kanoniczna (CCA) czy regresja cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS), które są dostępne online (Rys. 5) (Rys. 6).



Rys. 5 Widok panelu z metodami analizy danych biologicznych (https://lifescience.plgrid.pl/en)

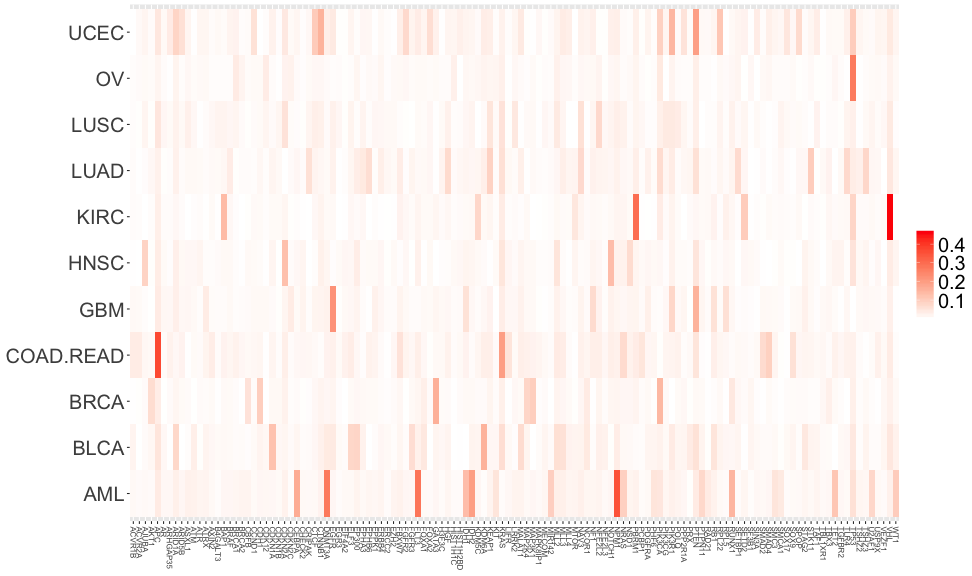
Wykorzystywanie funkcjonalności opracowanego narzędzia nie wymaga specjalistycznego oprogramowanie, a jedynie dostępu do internetu, gdyż jest to zapewnione jest przez platformę integromiczną.



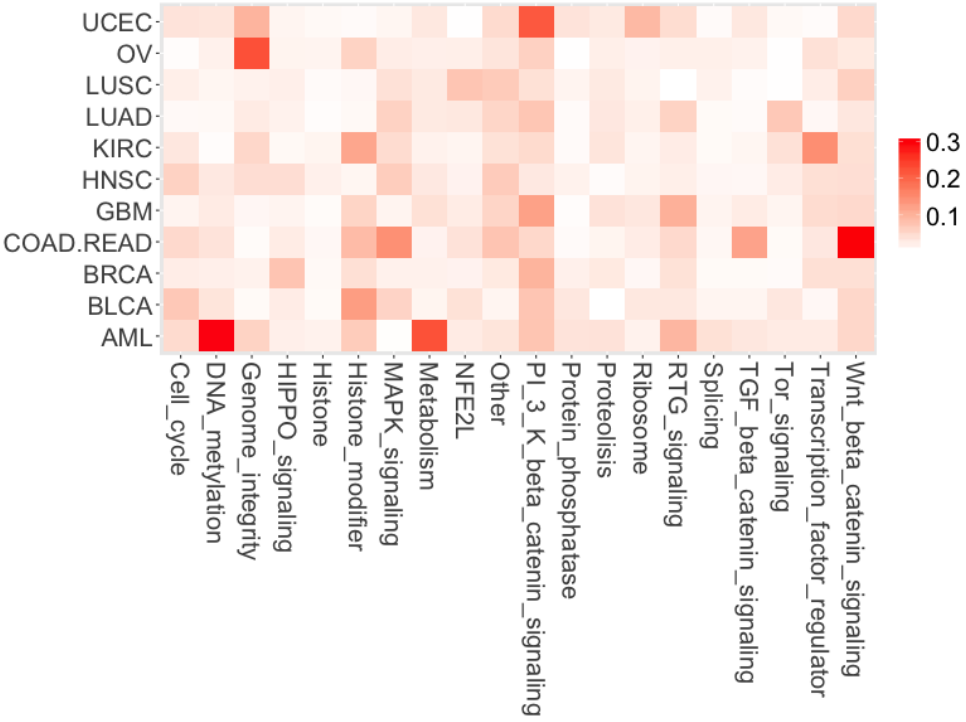
Rys. 6 Przykładowe wyniki uzyskane w oparciu o wykorzystanie platformy integromicznej A) wynik analizy kanonicznej – korelacja kanoniczna między ekspresją genów – X i kwasami tłuszczowymi - Y B) Kanoniczna reprezentacja zmiennych C) Wynik sprawdzianu krzyżowego w postaci krzywych RMSEP będących wynikiem integracji danych nutrigenomicznych metodą PLS.

