



Autoreferat

dr n. med. Aleksandra Górska

Klinika Alergologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
Gdańsk 2026

Spis treści

1.	Imię i nazwisko.	4
2.	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.	4
3.	Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.	4
4.	Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).	5
4.1	Tytuł osiągnięcia naukowego:	5
	Znaczenie procesów epigenetycznych w patogenezie i obrazie klinicznym mastocytozy.	5
4.2	Lista publikacji	5
4.3	Wprowadzenie	6
4.4	Cel osiągnięcia naukowego	11
4.5	Szczegółowy opis osiągnięcia naukowego	12
4.5.1	Cel 1 Ocena częstości występowania, czynników wyzwalających oraz czynników ryzyka reakcji z nadwrażliwości w tym anafilaksji u chorych na mastocytozę	12
4.5.2	Cel 2 Ocena zmian epigenetycznych u chorych na mastocytozę oraz ich związku z objawami choroby.	16
4.5.3	Cel 3 Badanie sekwencji wykazujących zmiany epigenetyczne oraz badanie ekspresji genów wykazujących zmiany epigenetyczne i ich wpływ na rokowanie u chorych na mastocytozę 24	
4.6	Podsumowanie	26
5	Opis pozostałego dorobku naukowego i osiągnięć naukowych. Inne osiągnięcia naukowe	27
5.1	Prowadzenie rejestru mastocytozy w ramach Europejskiej Sieci mastocytozy - ECNM - The European Competence Network on Mastocytosis.	28
5.2	Identyfikacja czynników wpływających na przebieg astmy.	28
5.2.1	Identyfikacja czynników pogarszających przebieg astmy alergicznej	28
5.2.2	Wpływ mikroflory jelitowej na przebieg astmy.	30
6	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	31
6.2.1	ECNM – The European Competence Network Mastocytosis	31
6.1.2	Współpraca międzyośrodkowa w realizacji badań stanowiących osiągnięcie naukowe dotyczące identyfikacji czynników wpływających na przebieg astmy.	38
6.1.2	Współpraca międzyośrodkowa w realizacji badań stanowiących osiągnięcie naukowe dotyczące astmy i zaburzeń lękowo-depresyjnych.	39
6.1.3	Opracowanie recenzji artykułów naukowych dla czasopism medycznych	40
6.2	Granty.	41
6.3	Pozostała działalność naukowa	43
6.4	PATENT	43

6.5	Aktywny udział w konferencjach naukowych zagranicznych.....	44
7	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	45
7.1	Zajęcia dydaktyczne.....	45
7.2	Organizacja sekcji PTA.....	46
7.3	Wykłady na zaproszenie jako ekspert	47
7.4	Funkcja promotora	47
7.5	Studenckie koło naukowe	47
7.6	Działalność społeczna i organizacyjna	47
8	Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.....	48
8.1	Badania kliniczne	48
8.2	Nagrody	49
8.2.1	Nagrody Rektora.....	49
8.2.2	Uzyskane prestiżowe nagrody i wyróżnienia:	49
9	Analiza Bibliometryczna	50
10	Piśmiennictwo	50

1. Imię i nazwisko.

Aleksandra Górską

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

Dyplom lekarza 2004 rok Akademia Medyczna w Gdańsku

W 2014 roku uzyskałam stopień doktora nauk medycznych w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Obroniłam z wyróżnieniem rozprawę doktorską pt. „Ocena ekspresji wybranych genów za pomocą techniki RT-PCR u chorych na mastocytozę”, przygotowaną pod kierunkiem prof. Marka Niedożytko. W latach 2012–2014 byłam uczestniczką Dziennych Studiów Doktoranckich na Wydziale Lekarskim Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, zakończonych obroną wyżej wymienionej rozprawy naukowej.

Tytuł specjalisty Chorób Wewnętrznych otrzymałam w 2012 roku w Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi. Szkolenie specjalizacyjne odbywałam w Klinice Alergologii i Pneumonologii GUMed pod kierownictwem prof. Marty Chełmińskiej w latach 2006-2012.

Tytuł specjalisty Alergologii otrzymałam w 2016 rok w Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi. Szkolenie specjalizacyjne odbywałam w Klinice Alergologii i Pneumonologii GUMed pod kierownictwem prof. Marka Niedożytko w latach 2012-2015.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

- Od 2016 roku Poradnia Alergologiczna Kliniki Alergologii Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
- 2015 – 2017 Klinika Pneumonologii Gdański Uniwersytet Medyczny
- Od 2017 roku Klinika Alergologii Gdański Uniwersytet Medyczny
- Od 2017 roku: Klinika Alergologii Uniwersyteckie Centrum Kliniczne

Od 2025 roku pełnię funkcję zastępcy ordynatora do spraw ekonomizacji

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego:

Znaczenie procesów epigenetycznych w patogenezie i obrazie klinicznym mastocytozy.

4.2 Lista publikacji

Osiągnięcie obejmuje cykl 4 artykułów naukowych traktujących o znaczeniu procesów epigenetycznych w patogenezie oraz obrazie klinicznym mastocytozy.

1. Aleksandra Górską, Ewa Jabłońska, Edyta Reszka, Marek Niedożytko, Magdalena Lange, Marta Gruchała-Niedożytko, Justyna Jarczak, Dominik Strapagiel, Magdalena Górską-Ponikowska, Paulina Bastian, Iwona Pelikant-Małecka, Leszek Kalinowski, Bogusław Niedożytko. DNA methylation profile in patients with indolent systemic mastocytosis. Clin Transl Allergy. 2021;e12074. <https://doi.org/10.1002/clt2.12074>
2. Górską A, Urbanowicz M, Grochowalski Ł, Seweryn M, Sobalska-Kwapis M, Wojdacz T, Lange M, Gruchała-Niedożytko M, Jarczak J, Strapagiel D, Górską-Ponikowska M, Pelikant-Małecka I, Kalinowski L, Niedożytko B, Gutowska-Owsiak D, Niedożytko M. Genome-Wide DNA Methylation and Gene Expression in Patients with Indolent Systemic Mastocytosis. Int J Mol Sci. 2023 Sep 10;24(18):13910. doi: 10.3390/ijms241813910. PMID: 37762215; PMCID: PMC10530743.
3. Niedożytko M, Gorska A, Brockow K, Bonadonna P, Lange M, Kluin-Nelemans H, Oude-Elberink H, Sabato V, Shoumariyeh K, von Bubnoff D, Müller S, Illerhaus A, Doubek M, Angelova-Fischer I, Hermine O, Arock M, Elena C, Malcovati L, Yavuz AS, Schug TD, Fortina AB, Judit V, Gotlib J, Panse J, Vucinic V, Reiter A, Schwaab J, Triggiani M, Mattsson M, Breynaert C, Romantowski J, Zanotti R, Olivieri E, Zink A, van de Ven A, Stefan A, Barete S, Caroppo F, Perkins C, Kennedy V, Christen D, Jawhar M, Luebke J, Parente R, Levedahl K, Hadzijusufovic E, Hartmann K, Niedożytko B, Sperr WR, Valent P. Prevalence of hypersensitivity reactions in various forms of mastocytosis: A pilot study of 2485 adult patients with mastocytosis collected in the ECNM registry. Allergy. 2024 Sep;79(9):2470-2481. doi: 10.1111/all.16132. Epub 2024 Apr 23. PMID: 38651829.
4. Górską A, van De Wetering T, Sobalska-Kwapis M, Niedożytko B, Gutowska-Owsiak D, Niedożytko M. Next Generation Sequencing of Genes With Epigenetic Alterations in Mastocytosis. Clin Transl Allergy. 2025;e70106. <https://doi.org/10.1002/clt2.70106>

Impact Factor: 26,557

punktacja ministerialna: 480

Mój udział

Kategoria (CRediT)	CTA 2021	IJMS 2023	Allergy 2024	CTA 2025
Konceptualizacja	✓	✓	✓	✓
Badania (Investigation)	✓	✓	✓	✓
Analiza formalna	✓	✓	✓	✓
Gromadzenie danych	✓	✓	✓	✓
Zasoby	✓	✓	✓	✓
Wizualizacja	✓	✓	–	✓
Pisanie – pierwotna wersja (draft)	✓	✓	✓	✓
Pisanie – recenzja i redakcja (review & edit)	✓	✓	✓	✓

4.3 Wprowadzenie

Mastocytoza należy do grupy nowotworów hematologicznych charakteryzujących się ekspansją i miejscową akumulacją klonalnych mastocytów (mast cells – MCs) w tkankach i narządach, najczęściej w szpiku kostnym i skórze. Nowotworowe MCs wykazują atypową morfologię oraz zmieniony immunofenotyp. MCs wytwarzają i magazynują mediatory prozapalne oraz wazoaktywne. Głównym mechanizmem aktywacji mastocytów jest wiązanie przeciwciał IgE z receptorem FcεR1 o wysokim powinowactwie, co stanowi ich główną funkcję immunomodulacyjną. Poza aktywacją zależną od IgE, proces ten może zachodzić w sposób niezależny od IgE. Mechanizm ten obejmuje aktywację receptorów S1PR1-S1PR5, FcεR1α, MRGPRX2, CD117, CD123, działanie wybranych cytokin (IL-4, IL-13, IL-33, IL-5, IL-6, IL-10, TSLP, GM-CSF), aktywację układu dopełniacza poprzez receptory C3aR, C5aR, C1q, a także oddziaływanie cząsteczek wirusowych, pasożytów oraz różnych cząsteczek endogennych za pośrednictwem receptorów TLR: 2,4,5,9¹.