Obecnie zasoby platformy integromicznej są dostępne jedynie dla pracowników naukowych oraz studentów i doktorantów polskich uczelni. W przyszłości planuje się sukcesywnie poszerzać zakres dostępnych funkcjonalności, tak aby stała się skutecznym narzędziem do badań biologii molekularnej.

W opracowaniu pt: „***Directional association measurement in contingency tables – genomic case***" pokazano, że miara związku dwóch zmiennych może być z powodzeniem zastosowana do badania siły zależności zmiennych jakościowych np. liczby zmutowanych ludzkich genów w różnych rodzajach nowotworów. Miara Z, którą wykorzystano w analizie opisuje powiązanie kierunkowe w tabelach kontyngencji. Pozwala dowolnie grupować kategorie dla każdej z dwóch zmiennych, dla których analizowana jest tabela kontyngencji. We wspomnianym opracowaniu współczynnik Z obliczono dla zestawu danych ludzkich genów (z mutacjami) i różnych rodzajów nowotworów. Wykazano związek genów (z mutacjami) z konkretnymi nowotworami (Rys. 7) oraz grupami genów (grupami adnotacji) i różnymi nowotworami (Rys. 8).



Rys. 7 Mapa cieplna wartości współczynników asocjacji genów (na osi poziomej) i różnych typów nowotworów (na osi pionowej).



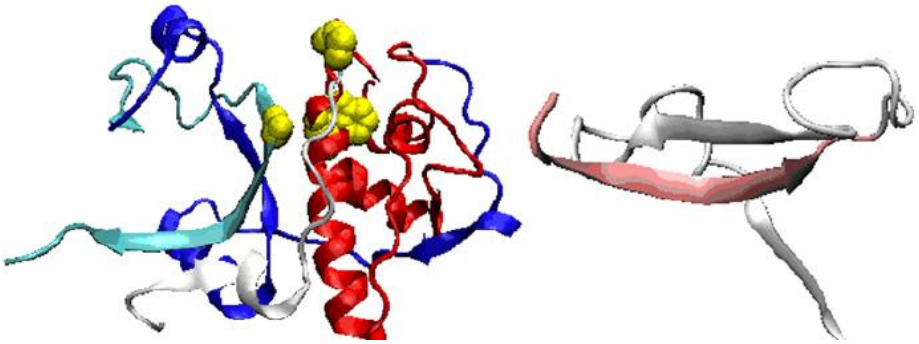
Rys. 8 Mapa cieplna wartości współczynników asocjacji genów aktywnych w reakcjach biochemicznych (grupy anotacji na osi poziomej) i różnych typów nowotworów (na osi pionowej).

Uzyskane wyniki zależności nowotworów i genów zostały udokumentowane doniesieniami naukowymi fakty dotyczącymi genomiki nowotworów pochodzącymi z niezależnych źródeł. Miarę Z zaimplementowano w bibliotece R pod nazwą „MEUSassociation" (https://github.com/mpiwowar/MEUSassociation.git) dzięki czemu jest ogólnie dostępnym

narzędziem i ma szanse być wykorzystywana przez szerokie grono osób zainteresowanych analizą danych biomedycznych.

Kolejne prace oscylują wokół analizy struktury białek uwzględniając ich zapis genetyczny. W pracach tj. "***Structural role of exon-coded fragment of polypeptide chains" in selected enzymes***" i "***Hydrophobic core formation in protein complex of cathepsin***" plasujących się w tematyce związanej z wyjaśnianiem procesu fałdowania białek prezentowany jest opis jadra hydrofobowego w białkach w relacji do zapisu genetycznego. Niezwykle skomplikowane molekuły jakimi są struktury białek zostały przedstawione pod kątem wkładu fragmentów eksonowych, kodujących poszczególne partie tych struktur w budowę jadra hydrofobowego opisanego przez model rozmytej kropli ("fuzzy oil drop"). Model ten zakłada proces konstrukcji jądra hydrofobowego jako jeden z elementów nakierowujących proces fałdowania łańcucha polipeptydowego. Efektem jest generowanie jądra hydrofobowego, którego strukturę wyrazić można za pomocą funkcji 3-D Gaussa i hydrofobowości aminokwasów.

W wyżej wymienionych dwóch pracach opisano relację wyidealizowanej struktury białka opisanej przez model Gaussa (opis teoretyczny) do struktury opisanej w oparciu o dane obserwowane. Funkcja 3-D Gaussa służy opisowi idealnego rozkładu hydrofobowości w znacznej grupie białek. Najwyższa wartość parametru hydrofobowości przypada na centrum kropli, gdzie gęstość funkcji prawdopodobieństwa jest największa. Wartość hydrofobowości zmniejsza się wraz z odległością od centrum kropli i osiąga wartość najmniejszą (bliską zero) w odległości 3σ od środka układu współrzędnych - na powierzchni kropli. Rozkład hydrofobowości obserwowanej jest wyliczany na podstawie funkcji wprowadzonej przez Michael Levit, która opisuje oddziaływania między aminokwasami oraz bierze pod uwagę pozycje każdej jednostki aminokwasowej w strukturze białka. Równocześnie uwzględnia ich charakter i lokalizację w strukturze białka.



Rys. 8 Grafiki dotyczące białka 1ICF Reprezentacje 3D łańcuchów A (po lewej) i B (po prawej). Różne kolory odpowiadają poszczególnym fragmentom eksonów. Biały fragment w łańcuchu A jest jedynym, który odstaje od modelu teoretycznego. Żółte kule odpowiadają resztom zaangażowanym w aktywność enzymatyczną.

W pracach *"Structural role of exon-coded fragment of polypeptide chains" in selected enzymes*" i "*Hydrophobic core formation in protein complex of cathepsin"* skupiono się na specyficznym wkładzie w formowanie jądra hydrofobowego pojedynczych fragmentów polipeptydu kodowanych przez jednostki eksonowe tych genów. Na przykładzie białka katepsyny (1ICF) (*Rys. 9*) oraz innych białek enzymatycznych pokazano, że na podstawie analizy struktury białka w relacji do zapisu genetycznego można wyróżnić eksony kodujące partie białka biorące udział w formowaniu jądra hydrofobowego (podkreślana jest rola eksonów kodujących centralne partie białek będące w centrum hydrofobowym, jako nośników informacji o silnie hydrofobowych fragmentach białek).

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych ~~(artystycznych).~~

5.1 Badania i analizy bioinformatyczne

- **Opis poziomu zapisu genetycznego w relacji do struktury białka**

Opracowania wspierające główny nurt badań zaprezentowany w osiągnięciu naukowym dotyczyły m.in. opracowania programu komputerowego do oznaczania eksonów w białku oraz aplikacji metodologii wyznaczania fragmentów w białku kodowanych przez poszczególne eksony. Opracowanie narzędzia bioinformatycznego stanowiło podstawę do dalszych analiz relacji poziom genetyczny- białko. Wyniki tych prac zostały opublikowane w następujących publikacjach:

Piwowar M, Porębski K, Piwowar P. ExonVisualiser - application for visualization exon units in 2D and 3D protein structures. Bioinformation. 2012;8(25):1280-2. doi: 10.6026/97320630081280. Epub 2012 Dec 19. PubMed PMID: 23275735; PubMed Central PMCID: PMC3532015.

Piwowar M, Banach M, Konieczny L, Roterman I. Structural role of exon-coded fragments in proteins, Bio-Algorithms and Med-Systems. 9 (2013) 103–114.

Piwowar M, Banach M, Konieczny L, Roterman I. Structural role of exons in hemoglobin, Bio-Algorithms and Med-Systems. 9 (2013) 81–90.