Objawy kliniczne choroby mogą wynikać zarówno z uwolnienia mediatorów jak również z naciekania tkanek i narządów przez MCs. Choroba charakteryzuje się szerokim spektrum objawów: skórnych,

anafilaksji, bóli kostnych, osteoporozy, objawów z układu pokarmowego, problemów neurologicznych, a także związanych z powiększaniem i upośledzeniem funkcji naciekanymi narządów. Zatem przebieg choroby uzależniony jest od podtypu choroby, objawów klinicznych, efektów leczenia oraz chorób współistniejących^{2,3}. Według podziału Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) rozróżnia się postać skórną (CM – cutaneous mastocytosis) i układową (SM – systemic mastocytosis) mastocytozy oraz mięsaka mastocytnego (Mast Cell sarcoma). Rozpoznanie układowej mastocytozy (SM) wymaga kompleksowej oceny szpiku kostnego, obejmującej badania histopatologiczne, cytologiczne i immunofenotypowe, a także analizę mutacji w genie KIT oraz oznaczenie stężenia podstawowego tryptazy w surowicy. Zestaw badań umożliwia ocenę spełnienia głównego kryterium diagnostycznego oraz czterech kryteriów mniejszych, co pozwala na potwierdzenie lub wykluczenie rozpoznania SM.

Rokowanie w mastocytozie jest zróżnicowane – od korzystnego w przypadku mastocytozy skórnej (CM), która jest bez wpływu na oczekiwaną długość życia, jednak ze znacząco gorszą jego jakością. W indolentnej mastocytozie układowej (ISM – indolent systemic mastocytosis) jest niski wskaźnik progresji do bardziej zaawansowanych postaci choroby, natomiast rokowanie jest poważne w szybko pogarszających się agresywnych postaciach choroby, takich jak agresywna mastocytoza układowa (ASM – aggressive systemic mastocytosis) i białaczka mastocytna (MCL – mast cell leukaemia). Rokowanie może ulec zmianie wraz z postępem choroby lub efektami leczenia⁴.

Istotnym elementem patogenyzy mastocytozy jest obecność onkogennej mutacji KIT D816V, gdyż stwierdza się ją u ponad 90% dorosłych pacjentów z postacią układową (SM)⁵. W populacji pediatrycznej, głównie u chorych z postacią skórną (CM), około 25% przypadków nie wykazuje mutacji w genie KIT, 35% prezentuje mutacje w kodonie 816 (D816V, D816I lub D816Y), natomiast u pozostałych 40% obserwuje się inne warianty patogenne, zlokalizowane w regionie kodującym zewnątrzkomórkową domenę receptora czynnika komórek macierzystych (SCF)⁶. Jednak sama obecność aktywujących mutacji KIT nie wystarcza, aby wyjaśnić zróżnicowane podtypy kliniczne mastocytozy. W ostatnich badaniach zidentyfikowano polimorfizmy genetyczne w genach cytokin oraz ich receptorów (IL13, IL6, IL6R, IL31, IL4R, VEGFA) oraz Toll-like receptorów jako potencjalne czynniki przyczyniające się do rozwoju mastocytozy⁷. Wykryto, że w mastocytozie występują zmienione profile ekspresji RNA w szpiku kostnym⁸. Analizy transkryptomyczne szpiku kostnego w mastocytozie wykazują nadmierną ekspresję genów zaangażowanych w funkcjonowanie mastocytów, w tym TPSAB1, ATF3 i MAFF, korelujących z poziomami tryptazy⁹. Profilowanie krwi obwodowej u pacjentów z indolentną mastocytozą układową (ISM) ujawnia zmienioną ekspresję genów w kluczowych szlakach sygnałowych, w tym JAK–STAT, MAPK, p53 oraz w procesach związanych z proteolizą zależną od ubiquityny¹⁰.

U pacjentów z zaawansowaną postacią SM — w tym z agresywną mastocytozą (ASM), SM współistniejącą z nowotworem hematologicznym (SM-AHN – systemic mastocytosis with an associated hematologic neoplasm) oraz białaczką mastocytową (MCL) — identyfikowane są dodatkowe aberracje genetyczne, obejmujące mutacje w genach TET2, SRSF2, ASXL1 oraz RUNX1. Zmiany te mogą odgrywać kluczową rolę w kształtowaniu fenotypowej heterogenności choroby, wpływać na agresywność przebiegu klinicznego oraz stanowić potencjalne cele dla nowych strategii terapeutycznych⁵.

Dotychczas niewiele wiadomo na temat epigenetycznych czynników prowadzących do rozwoju lub progresji mastocytozy. Na patogenezę tej choroby mogą wpływać zaburzenia regulacji epigenetycznych mechanizmów ekspresji genów, obejmujące m.in. specyficzną ekspresję mikroRNA, utratę funkcji genów supresorowych, aktywację określonych onkogenów (np. kinaz tyrozynowych lub białek szlaków sygnałowych), upośledzenie procesów replikacji i naprawy DNA, zaburzenia apoptozy oraz zwiększoną niestabilność genomu komórek tucznych (MC)^{11,12}.

Zmiany epigenetyczne odpowiadają za regulację ekspresji genów bez jednoczesnej modyfikacji sekwencji DNA. Najlepiej poznanym markerem epigenetycznym jest metylacja DNA, która najczęściej zachodzi w cytozynach poprzedzających guaninę, tworzących dinukleotydy CpG. Stanowi ona jedną z kluczowych modyfikacji epigenetycznych obserwowanych w licznych procesach biologicznych i patologicznych¹³. Metylacja DNA jest katalizowana przez DNA metylotransferazy (DNMT), które przenoszą grupę metylową na piątą pozycję pierścienia cytozyny, prowadząc do powstania 5-metylocytozyny (5-mC)¹⁴. W procesie demetylacji 5-mC może zostać przekształcona do 5-hydroksymetylocytozyny (5-hmC) przez hydroksylazy TET, pełniące kluczową rolę w mechanizmie aktywnej demetylacji DNA. Zatem globalna hipometylacja DNA może prowadzić do niestabilności chromosomowej, sprzyjając nadmiernej proliferacji komórek i rozwojowi nowotworów¹⁵. Znaną retrotranspozony nie-LTR — w tym długie elementy przeplatane — LINE-1 i krótkie elementy przeplatane — Alu — które wpływają na ludzki genom generując mutacje insercyjne, niestabilność genomową, zmiany w ekspresji genów, a także przyczyniając się do innowacji genetycznych¹⁶. Około 1,4 miliona elementów powtarzalnych Alu i 0,5 miliona elementów nukleotydowych przeplatanych LINE-1 są w ludzkim genomie zazwyczaj silnie zmetylowane. Szacuje się, że ponad jedna trzecia metylacji DNA zachodzi właśnie w elementach powtarzalnych. W związku z tym ocena stopnia metylacji LINE-1 i Alu stanowi zastępczy marker globalnej metylacji DNA¹⁷. Na podstawie analizy sekwencjonowania wielu genów pod kątem typowych mutacji zidentyfikowanych w złośliwych chorobach mieloidalnych, stworzono listę mutacji somatycznych występujących u pacjentów z mastocytozą^{18,19}. Geny te kodują czynniki regulujące proces splicingu, transmisję sygnału i regulacje epigenetyczne. Najczęściej mutowanymi genami są TET-2 (demetylacja DNA), DNMT3A (metylacja wysp CpG), ASXL1 (wyciszanie i przebudowa chromatyny) oraz IDH2 (regulacja metylacji histonów). Co

ważne, mutacje w genach kodujących czynniki zaangażowane w proces epigenetyczny są często obserwowane w bardziej zaawansowanej postaci mastocytozy i są związane z gorszym rokowaniem i krótszą oczekiwaną długością życia^{18,19}.