- **Poszukiwanie zapisów genetycznych białek nie występujących w przyrodzie**

Badania i analizy prezentowane w pracy mieszczą się w zakresie badań w ramach dynamicznie rozwijającej się dziedziny, jaką jest biologia syntetyczna skupiająca się na projektowaniu i tworzeniu sztucznych systemów biologicznych wzorowanych na naturalnych. Badania były prowadzone w ramach Europejsko-Chińskiego projektu Euchinagrid. W ramach projektu wygenerowano zbiór białek niewystępujących w przyrodzie (*N*ever *B*orn *P*rotein)

(takich, które nie zostały zdeponowane dotychczas w żadnej z białkowych baz danych), a następnie podjęto próbę ich ufałdowania i porównania z obecnie występującymi białkami. Niezależnie od procesu fałdowania przeprowadzono analizy mające na celu sprawdzenie, czy NBP mają pełen albo część zapisu genetycznego w sekwencjach genomowych obecnie żyjących różnych organizmów. Identyfikacja śladów genetycznych NBP dotyczyła całych sekwencji genomowych, a wiec także fragmentów niekodujących. Szczególną uwagę poświecono znalezieniu zapisów genetycznych NB, których sfałdowanie dało zadowalające efekty z punktu widzenia ich funkcji. Wyniki analiz opublikowano w następujących publikacjach:

Piwowar M, Matczyńska E, Malawski M, Szapieniec T, Roterman-Konieczna I. Genetic traces of never born proteins. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2017 : Vol. 13, nr 2, s. 79-88

Prymula K, **Piwowar M**, Kochanczyk M, Flis L, Malawski M, Szepieniec T, Evangelista G, Minervini G, Polticelli F, Wiśniowski Z, Sałapa K, Matczyńska E, Roterman I. In silico structural study of random amino acid sequence proteins not present in nature. Chem Biodivers. 2009 Dec;6(12):2311-36. doi:10.1002/cbdv.200800338. PubMed PMID: 20020465.

Piwowar M, Matczyńska E, Pomański F, Kośmider A, Kość D, Swatowski M, Więcek P, Szepieniec T. VOGE - java application for presentation of never born proteins gene structure elements. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2009 : Vol. 5, nr 10, s. 9-13, p-ISSN: 1896-530X

Minervini G, Evangelista G, Polticelli F, **Piwowar M**, Kochanczyk M, Flis Ł, Malawski M, Szepieniec T, Wiśniowski Z, Matczyńska E, Prymula K, Roterman I. Never born proteins as a test case for *ab initio* protein structures prediction. Bioinformation 2008 : Vol. 3, nr 4, s. 177-179, p-ISSN: 0973-2063

Piwowar M, Matczyńska M, Ochlawski P, Kosibowicz M, Kość D, Swatowski M, Więcek P, Szepieniec T. GenFoSS-java application for presentation of coding stretches of Neper Born Proteins. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2008 : Vol. 4, nr 7, s. 9-17

5.2 Badania i analizy wykonane we współpracy z klinicystami

Współczesna Nauka dostarcza olbrzymich ilości danych, które deponowane są w stosowanych bazach. Ich analiza staje się dużym wyzwaniem zwłaszcza jeżeli do dyspozycji są wyniki badań z różnych poziomów organizacji ludzkiego organizmu (dane epidemiologiczne, genetyczne, proteomiczne, metabolomiczne itd). W ramach pracy naukowej zajmuje się rozwijaniem metod obliczeniowych integrując je z danymi biologicznymi, aby mieć możliwość możliwie pełnego oglądu analizowanych procesów. Dzięki narzędziom, którymi dysponuje w tym zakresie mam możliwość ich zastosowań współpracując z klinicystami różnych specjalności. Poniżej zamieściłam główne wątki badawcze, które w ostatnich latach podjęłam i w których grałam jedną z głównych ról jeżeli chodzi o

część obliczeniową.

Pracując wiele lat jako dydaktyk miałam możliwość stosowania różnych podejść w nauczaniu studentów od ćwiczeń laboratoryjnych, seminariów, wykładów po zajęcia prowadzone w formie e-learningowej czy z zastosowaniem symulacji stosując przy tym coraz to nowsze techniki nauczania. Wśród zagadnień związanych z tą tematyką znalazły się te związane z technikami symulacyjnymi w medycynie. Skupiłam się głownie na symulacji w biochemii, ale też mam swój udział w opisie symulacji w ortopedii i rehabilitacji. Współtworzyłam program do nauczania problemowego (ang. Problem Base learning). Podjęłam też temat symulacji podejmowania decyzji, który zrealizowałam we współpracy ze specjalistami z ginekologii.