Dla wielu pacjentów z mastocytozą układową (SM) główny problem kliniczny stanowią reakcje wynikające z aktywacji i uwolnienia mediatorów komórek tucznych powodujące objawy nadwrażliwości²⁰. W licznych badaniach wykazano, że objawy związane z uwalnianiem mediatorów negatywnie wpływają na jakość życia tych chorych^{20–23}. Nadwrażliwość może być wywoływana przez różnorodne czynniki, takie jak jady owadów błonkoskrzydłych, pokarmy, leki, alergen wziewne, lateks, alergen kontaktowy, a także czynniki fizyczne, w tym ciepło, wysiłek fizyczny, zimno czy stres. Pacjenci z mastocytozą wydają się szczególnie podatni na ciężkie reakcje, w tym anafilaksję, występująca u ok 40%-50% chorych^{23,24}, co wynika z podwyższonej liczby komórek tucznych będących źródłem mediatorów odpowiedzialnych za objawy reakcji systemowej nadwrażliwości^{24,25}. Mimo to nadal brakuje danych dotyczących częstości występowania reakcji nadwrażliwości w poszczególnych podgrupach mastocytozy według klasyfikacji WHO, określenia czynników ryzyka anafilaksji, charakterystyki czynników wyzwalających i prowokujących uwolnienie mediatorów komórek tucznych oraz czynników prognostycznych. Dotychczas wykazano, że pacjenci z ISM z anafilaksją wywołaną jadem owadów wykazują odmienne profile ekspresji genów w porównaniu z osobami bez tego typu reakcji²⁶. Ponadto wykryto zwiększoną ekspresję genu TRAF4 jako związaną z nadwrażliwością pokarmową, natomiast obniżoną ekspresję genu B3GAT1 jako związaną z występowaniem anafilaksji indukowanej jadem owadów²⁷.

Stratyfikacja ryzyka u chorych na mastocytozę obejmuje, poza podwyższonym ryzykiem anafilaksji i jej następstw, ocenę występowania objawów spowodowanych naciekaniami organów lub tkanek przez mastocyty i odróżnienie ich od objawów wywołanych uwolnieniem mediatorów. Dzieli się je na objawy typu B (ang. *borderline* – z pogranicza) oraz objawy typu C (wskazujące na konieczność wprowadzenia leczenia cytoredukcyjnego, chemioterapii), tabela 1³.

Tabela 1. Stratyfikacja ryzyka na podstawie obecności objawów typu B i C³.

Kategoria	Kryteria WHO / Opis
B-findings (oznaki wysokiego obciążenia mastocytami / wczesne zmiany narządowe)	• Duże obciążenie mastocytami: nacieki w szpiku $\geq 30\%$ w histologii (IHC) i/lub stężenie tryptazy w surowicy ≥ 200 ng/mL i/lub KIT D816V VAF $\geq 10\%$ w szpiku lub leukocytach krwi obwodowej. • Objawy mieloproliferacji i/lub mielodysplazji: hipercelularny szpik z utratą komórek tłuszczowych, nasilona mielopoeza $\pm$ przesunięcie w

	lewo i eozynofilia ± leukocytoza i eozynofilia i/lub dyskretne cechy mielodysplazji (<10% neutrofilów, erytrocytów i megakariocytów). • Organomegalia: hepatomegalia bez wodobrzusza lub innych uszkodzeń narządowych i/lub splenomegalia bez hipersplenizmu i bez utraty masy ciała i/lub powiększenie węzłów chłonnych stwierdzone palpacyjnie lub w USG/CT (>2 cm).
C-findings (objawy uszkodzenia narządów / poważne powikłania)	• Cytopenie: ANC <1×10⁹/L, Hb <10 g/dL, PLT <100×10⁹/L (jedno lub więcej). • Choroba wątroby: wodobrzusze i podwyższone enzymy wątrobowe ± hepatomegalia lub marskość wątroby ± nadciśnienie wrotne. • Śledziona: splenomegalia z hipersplenizmem ± utrata masy ciała ± hipoalbuminemia. • Przewód pokarmowy: zespół złego wchłaniania z hipoalbuminemią ± utrata masy ciała. • Kości: duże ogniska osteolizy (≥2 cm) z złamaniami patologicznymi ± ból kości.
HαT – hereditary α-tryptazemia	• Wrodzona α-tryptazemia – wymagana jest korekta stężenia tryptazy o ilość kopii genu α tryptazy – należy podzielić poziom tryptazy przez 1 plus liczba dodatkowych kopii genu α tryptazy. Przykład: Poziom tryptazy: 300 ng/mL Liczba dodatkowych kopii genu α tryptazy: 2 Korekta: $300 \div (1 + 2) = 100$ ng/mL Po korekcie poziom wynosi 100 ng/mL zatem nie spełnia kryterium B.
UWAGI	• Objawy mieloproliferacji i/lub mielodysplazji muszą być wyraźne i stabilne (nie zanikać ani nie postępować) oraz nie mogą spełniać kryteriów diagnostycznych MPN, MDS lub MPN/MDS kwalifikujących do rozpoznania SM-AHN. • Poziom fosfatazy alkalicznej zazwyczaj podwyższony u chorych z zaawansowaną SM i uszkodzeniem wątroby wywołanym SM. U niektórych stwierdza się jedynie podwyższony poziom enzymów wątrobowych, ale nie stwierdza się istotnego klinicznie wodobrzusza. • Somatyczne mutacje w innych genach niż KIT mogą wskazywać na zajęcie wielu linii komórkowych, nie powinny stanowić kryteriów B, ze

	względu na częste współistnienie AHN/AMN. W takich przypadkach mutacje mogą prowadzić do rozpoznania SM-AHN zamiast SSM. U pacjentów bez AHN obecność dodatkowych mutacji może sugerować rozszerzenie procesu nowotworowego na wiele linii. • Badania wykazały, że mutacje genów innych niż KIT (np. ASXL1, RUNX1, DNMT3A) występują u ~17% pacjentów z ISM bez AHN, a wyższy VAF ($\geq 30\%$) ma znaczenie prognostyczne. Nie jest jednak jasne, czy mutacje te, nawet przy wysokim VAF, mogą stanowić kryterium B lub rozpoznanie ukrytego AHN.
--	--

Podjęto próby opracowania klinicznego modelu prognostycznego mastocytozy układowej (SM), który mógłby znaleźć szerokie zastosowanie w codziennej praktyce lekarskiej. W Mayo Clinic zaproponowano model prognostyczny oparty na pięciu łatwo dostępnych klinicznych czynnikach ryzyka: wiek ≥ 60 lat, zaawansowaną SM wg WHO w porównaniu z ISM, małopłytkowość $\geq 150 \pm 10^9/l$, niedokrwistość zdefiniowaną jako poziom hemoglobiny poniżej normy skorygowanej o płeć oraz podwyższone stężenie fosfatazy alkalicznej w surowicy. Przeżycie było bezpośrednio i proporcjonalnie skorelowane z liczbą obecnych czynników ryzyka, przy czym pacjenci z jednym czynnikiem ryzyka charakteryzowali się dobrym rokowaniem, natomiast u chorych z czterema lub pięcioma czynnikami ryzyka obserwowano wyraźnie niekorzystne rokowanie (mediana przeżycia 9-27 miesięcy). Model kliniczny był równie skuteczny w przypadku zastosowania go oddzielnie do zaawansowanej SM lub ISM. Ponadto w zaawansowanej mastocytozie opracowano model kliniczno-molekularny, który oparto na wyżej wymienionych 5 klinicznych czynnikach ryzyka oraz na obecności niekorzystnych rokowniczo mutacji (tj. ASXL1, RUNX1 i NRAS) oraz kariotypu²⁸.

Natomiast nadal nie opracowano narzędzia umożliwiającego prognozowanie wystąpienia oraz przebiegu reakcji anafilaktycznej u chorych z SM. Wiadomo, że wysokie ryzyko wystąpienia anafilaksji jest u chorych z postaciami choroby o niskim ryzyku progresji: ISM, BMM (mastocytoza szpiku kostnego) oraz DCM (rozlana mastocytoza skórna), natomiast najniższe ryzyko anafilaksji jest u chorych z zaawansowanymi hematologicznie postaciami choroby (SM-AHN, ASM, MCL, MCS) o wysokim ryzyku progresji³.

4.4 Cel osiągnięcia naukowego

Celem niniejszego osiągnięcia jest kompleksowa ocena klinicznych uwarunkowań mastocytozy, ze szczególnym uwzględnieniem częstości występowania oraz czynników wyzwalających i ryzyka reakcji

nadwrażliwości, w tym anafilaksji, a także identyfikacji zmian epigenetycznych, ich wpływu na ekspresję genów oraz znaczenia prognostycznego.

Cele szczegółowe

1. Ocena częstości występowania, czynników wyzwalających oraz czynników ryzyka reakcji z nadwrażliwości w tym anafilaksji u chorych na mastocytozę (Praca 3).
2. Ocena zmian epigenetycznych u chorych na mastocytozę oraz ich związku z objawami choroby (Praca 1, 2).
3. Badanie sekwencji wykazujących zmiany epigenetyczne oraz badanie ekspresji genów wykazujących zmiany epigenetyczne i ich wpływ na rokowanie u chorych na mastocytozę (Praca 4).

4.5 Szczegółowy opis osiągnięcia naukowego

4.5.1 Cel 1 Ocena częstości występowania, czynników wyzwalających oraz czynników ryzyka reakcji z nadwrażliwości w tym anafilaksji u chorych na mastocytozę

Mimo wzrastającej liczby zachorowań, z częstością występowania wynoszącą około 10-15 przypadków na 100 000 dorosłych rocznie, mastocytoza jest chorobą rzadką²⁹⁻³¹. Należy do chorób nowotworowych charakteryzującą się ekspansją i miejscową akumulacją mastocytów. Objawy choroby są zróżnicowane i wynikają z naciekania oraz upośledzenia funkcji naciekanymi narządów w zaawansowanych postaciach mastocytozy oraz są uwarunkowane aktywacją i uwolnieniem mediatorów komórek tucznych, które mogą występować niezależnie od postaci choroby.

Częstość występowania reakcji wynikających z uwolnienia mediatorów komórek tucznych oceniano w oparciu o doświadczenia pojedynczych ośrodków zajmujących się diagnozowaniem i terapią chorych na mastocytozę. W hiszpańskiej populacji 163 chorych na mastocytozę stwierdzono u 57% chorych reakcje nadwrażliwości³². W populacji 152 polskich pacjentów u 84% chorych stwierdzono objawy uwolnienia mediatorów komórek tucznych. Wśród nich u 41% pacjentów obserwowano reakcje alergiczne i niealergiczne, natomiast u 43% chorych występowały reakcje indukowane wyłącznie przez czynniki niealergicznych²³. W niemieckiej kohorcie 74 dorosłych chorych częstość występowania anafilaksji wynosiła 49%³³. Dane zebrane w amerykańskim rejestrze zgłoszeń pacjentów tzw. Mast Cell Connect obejmującym 420 chorych, wykazały, że 95% spośród 384 pacjentów, którzy odpowiedzieli na

pytania dotyczące alergii, zgłosiło występowanie reakcji nadwrażliwości, a objawy anafilaksji zgłosiło 51% pacjentów³⁴.

Tabela 1. Częstość występowania objawów nadwrażliwości u dorosłych chorych na mastocytozę na podstawie danych z poszczególnych ośrodków .

KRAJ	LICZBA CHORYCH	CZĘSTOŚĆ REAKCJI NADWRAŻLIWOŚCI	UWAGI
HISZPANIA <i>Spanish Network on Mastocytosis</i>	163	57%	U 22% anafilaksja U 23,9% chorych reakcje IgE-zależne
POLSKA <i>Polish Center of Excellence of ECNM</i>	152	84%	U 50% chorych reakcje anafilaktyczne, w tym u 60,5 % z ISM i 37,8% z CM U 9% chorych IgE-zależne, u 32% nakładające się IgE-oraz nie-IgE-zależne, u 43% nie-IgE-zależne deklarowane czynniki wywołujące: fizyczne u 74%, pokarmy u 29% (sIgE dodatnie u 9%), jady owadów u 22% (u wszystkich obecne sIgE), leki u 15%
NIEMCY	74	49%	Oceniono częstość anafilaksji Potwierdzona alergia na jady owadów u 19%, na pokarmy u 16%, na leki u 9%, u 26% kombinacja czynników, u 13% czynniki nieznane
USA	420	91,4%	dane deklarowane przez chorych u 51% anafilaksja, w tym wstrząs u 41,7% u 28,4% jady owadów, u 37% leki, u 38% pokarmy i napoje alkoholowe

Zatem chorzy na mastocytozę mają wysokie ryzyko reakcji z nadwrażliwości, w tym zagrażającej życiu anafilaksji (22%-51%), zdecydowanie wyższe niż w populacji ogólnej (0,5-2%)³⁵, natomiast brakowało danych dotyczących czynników ryzyka oraz najważniejszych czynników wyzwalających anafilaksję

specyficznych dla poszczególnych postaci, a także czy w trakcie dalszej obserwacji u chorych wystąpi anafilaksja.

Cel został zrealizowany w pracy pod tytułem „Prevalence of hypersensitivity reactions in various forms of mastocytosis: A pilot study of 2485 adult patients with mastocytosis collected in the ECNM registry” opublikowanej w *Allergy* w 2024 roku (nr 3), co poniżej opisano. Badanie zostało przeprowadzone na kohorcie dorosłych pacjentów Europejskiego Rejestru Mastocytozy - *the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM)*. Uzyskano dane 2485 chorych z 27 ośrodków ECNM. Informacje w bazie danych zostały zweryfikowane pod kątem dokładności i wiarygodności. Przeanalizowano potencjalne czynniki wyzwalające reakcje nadwrażliwości, w tym reakcje anafilaktyczne, jak: jady owadów błonkoskrzydłych, pokarmy, leki, alergeny wziewne i inne (czynniki fizykalne, alergia typu IV - kontaktowa), a także określono dodatkowe czynniki ryzyka ciężkiej anafilaksji o pacjentów z mastocytozą. Analizowano dane z momentu rozpoznania mastocytozy, a także zebrane podczas kolejnych wizyt kontrolnych, w tym informacje o objawach wywoływanych przez mediatory komórek tucznych, reakcjach nadwrażliwości a także dotyczące progresji, wyników leczenia, obecności chorób współistniejących. U 35% chorych (n=869) występowały reakcje nadwrażliwości do czasu wizyty pierwszorazowej – raportowane podczas stawiania diagnozy mastocytozy, natomiast po uwzględnieniu danych z kolejnych wizyt kontrolnych ich częstość wzrosła do 38,1% (n=948). Spośród 79 dodatkowych chorych z HR 69 (87%) nie zgłosiło żadnej reakcji w czasie wizyty pierwszorazowej, natomiast u 10 (13%) brakowało danych na ten temat. U 1537 chorych (61,9%) nie występowały reakcje nadwrażliwości w czasie obserwacji od 1 do 7 lat, z medianą czasu obserwacji wynoszącą 4 lata.

Najczęstszą przyczyną HR w badanej grupie były reakcje systemowe po użądleniu przez owady błonkoskrzydłe – wystąpiły u 525 chorych (21,1%), co oznacza wyższą częstość niż w populacji ogólnej (0,3% - 8,9%)^{25,36,37}.

Kolejnymi czynnikami wyzwalającymi objawy nadwrażliwości były leki – u 216 chorych (8,7%), które częściej powodowały HR u chorych z SSM (18%) oraz adv-SM (16%) w porównaniu do ISM, podczas gdy rozpowszechnienie alergii na leki w populacji ogólnej wynosi ok 7%³⁸.

Kolejnymi czynnikami wyzwalającymi HR były alergeny powietrzno-pochodne u 139 chorych (5,6%), które stanowiły mniejsze rozpowszechnienie niż w populacji ogólnej³⁹; alergeny pokarmowe u 137 chorych (5,5%) czyli z porównywalną częstością występowania co w populacji ogólnej³⁵ oraz inne u 74 chorych (3%).

Najczęstszymi specyficznymi czynnikami prowokującymi HR był jad osy, orzechy, truskawki, orzeszki ziemne, ryby oraz alkohol. Najczęstszymi lekami wywołującymi HR były leki powodujące HR także w populacji ogólnej, zatem były to niesteroidowe leki przeciwzapalne (n=81, 3,2%), antybiotyki – w tym

penicylina (n=42, 1,7%) oraz leki znieczulające miejscowo (n=12, 0,5%). Najczęstszymi alergenami wziewnymi wywołującymi HR były roztocze kurzu domowego oraz pyłki roślin.