Wszystkie te wątki znalazły swoje odzwierciedlenie w opublikowanych doniesieniach, które poniżej krótko omówiłam. W wielu z nich byłam inicjatorką gromadzenia zespołu osób pracujących nad zagadnieniem, jak również byłam współautorką manuskryptów.

- **Analiza genomiczne danych onkologicznych**

Badana nad procesami nowotworzenia nieustannie są prowadzone przez liczne zespoły badawcze w celu opisania biologii nowotworów, jak również proponowania schematów terapeutycznych w oparciu o zgormadzoną wiedzę. We współpracy z klinicystami i biochemikami pracującymi nad procesami nowotworzenia udało się opisać istotnie aktywne procesy biochemiczne w nowotworach. W badaniach tych skupiono się na genach CYLD i PFKFB4, które stanowiły punkt odniesienia. W oparciu m.in. o metodologię analizy ekspresji genów wyodrębniono geny różnicujące, następnie zidentyfikowano ścieżki biochemiczne, w których te geny biorą udział. Z kolei, znając listę genów o obniżonej i podwyższonej ekspresji w porównaniu z kontrolą, udało się wskazać te procesy biochemiczne, które są silnie aktywowane oraz te których aktywność była obniżona. Do analiz wykorzystano narzędzia bioinformatyczne (bazy danych Reactome, KEGG, Cytoscape) i biostatystyczne (biblioteki zaimplementowane w Bioconductor). Wyniki badań zostały opublikowane w poniższych czasopismach:

van Andel H, Kocemba KA, de Haan-Kramer A, Mellink CH, **Piwowar M**, Broijl A, van Duin M, Sonneveld P, Maurice MM, Kersten MJ, Spaargaren M, Pals ST. Loss of CYLD expression unleashes Wnt signaling in multiple myeloma and is associated with aggressive disease. Oncogene. 2017 Apr;36(15):2105-2115. doi: 10.1038/onc.2016.368. Epub 2016 Oct 24. PubMed PMID: 27775078.

Trojan SE, **Piwowar M**, Ostrowska B, Laidler P, Kocemba-Pilarczyk KA. Analysis of Malignant Melanoma Cell Lines Exposed to Hypoxia Reveals the Importance of PFKFB4 Overexpression for Disease Progression. Anticancer Res. 2018 Dec;38(12):6745-6752. doi: 10.21873/anticanres.13044. PubMed PMID: 30504385.

Oprócz publikacji wyników badań naukowych podjęto się również opracowania pracy przeglądowej opisującej dwa z kluczowych problemów trapiących ludzkość - starzenie się i karcynogenezę, które są nierozerwalnie związane. Chociaż ich natura wydaje się inna, ich mechanizmy mają ze sobą wiele wspólnego. Dowody sugerują, że starzenie się jest wynikiem spontanicznej syntezy i akumulacji nieprawidłowo sfałdowanych białek w komórkach, co prowadzi do różnych patologii. Co do karcynogenezy, wiąże się to z mutacjami genetycznymi - stałymi, kowalencyjnymi zmianami w DNA. Oba procesy mają charakter losowy; jednakże, inaczej niż w przypadku mutacji, akumulacja wadliwych białek nie jest określona genetycznie. Zamiast tego kontrola nad tym procesem zależy od regulacji szybkości wymiany białka - zjawiska, które wydaje się być prawdopodobnym kandydatem na podstawowy mechanizm kontroli starzenia. Mechanizmy starzenia się i kancerogenezy, chociaż funkcjonalnie różne, pozostają skorelowane: komórka starzejąca się staje się bardziej podatna na zmiany mutacyjne. Tematykę tę podjęto w opracowaniu:

Piwowar M, Dygut J, Piwowar P, Konieczny L, Roterman I, Attempt at a systemic outlook on aging and carcinogenesis, *Bio-Algorithms and Med-Systems*. 2014, 10:101–115. doi:10.1515/bams-2014-0012.

Badania nad procesem nowotworzenia dotyczącym czerniaka zaowocowały opracowaniem polskiego i międzynarodowego zgłoszenia patentowego pt. Kompozycja do leczenia czerniaka u ludzi (numer zgłoszenia polskiego: PL420249). Przedmiotem zgłoszenia jest kompozycja zawierająca wodny roztwór taksanu i wodny roztwór simwastatyny do stosowania w leczeniu i zapobieganiu czerniaka u ludzi. Kompozycja charakteryzuje się tym, że taksanem jest paklitaksel lub docetaksel. Opracowanie znajduje się w bazie patentowej

Placha W, Zagajewski J, Szczygieł M, **Piwowar M**. 2018, US 9879311 B2 A composition for the treatment of human melanoma., PCT/PL20 18/050002 Uniwersytet Jagielloński 14/422860; 26.07.2018, Data publikacji zgłoszenia międzynarodowego: 19.01.2018, Numer publikacji: WO 2018/135959 Al.