W odniesieniu do postaci choroby, jady owadów błonkoskrzydłych były najczęstszym czynnikiem wywołującym HR w postaciach niezaawansowanych postaciach mastocytozy, w szczególności u chorych z ISM (47%), BMM (79%), MIS (32%), SSM (31%) oraz MPCM (30%), natomiast nadwrażliwość na leki była częściej zgłaszana u chorych z zaawansowaną mastocytozą układową, w tym u chorych z ASM (12,5%), SM-AHN (3,8%) oraz MCL (16,2%). Alergeny wziewne oraz pokarmowe wywoływały HR w obu podgrupach z podobną częstością.

Próbując określić czynniki ryzyka wystąpienia reakcji nadwrażliwości, w szczególności anafilaktycznej prowokowanej jadami owadów, stwierdziliśmy, że występowały one częściej w ISM niż w adv-SM, u tych chorych z stężeniem tryptazy poniżej 90 ng/ml, a także u chorych z odsetkiem mastocytów w badaniu histologicznym szpiku poniżej 15%. Jednocześnie u tych chorych z ISM z HR rzadziej odnotowano objawy kliniczne i laboratoryjne wskazujące na adv-SM, jak hepatosplenomegalia, utrata masy ciała, podwyższony poziom fosfatazy alkalicznej czy stężenia $\beta 2$ -mikroglobuliny. Szczególną postacią mastocytozy bez zajęcia skóry jest mastocytoza szpiku – BMM, w której istotnie częściej obserwuje się objawy nadwrażliwości, w szczególności anafilaksje poużądleniowe. Jak dotąd nie wiadomo, dlaczego u chorych z BMM jady owadów wywołują ciężką anafilaksję; to właśnie jej wystąpienie często budzi podejrzenie mastocytozy i prowadzi do podjęcia diagnostyki w tym kierunku.

Podsumowując

38,1% chorych zgłosiło co najmniej jeden czynnik wywołujący objawy nadwrażliwości. Najważniejszymi czynnikami wywołującymi reakcje anafilaktyczne w mastocytozie są jady owadów błonkoskrzydłych w mastocytozie skórnej (CM) i układowej indolentnej (ISM) oraz nadwrażliwość na leki w zaawansowanej mastocytozie (advSM). Nowe reakcje anafilaktyczne wystąpiły u 4,8% pacjentów w trakcie 4-letniej obserwacji.

Poziom tryptazy poniżej 90 ng/ml, rozpoznanie ISM oraz odsetek komórek mastocytowych poniżej 15% w aspiracie szpiku kostnego stanowią czynniki prognostyczne reakcji anafilaktycznych.

Wnioski

U chorych na mastocytozę reakcje nadwrażliwości, w tym anafilaktyczne, występują z wielokrotnie wyższą częstością (38%-84%) niż w populacji ogólnej. Najważniejszymi czynnikami wywołującym reakcje nadwrażliwości, w tym anafilaktyczne, u chorych na mastocytozę są jady owadów błonkoskrzydłych w postaciach niezaawansowanych oraz leki w zaawansowanych postaciach choroby. Czynniki predykcyjnymi reakcji nadwrażliwości są tryptaza poniżej 90 ng/ml, diagnoza ISM i BMM,

odsetek mastocytów w szpiku kostnym poniżej 15%. Nowe reakcje z nadwrażliwości pojawiają się u 4,8% chorych w ciągu 4 lat. Zatem istotnym elementem postępowania u chorych na mastocytozę, szczególnie z niskim ryzykiem progresji, jest ocena występowania reakcji nadwrażliwości, określenie ryzyka anafilaksji, a także edukacja dotycząca czynników potencjalnie wywołujących objawy nadwrażliwości oraz postępowania w anafilaksji.

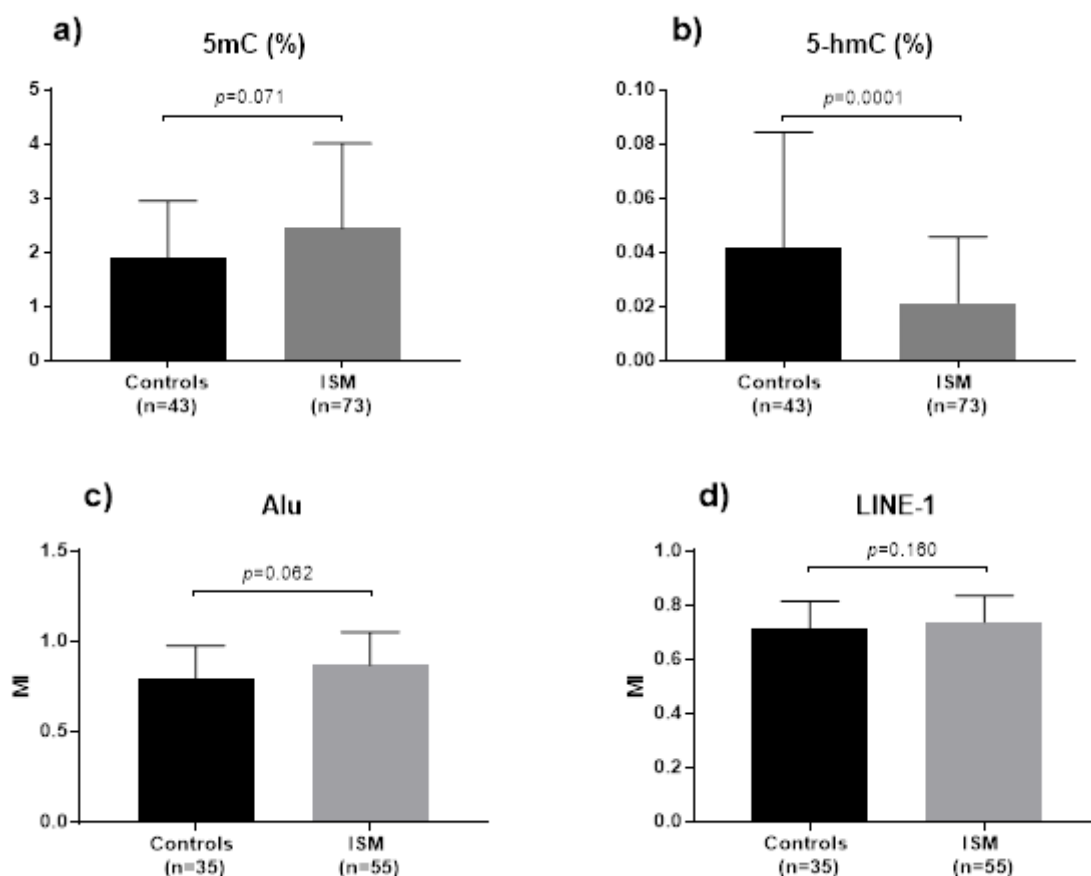
4.5.2 Cel 2 Ocena zmian epigenetycznych u chorych na mastocytozę oraz ich związku z objawami choroby

Jak dotąd nie wiadomo, dlaczego częstość występowania alergii na jady owadów błonkoskrzydłych jest tak wysoka u chorych na mastocytozę. Do tej pory wykryto, że geny zaangażowane w ścieżki odpowiedzialne za rozwój nowotworów podlegają nadmiernej ekspresji u pacjentów z mastocytozą, którzy nie mieli reakcji nadwrażliwości prowokowanych użądleniami błonkówek^{10,26}. Jednym z wyjaśnień mógłby być wpływ zaburzeń mechanizmów epigenetycznych. Cel ten został zrealizowany w pracy nr 1 zatytułowanej „DNA methylation profile in patients with indolent systemic mastocytosis” (Clin Transl Allergy, 2021) oraz nr 2 zatytułowanej „Genome-Wide DNA Methylation and Gene Expression in Patients with Indolent Systemic Mastocytosis” (Int J Mol Sci, 2023) co poniżej opisano.

Jako cel drugi osiągnięcia przeprowadzono analizę związku objawów mastocytozy, w tym reakcji nadwrażliwości, oraz zmian epigenetycznych, a także podjęto próbę identyfikacji epigenetycznych predyktorów choroby na podstawie analizy globalnej metylacji DNA z analizą sekwencji powtórzeniowych LINE-1 i Alu oraz analizy procentowej zawartości 5-mC oraz 5-hmC.

Badanie przeprowadzono w próbkach krwi obwodowej od 73 chorych na mastocytozę indolentną (ISM) w porównaniu do 43 osób zdrowych. Charakterystyka grupy badawczej była następująca. Większość grupy badanej i kontrolnej deklarowała niepalenie tytoniu (76,7% w obu grupach). Mutacja KIT D816V była potwierdzona u 86,8% chorych, w tym u 75% z anafilaksją i u 92% bez anafilaksji w wywiadzie ($p=0,0042$). U chorych z alergią, którzy stanowili 49,3% pacjentów z ISM, objawy występowały pod wpływem następujących czynników: jady owadów błonkoskrzydłych (52,8%), leki (27,8%), pokarmy (11,1%), alergenzy wziewne (8,3%), lateks (2,8%). Objawy anafilaksji występowały u 34,2% chorych i były prowokowane przez: jady owadów (76%), leki (16%), czynnik nieznany (8%). Określono stężenia markerów metylacji i demetylacji DNA w 116 próbkach. Różnice między grupami na poziomie markerów metylacji i demetylacji (5-mC, 5-hmC, Alu i LINE-1) przedstawiono na rycinie 1. Istotnie niższy poziom hydrosymetylacji DNA (5-hmC) we krwi stwierdzono u pacjentów z ISM w porównaniu z grupą kontrolną (0,022 vs. 0,042, $p = 0,0001$, ryc. 1; b). Różnice w markerach globalnej

metylacji DNA (5-mC, Alu, LINE-1) nie były statystycznie istotne (ryciny 1; a, c, d), chociaż wskazywały na ogólnie wyższą metylację DNA u pacjentów z mastocytozą.



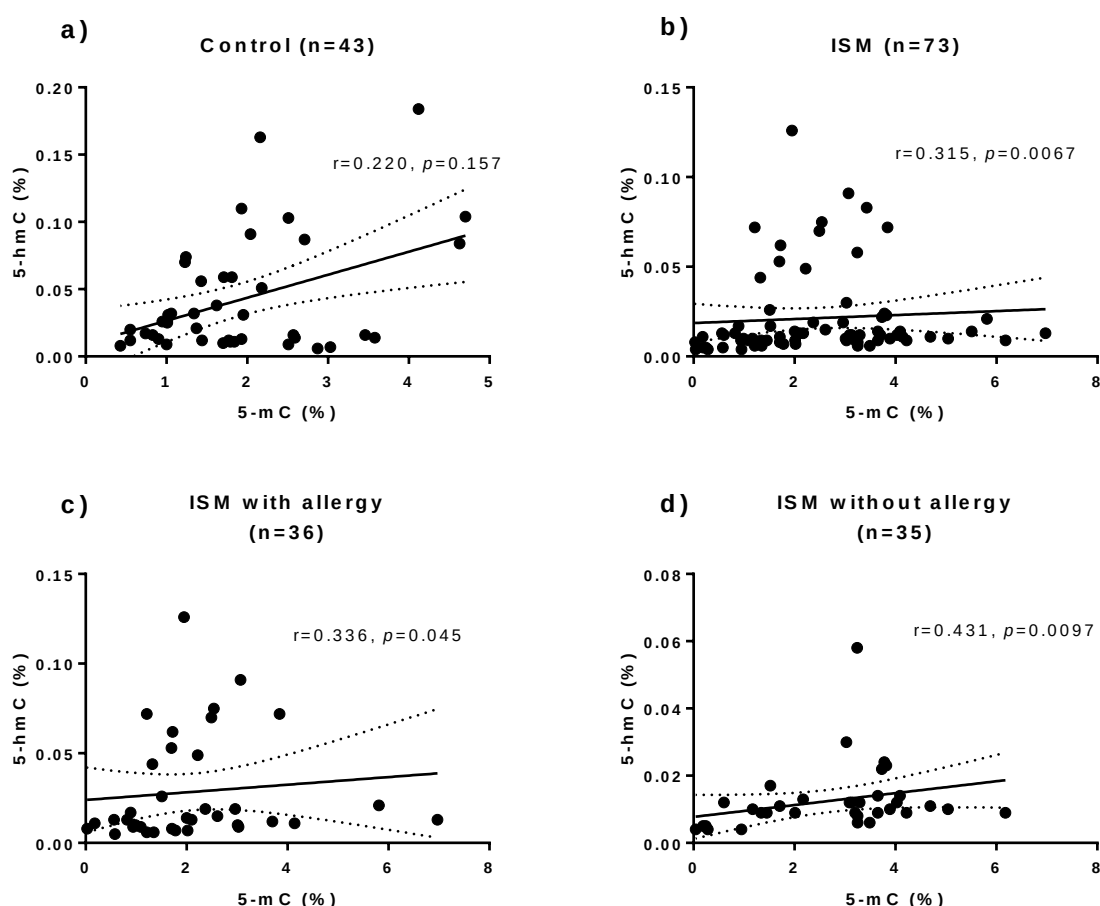
Rycina 1. Markery metylacji DNA we krwi: a) 5-mC całkowitego DNA, c) Alu, d) LINE-1 oraz demetylacji: b) 5-hmC całkowitego DNA, u pacjentów z indolentną mastocytozą układową oraz w grupie kontrolnej.

Wykazano istotny wpływ alergii na poziomy 5-mC i 5-hmC u pacjentów z mastocytozą. Zaobserwowano tendencję do niższych poziomów 5-mC (istotność graniczna, $p = 0,057$) i istotnie wyższych poziomów 5-hmC ($p = 0,011$) u pacjentów z objawami alergii w porównaniu z pacjentami bez alergii. Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie metylacji lub demetylacji DNA w odniesieniu do mutacji KIT D816V; jednak porównanie było ograniczone przez małą liczebność grupy bez mutacji (dziewięć osób). Niemniej jednak odnotowano tendencję do wyższego poziomu metylacji DNA u nosicieli KIT D816V.

U pacjentów z ISM stwierdzono statystycznie istotną i dodatnią korelację między 5-mC a 5-hmC, ryc 2b). W grupie kontrolnej korelacja między 5-mC a 5-hmC była dodatnia, choć nieistotna, ryc 2a). Ponieważ grupa pacjentów nie była jednorodna pod względem fenotypu epigenetycznego, wykazując odrębną grupę osób z wyższymi wartościami 5-hmC i niższymi wartościami 5-mC, przeprowadzono dodatkową analizę, grupując pacjentów według obecności alergii (jako czynnika wpływającego na

poziom 5-hmC). Wykazano, że grupa o odrębnym fenotypie epigenetycznym (wysoki poziom 5-hmC w połączeniu z niskim poziomem 5-mC) obejmowała głównie pacjentów z objawami alergii (ryc 2c).

W porównaniu do chorych z alergią, chorzy bez objawów alergii (ryc 2d) charakteryzowali się silniejszą korelacją między poziomem 5-mC a 5-hmC. Wyraźnie widać, że podgrupa pacjentów z alergią i odrębnym fenotypem epigenetycznym osłabiła ogólną korelację między poziomem 5-mC a 5-hmC w całej grupie pacjentów.



Rycina 2. Korelacja między ogólnym poziomem metylacji DNA (5-mC w całkowitym DNA) a hydroksymetylacją (5-hmC w całkowitym DNA) w grupie kontrolnej (a), u pacjentów z ISM (b), u pacjentów z ISM i alergią (c) oraz u pacjentów z ISM bez alergii (d). W przypadku dwóch pacjentów dane dotyczące objawów alergicznych nie były dostępne.

Ponadto wykazano istotne różnice na poziomie 5-mC i LINE-1 w liniach komórkowych ludzkich mastocytów, co generalnie wskazuje na wyższą metylację DNA w komórkach z mutacjami KIT. Z drugiej strony, zaobserwowano, że hydroksymetylacja (5-hmC) nie była istotnie niższa w liniach z mutacjami KIT w porównaniu z linią dzikiego typu, ROSA KIT WT.

Zatem wykazano istotnie niższą hydroksymetylację DNA (5-hmC) u osób z indolentną mastocytozą w porównaniu do osób zdrowych. Ponadto wykryto obniżoną metylację (5-mC) choć bez istotności statystycznej, oraz jednocześnie podwyższona hydroksymetylację (5-hmC) w grupie chorych na mastocytozę z objawami alergii. Wobec tego można sądzić, że alergia jest związana z demetylacją DNA w mastocytozie, a zatem może być ważnym czynnikiem wpływającym na zmiany epigenetyczne w tej chorobie. Ponadto wyniki badań na liniach komórkowych sugerują, że mutacje KIT mogą być związane ze zmianami epigenetycznymi, prowadzącymi do zwiększonej metylacji DNA i możliwej zmniejszonej demetylacji.