W ramach grupy badawczej pracującej nad czerniakiem powstają kolejne opracowania naukowe traktujące o wpływie taksanu i statyn na komórki nowotworowe. Pierwszą publikacja z tej tematyki jest opracowanie przedstawiające charakterystykę statyn, ich podobieństwo pod kątem fizyko-chemicznym tj.:

Dreyer C, Placha W, Zgajewski J, Dygut J, Stangel-Wójcikiewicz K, **Piwowar M**, The similarity of selected statins – a comparative analysis, Bio-Algorithms and Med-Systems. 14 (2018) 1–5.

doi:10.1515/bams-2018-0034.

- **Badania genetyczne i inne analizy związane z zagadnieniami z dziedziny ortopedii i rehabilitacji**

Badania i analizy związku mutacji w genie FokI ze zwyrodnieniem krążka międzykręgowego

Polimorfizmy genetyczne są obecnie cennym narzędziem do opisu związku genotypu z fenotypem. W przypadku analizy zwyrodnienia krążka międzykręgowego pojawiło się szereg doniesień naukowych. Badano m.in. związek FokI (rs2228570) - polimorfizm genu receptora witaminy D ze zwyrodnieniem krążka międzykręgowego (IDD). Nie dostarczyły one jednak jednolitych i jednoznacznych wyników na temat związku FokI z IDD. W związku z tym podjęto wysiłek zebrania wszystkich znanych doniesień naukowych na temat związku FokI z IDD i przedstawiono kompleksowy przegląd danych wraz z analizami genetycznymi. Wykazano na tej podstawie, że gen polimorficzna wersja genu FokI (rs2228570) jest genetycznym czynnikiem ryzyka zwyrodnienia krążka międzykręgowego. Wyniki badan przedstawiono w pracy:

Pekala PA, Henry BM, Taterra D, **Piwowar M**, Vikse J, Tubbs RS, Tomaszewski KA. FokI as a genetic factor of intervertebral disc degeneration: A PRISMA-compliant systematic review of overlapping meta-analyses. J Clin Neurosci. 2018 Oct 9. pii: S0967-5868(18)31331-6. doi: 10.1016/j.jocn.2018.09.028. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30309807.

Badania i analizy białka dystrofiny

Kolejne opracowanie dotyczy analizy białka dystrofiny, której brak w komórce powoduje patologiczne objawy obserwowane np. w dystrofii mięśniowej typu Duchenne. Praca dotyczy teoretycznych badań z wykorzystaniem modelu rozmytej kropli, w o parciu o który udało się wykazać, że w strukturze dystrofiny występują fragmenty łączące się dzięki oddziaływaniom hydrofobowym. Jeden fragment z jednego monomeru z fragmentem z drugiego monomeru tworzą uzupełniającą się strukturę przestrzenną. W ten sposób monomery generują niezależną pseudo-domenę zlokalizowaną w interfejsie wykazującą bardzo wysoką zgodność z modelem teoretycznym. Wydaje się to być skorelowane z właściwościami biologicznymi dystrofiny, która musi wytrzymywać znaczne siły zewnętrzne i być odporna na odkształcenia strukturalne. Podobne obserwacje opisano dla białka utrofiny biosyntetyzowaną w okresie prenatalnym, która pełni funkcję podobną do dystrofiny. Wyniki prac zostały zaprezentowane w publikacji:

Dygut J, Kalinowska B, Banach M, **Piwowar M**, Konieczny L, Roterman I. Structural Interface Forms and Their Involvement in Stabilization of Multidomain Proteins or Protein Complexes. Int J Mol Sci.

2016 Oct 18;17(10). pii: E1741. PubMed PMID: 27763556; PubMed Central PMCID: PMC5085769.

Analizy wpływu wyciągu z kapusty na redukcję stanu zapalnego w stawie kolanowym

W badaniach wpływu wyciągu kapusty na pourazowe stany zapalne kolana przedstawiono wstępne, jakościowe obserwacje kliniczne przed i po zastosowaniu okładów z kapusty u pacjentów z pourazowym zapaleniem kolana. Płyn stawowy bierze udział w odżywianiu chrząstki stawowej, ochrania ją mechanicznie, zmniejszając tarcie powierzchniowe. Powstały jednak nadmierny wysięk w kolanie, wysięk patologiczny, wywołuje wiele niekorzystnych zjawisk. Rozciągana płynem wysiękowym torebka powoduje odruchowe rozszerzenie naczyń, co jeszcze bardziej nasila proces wysiękowy (proces zapalny). Uzyskane wyniki sugerują iż substancje zawarte w kapuście łagodzą i znacząco przyspieszają wchłanianie płynu stawowego i gojenie stanów pourazowych kolana jeżeli w pierwszym etapie leczenia zastosuje się okłady z ze świeżej kapusty.

Dygut J, **Piwowar M**, Fijałkowska K, Guevara I, Jakubas R, Gonzales G, Popławski K, Strokowska A, Wikariak H, Jurkowski W. Effect of Cabbage Wraps on the Reduction of Post-Traumatic Knee Exudates in Men. J Altern Complement Med. 2018 Nov;24(11):1113-1119. doi: 10.1089/acm.2017.0304. Epub 2018 May 21. PubMed PMID: 29782183.

- **Badania i analizy nietrzymania moczu u kobiet (współpraca z Ginekologią)**

Problem nietrzymania moczu jest jednym z częściej spotykanych problemów wśród pacjentek ginekologicznych. Z tego powodu liczne zespoły badawcze zajmują się badaniami i oceną stanów zaawansowania tej dolegliwości oraz opracowują procedury terapeutyczne mające na celu zmniejszyć uciążliwe skutki nietrzymania moczu. W UJCM wdrożono technikę leczenia nietrzymania moczu polegającą na przeszczepianiu autologicznych komórek macierzystych do zwieracza cewki moczowej. Przeprowadzono badania kliniczne oraz badania jakości życia pacjentów po przeszczepie. Opracowo prace przeglądowe m.in. związane z tematyką medycyny regeneracyjnej oraz podłożem genetycznym nietrzymania moczu. Wyniki prowadzonych badań oraz prace przeglądowe zostały opublikowane w następujących publikacjach:

Stangel-Wojcikiewicz K, **Piwowar M**,. Genetic background of urinary incontinence – state-of-the-art and perspectives, Bio-Algorithms and Med-Systems. 11 (2015) 197–203. doi:10.1515/bams-2015-0027.

Stangel-Wojcikiewicz K, **Piwowar M**, Jach R, Majka M, Basta A. Quality of life assessment in female patients 2 and 4 years after muscle-derived cell transplants for stress urinary incontinence treatment. Ginekol Pol. 2016;87(3):183-9. doi: 10.17772/gp/61330. PubMed PMID: 27306126.

Stangel-Wojcikiewicz K, Jarocha D, **Piwowar M**, Jach R, Uhl T, Basta A, Majka M. Autologous muscle-

derived cells for the treatment of female stress urinary incontinence: a 2-year follow-up of a Polish investigation. Neurourol Urodyn. 2014 Mar;33(3):324-30. doi: 10.1002/nau.22404. Epub 2013 Apr 19. PubMed PMID: 23606303.

Stangel-Wójcikiewicz K, Majka M, Basta A, Stec M, Pabian W, **Piwowar M**, Chancellor MB. Adult stem cells therapy for urine incontinence in women. Ginekol Pol. 2010 May;81(5):378-81. Review. PubMed PMID: 20568520.

Piwowar M, Stangel-Wójcikiewicz K, Regenerative medicine for the treatment of urinary incontinence; chapter 6, 1st ed., Jagiellonian University Press, Cracow, 2017.