Jak dotąd opisano różne mechanizmy regulacji epigenetycznej, w tym metylację DNA, modyfikacje potranslacyjne przez niekodujące RNA (ncRNA), modyfikacje histonów i pozycjonowanie nukleosomów, wpływające w konsekwencji na strukturę DNA i chromatyny⁴⁰. Wykazano korelację między zwiększonym ryzykiem nowotworu lub jego stadium zaawansowania a zmutowanymi enzymami modyfikującymi DNA: DNMT3A i TET2^{41,42}. Istotne jest, że odnotowano globalną hipo- i hipermetylację genów supresorowych w guzach i tkankach zdrowych pacjentów, a zmiany epigenetyczne mogą poprzedzać rozwój nowotworu lub występować już we wczesnym jego etapie^{15,43}. Mutacje w TET2 wykryto u chorych na mastocytozę układową (15%-29%) i korelowały z gorszą przeżywalnością^{44,45}. Istotny związek między niskim poziomem 5-hmC a przerzutami do węzłów chłonnych i zaawansowanym stadium w klasyfikacji TNM w różnych nowotworach, w tym w glejaku wielopostaciowym, czerniaku, raku piersi, prostaty, wątroby, żołądka i nerek, został ujawniony w metaanalizie przeprowadzonej przez Chen⁴⁶.

Wyniki obecnie badanej grupy chorych z ISM - istotne obniżenie 5-hmC w ISM w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej, są zgodne z opisanymi wcześniej przez Leoni⁴³, gdzie ogólny poziom 5-hmC był obniżony u wszystkich pacjentów z SM. W badaniu Leoni zauważalne jest również, że obniżenie poziomu 5-hmC korelowało z obecnością mutacji KIT D816V. Wyniki te mogą sugerować, że początkowa zmiana w epigenomie DNA koreluje z pojawieniem się mutacji KIT D816V, po której mogą następować dalsze zmiany genetyczne i epigenetyczne, które mogą odpowiadać za warianty choroby i jej progresję⁴³.

Jak dotąd wykazano, że profile ekspresji genów chorych z ISM różnią się w zależności od występowania alergii na jady owadów²⁶. W oparciu o analizę ontologiczną genów wykazano zróżnicowaną ekspresję w genach szlaków regulujących równowagę między proliferacją a różnicowaniem terminalnym, m.in. ścieżka sygnałowa MAPK, wapnia, Wnt, w nowotworach złośliwych, a także w adhezji ogniskowej i komórkowej czy w interakcjach macierzy pozakomórkowej. Może to sugerować, że wzorec ekspresji genów związany z różnicowaniem nowotworowym jest bardziej rozpowszechniony u pacjentów bez

alergii w wywiadzie²⁶. Wobec powyższego można założyć, że pacjenci bez alergii w wywiadzie mają bardziej nasilone zaburzenia czynności mastocytów. Wyniki te potwierdzają obserwacje z naszego badania, że pacjenci z ISM bez alergii mają obniżone poziomy markerów demetylacji, a zatem możemy założyć, że funkcja ich mastocytów jest u nich bardziej upośledzona.

W badaniu oceniono wpływ parametrów klinicznych u pacjentów z mastocytozą na profil metylacji DNA. Nie stwierdzono korelacji między wiekiem, płcią lub BMI a żadnym z analizowanych markerów metylacji lub demetylacji DNA u pacjentów z mastocytozą. Natomiast wykryto niższe, ale nieistotne statystycznie poziomy 5-mC, a jednocześnie znacznie wyższe poziomy 5-hmC u pacjentów z objawami alergicznymi w porównaniu z pacjentami bez alergii. Ponadto przeanalizowano korelację między markerem metylacji 5-mC a demetylacją 5-hmC w badanej grupie. W rezultacie potwierdzono dodatnią korelację w grupie kontrolnej (choć nieistotną statystycznie), a w grupie pacjentów również wystąpiła dodatnia i istotna statystycznie korelacja. Co ważne, grupa pacjentów nie była pod tym względem jednorodna, tzn. wyraźnie widoczna była grupa pacjentów z wysokimi wartościami 5-mC oraz grupa pacjentów z niskimi wartościami 5-mC. Dlatego przeprowadzono dodatkową analizę, grupując pacjentów pod względem występowania alergii, gdzie istotny związek utrzymywał się tylko u pacjentów bez alergii ($p=0,011$). Zjawisko to może wskazywać na brak równowagi między procesami metylacji i demetylacji DNA u pacjentów z mastocytozą i alergią oraz wskazywać na istnienie zmian epigenetycznych, które poprzedzają mastocytozę lub wynikają z niej.

W ciągu ostatnich kilku dekad odnotowano wzrost częstości występowania chorób alergicznych co można wyjaśnić narażeniem na negatywne - zwiększające ryzyko czynniki środowiskowe oraz zmniejszonym na pozytywne (chroniące lub zmniejszające ryzyko) czynniki środowiskowe. Czynniki środowiskowe i styl życia są uważane za kluczowe w wywoływaniu zapalenia Th2 oraz rozwoju atopii i alergii⁴⁷. Wiadomo, że palenie tytoniu, ekspozycja na alergeny, ozon, cząsteczki spalin diesla (DEP), SO₂, NO₂, zakażenia bakteryjne są znanymi czynnikami ryzyka rozwoju i utrzymywania się chorób alergicznych^{48,49}. Ponadto nawracające infekcje wirusowe dolnych dróg oddechowych, zwłaszcza we wczesnym okresie życia, mogą sprzyjać rozwojowi astmy atopowej i utrzymywać się do wieku dorosłego⁵⁰. Wpływ zanieczyszczenia powietrza na zwiększone ryzyko wystąpienia chorób alergicznych oraz jego skutki są przynajmniej częściowo epigenetycznie uwarunkowane. Wyższe średnie narażenie na wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne wiąże się z wyższym poziomem metylacji DNA w kilku miejscach CpG w locus FOXP3 komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC) i komórek Treg, co obserwuje się wyraźniej u dzieci z astmą niż u dzieci bez astmy⁵¹. Wyniki badania przeprowadzonego przez Sominen i wsp. sugerują możliwą rolę metylacji TET1 u pacjentów z astmą. Badanie wykazało utratę metylacji w jednym miejscu CpG w promotorze genu TET1 oraz zwiększony ogólny poziom 5-hmC, które były istotnie związane z astmą. Natomiast narażenie na zanieczyszczenie

powietrza związane z ruchem drogowym (TRAP) w okolicy zamieszkania uczestników badania znacznie zwiększyło metylację w tym samym miejscu⁵². Wiadomo, że hipermetylacja DNA w regionie 5' FOXP3 jest związana z większym narażeniem na spaliny silników wysokoprężnych, a ponadto uważa się, że dzieci z hipermetylacją DNA w FOXP3 są bardziej narażone na astmę, uporczywy świszczący oddech i wczesny przejściowy świszczący oddech⁵³. Inne badania wykazały korelację między narażeniem na drobne cząsteczki zanieczyszczeń powietrza a metylacją DNA w kilku miejscach CpG w genach syntazy tlenu azotu u dzieci⁵⁴ oraz związek między narażeniem na NO₂ w pomieszczeniach a ciężką astmą u dzieci z wysokim poziomem metylacji ADRB2⁵⁵.

Jednakże nadal niewiele wiadomo na temat czynników epigenetycznych prowadzących do klinicznego początku mastocytozy i alergii, w szczególności na jady owadów. Zatem kolejnym etapem badania była analiza profili metylacji całego genomu przy pomocy mikromacierzy DNA w celu zidentyfikowania regionów o zróżnicowanej metylacji (DMR) u pacjentów z mastocytozą w porównaniu z osobami zdrowymi, a także genów zlokalizowanych w tych regionach regulacyjnych, co opublikowano w pracy nr 2 i opisano poniżej.

Badanie mikromacierzy wykonane zostało u 80 chorych na mastocytozę układową oraz u 40 osób z grupy kontrolnej. W badaniu zastosowano 712 665 sond z początkowych 865 918 oraz 103 osoby z początkowych 117. Analiza zróżnicowania w poziomie metylacji w tym etapie badania pozwoliła zidentyfikować regiony o zróżnicowanej metylacji (DMR) oraz ustalić regiony współmetylowane (CMR), różniące się poziomem metylacji między porównywanymi grupami. Wykryto łącznie 85 CMR, różniących się pod względem poziomów metylacji między grupami (regiony istotne statystycznie, próg odcięcia delta beta > 0.05). Spośród tych 85 regionów CMR, 38 zidentyfikowano jako hipometylowane, a 47 jako hipermetylowane. Wśród 85 regionów CMR zidentyfikowano 31 genów zlokalizowanych w regionach regulacyjnych: APOB, RASGEF1B, KRTCAP3, FAM123C, ANKMY1, GRM2, MFSD11, SLC2A14, PLSCR2, CCER2, RAB22A, SLC6A16, SYCP2L, NKAIN3, ANO1, SGPP2, TM1, SGPP2 EDARADD, CMC1, CCDC102B, SCG2, NEK6, TMEM246-AS1, TMEM220, PAQR7, ADGRG6, CDH7, SGMS1 i SH3PXD2A. Zidentyfikowane przez nas geny związane z chorobą są głównie zaangażowane w tworzenie składników komórkowych, przekazywanie sygnałów, procesy rozwoju organizmów wielokomórkowych oraz pozytywną regulację ekspresji genów. Stwierdziliśmy również znaczące zmiany (hiper- i hipometylację) w regionach promotorowych, 4 regiony są hipometylowane (geny APOB, RASGEF1B, KRTCAP3 i FAM123C), a 6 jest hipermetylowanych (geny SH3PXD2A, SGMS, CDH, ADGRG6, PAQR7 i LOC100507195).