- **E- learning i symulacje w medycynie**

Pomimo olbrzymiego sukcesu, jakim było rozszyfrowanie sekwencji ludzkiego DNA Projekt poznania Ludzkiego Genomu nie dostarczył tak spektakularnych rezultatów, jakich się spodziewano. Okazało się, że geny „same z siebie" nie są w stanie zorganizować przepływu informacji w taki spsób, żeby stanowić o unikatowości fenotypu. Do tego jest potrzebna specyficzna „informacja" działająca na wyższym poziomie, a zatem geny (informacja genetyczna) muszą „działać" w zorganizowanym systemie. Trudność wynika z tego, że organizmy żywe (systemy żywe) przy każdej próbie analizy poszczególnych jego części tracą swoje właściwości – cechy stanowiące zjawisko życia (żywe organizmy, nie są sumą poszczególnych części). Większość biomolekuł wchodzi w interakcje z innymi biomolekułami tworząc sieci powiązań. Setki tysięcy białek kodowanych jest przez geny, które równocześnie są kontrolowane i aktywowane przez inne białka. Geny i białka współdziałając ze sobą regulują i kontrolują aktywność poszczególnych procesów na poziomie komórki, tkanki a w końcu narządów i całego organizmu. Wszystko razem stanowi wysoce złożony, elastyczny i dynamiczny twór (=system) o nieprzewidywalnych właściwościach. Przegląd zagadnień dotyczących symulacji biochemicznych i analizy sieci przedstawiono w publikacji:

Piwowar M, Jurkowski W. Part I: Molecular level, in: I. Roterman-Konieczna (Ed.), Simulations Med. Pre-Clinical Clin. Appl., I, *De Gruyter*, Berlin/Boston, 2015: pp. 3–38.

W ramach studiów medycznych, jak również podczas specjalizacji lekarzy liczba pacjentów, z którymi specjalista ma szanse się zetknąć nie jest wystarczająco duża, aby młody lekarz miał szansę czuć się maksymalnie pewnie w swojej roli. Wraz ze wzrostem obaw o bezpieczeństwo pacjentów następuje wzrost zastosowań nowych technologii w edukacji medycznej. Już dziś poszerzona rzeczywistość, symulatory medyczne czy komputerowe programy symulacyjne są wykorzystywane do trenowania różnych technik doskonalących umiejętności np. chirurgiczne. W ramach tej tematyki powstały opracowania przeglądowe związane z symulacjami i symulatorami w ortopedii i rehabilitacji tj. :

Dygut J, Piwowar P, Gołda M, Popławski K, Jakubas R, Gonzales G, **Piwowar M**. Simulations in orthopedics and rehabilitation - Part I: Simulators. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2016 : Vol. 12, nr 4, s. 147-157, p-ISSN: 1895-9091 DOI: 10.1515/bams-2016-0021

Dygut J, Piwowar P, Gołda M, Popławski K, Jakubas R, Gonzales G, **Piwowar M**. Simulations in orthopedics and rehabilitation - Part II: computer simulations. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2016 : Vol. 12, nr 4, s. 159-168, p-ISSN: 1895-9091 DOI: 10.1515/bams-2016-0022

Ważnym zadaniem na etapie edukacji medycznej jest trenowanie umiejętności podejmowania prawidłowych decyzji przez studenta w sytuacji, w której ważny jest zarówno problem medyczny, ale i czas. Wypracowanie mechanizmów równoczesnego szybkiego kojarzenia faktów, niepoddawaniu się emocjom oraz odporność na stres są równie ważne, jak umiejętności praktyczne np. chirurga. Korzystając z funkcjonalności systemu „Wirtualny Pacjent", służącemu trenowaniu podejmowania decyzji oraz oferującego możliwość prezentowania historii choroby w określonych porcjach, opatrzonych pytaniami i sugestiami eksperta, opracowano m.in. przypadek dotyczący nietrzymania moczu u kobiet. Opracowanie opisano w następującej publikacji:

Stangel-Wójcikiewicz K, **Piwowar M**, Migdał M, Skotniczny K. Virtual patient case: study of a urinary incontinence therapy procedure in a woman. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2014 : Vol. 10, nr 3, s. 151-157, p-ISSN: 1895-9091 e-ISSN: 1896-530X DOI: 10.1515/bams-2014-0007

W ramach aktywności e-learningowej opracowano program wspierający zajęcia dydaktyczne prowadzone techniką nauczania problemowego. Opracowana aplikacja jest formą platformy e-learningowej umożliwiającą zamieszczanie, jak również archiwizowanie zgromadzonych podczas sesji PBL-owych treści. Opis programu został zamieszczony w doniesieniu pt.:

Lipiak T, **Piwowar M**, Markiewicz M, Nowakowski M. ePBLmed: application supporting classes in medical colleges conducted with the problem based learning method. Bio-Algorithms Med-Syst. (Print) 2015 : Vol. 11, nr 1, s. 69-75, p-ISSN: 1895-9091 e-ISSN: 1896-530X DOI: 10.1515/bams-2014-0022

Monika Piwowar