Ciekawym odkryciem było zidentyfikowanie trzech onkogenów o zróżnicowanym stopniu metylacji u pacjentów z mastocytozą, tj. FOXQ1, TWIST1 i ERG. Nieprawidłowa ekspresja FOXQ1 i TWIST1 została

wcześniej odnotowana w przypadku przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) i przyczynia się do przerzutów w kilku nowotworach⁵⁶. FOXQ1 zwiększa zdolność do przerzutów i oporność na leki poprzez wyzwalanie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) w komórkach nowotworowych⁵⁷. Ekspresja FOXQ1 pozwala przewidzieć gorsze rokowania w przypadku sześciu różnych nowotworów litych i stanowi potencjalny kierunek przyszłych badań jako cel terapeutyczny w przyszłości⁵⁸. Podobnie Twist1 ma wyraźny wpływ na progresję nowotworu poprzez wzmacnianie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT), stymulowanie proliferacji i inwazyjności komórek nowotworowych oraz sprzyjanie przerzutom i oporności na chemioterapię⁵⁹. Wykazano, że nadekspresja ERG występuje w złośliwych komórkach nabłonkowych raka prostaty oraz że bierze udział w procesach proliferacji, angiogenezy i tworzenia naczyń krwionośnych. Nadekspresję ERG zaobserwowano również w innych nowotworach, takich jak białaczki oraz mięsaki Ewinga⁶⁰; została także wykazana u około połowy wszystkich pacjentów z rakiem prostaty. Najbardziej prawdopodobny mechanizm, który został zaproponowany dla roli ERG w nowotworach, jest związany z tworzeniem się fuzji genów TMPRSS2 i ERG⁵⁹. Zatem wyniki te sugerują, że zmiany epigenetyczne w onkogenach mogą prowadzić do powstawania nieprawidłowych komórek tucznych a zatem mieć wpływ na patogenezę mastocytozy.

Ponadto analiza ekspresji genów potwierdziła zwiększoną ekspresję genów kodujących integralne składniki błony komórkowej, tj. GRM2 i KRTCAP3, które wcześniej zostały zidentyfikowane jako potencjalnie istotne w patogenezie choroby za pomocą mikromacierzy epigenetycznych. Co istotne, w obrębie tych genów zidentyfikowano regiony regulacyjne, w tym hipometylowany region promotora KRTCAP3. Interesujące jest, że oba geny wydają się również odgrywać rolę w rozwoju chorób nowotworowych, ale jak dotąd nie wykazano ich związku z mastocytozą.

GRM2 (receptor glutaminianowy, metabotropowy 2) należy do grupy 2 metabotropowych receptorów glutaminianowych (mGluR), należących do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G, które uczestniczą w modulacji transmisji synaptycznej i pobudliwości neuronów w całym ośrodkowym układzie nerwowym⁶¹. Powszechna ekspresja mGluR sprawia, że receptory te są szczególnie atrakcyjnymi celami dla leków, a ostatnie badania potwierdzają terapeutyczną przydatność ligandów mGluR w zaburzeniach neurologicznych i psychiatrycznych, takich jak choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, lęk, depresja i schizofrenia⁶¹. Pacjenci z mastocytozą charakteryzują się istotnie obniżoną jakością życia oraz zwiększonym nasileniem lęku, depresji i innych objawów, takich jak bóle głowy i zmęczenie^{62,63}. W związku z tym zwiększona ekspresja genu GRM2 może stanowić przedmiot dalszych badań pod kątem jej potencjalnego związku z objawami neurologicznymi i psychiatrycznymi obserwowanymi w przebiegu mastocytozy.

Ekspresja KRTCAP3 (białko związane z keratynocytami 3) jest istotnie wyższa w hodowanych pierwotnych ludzkich keratynocytach niż w fibroblastach skóry właściwej. Analizy bioinformatyczne sugerują, że białko to jest integralnym białkiem błonowym, a gen ten został wskazany jako potencjalny gen podatności na otyłość w badaniach asocjacyjnych całego genomu (GWAS) u ludzi i szczurów⁶⁴. Badania nad KRTCAP3 u szczurów wykazały jego rolę w spożyciu pokarmu i wrażliwości na insulinę, z istotnymi różnicami między płciami. Zmniejszona ekspresja KRTCAP3 prowadziła do przyrostu masy ciała u samic szczurów na diecie wysokotłuszczowej, podczas gdy u samców szczurów prowadziła do wzrostu insulinooporności bez przyrostu masy ciała⁶⁴. W kontekście chorób nowotworowych wykazano hipermetylację KRTCAP3 w próbkach czerniaka oraz w liniach komórkowych czerniaka w porównaniu z prawidłowymi melanocytami, przy braku istotnych różnic w poziomie ekspresji mRNA^{58,65}. Zmiany w metylomie stwierdzono również w przypadku osteosarkoma⁶⁶ – wykazano, że zaburzenia regulacji wybranych genów podlegających metylacji były skorelowane z czasem wolnym od przerzutów u pacjentów z osteosarkoma; należały do nich ANKMY1 i KRTCAP3, które zidentyfikowano również w naszym projekcie. Co ciekawe, wykazano, że wyższa ekspresja KRTCAP3 była związana z dłuższym czasem przeżycia bez przerzutów u pacjentów z OS⁶⁶. Zatem obserwowana w mastocytozie hipometylacja oraz zwiększona ekspresja KRTCAP3 mogą potencjalnie wiązać się z korzystniejszym rokowaniem, jednak zależność ta wymaga dalszej weryfikacji, w szczególności w kontekście progresji do zaawansowanych postaci choroby.

W obecnym etapie badania nie zidentyfikowano genów o zróżnicowanej metylacji w kontekście alergii. Dalsze analizy, przeprowadzone na wyselekcjonowanym zestawie genów wcześniej opisywanych w kontekście anafilaksji²⁶, ujawniły jeden potencjalnie istotny wynik, dotyczący genu BAIAP2, opisywanego jako element szlaku regulacji cytoszkieletu aktynowego. Do tej pory nie opublikowano danych potwierdzających istnienie takiego związku.

Podsumowując

Na obecnym etapie badanie wykazało, że zmniejszona demetylacja DNA w krwi pacjentów z ISM potwierdza istotną rolę zmian epigenetycznych w patogenezie mastocytozy. Zaobserwowano również potencjalny wpływ alergii jako ważnego czynnika modyfikującego epigenom oraz możliwy związek między mutacjami a statusem metylacji u chorych na mastocytozę.

Ponadto uzyskane wyniki wskazują na istotne różnice w poziomach metylacji w wybranych CMR genów zaangażowanych w określone procesy molekularne. Analiza ekspresji genów ujawniła zwiększoną ekspresję genów należących do integralnego składnika błony komórkowej, w tym GRM2 i KRTCAP3, u osób chorych na mastocytozę.

Wnioski

W obecnym etapie badania wykazano, że u pacjentów z mastocytozą występują zmiany w profilu metylacji DNA, co potwierdza udział mechanizmów epigenetycznych w patogenezie choroby. Nie wykazano jednoznacznej zależności pomiędzy statusem metylacji a obrazem klinicznym, co wskazuje na konieczność dalszych badań, szczególnie z uwzględnieniem podtypów choroby. Zmiany te mogą stanowić potencjalne markery prognostyczne. Ponadto konieczne są dalsze analizy dotyczące roli onkogenów FOXQ1, TWIST1 i ERG jako potencjalnych mutacji drugiego rzutu w mastocytozie, jak również identyfikacji nowych celów terapeutycznych.

4.5.3 Cel 3 Badanie sekwencji wykazujących zmiany epigenetyczne oraz badanie ekspresji genów wykazujących zmiany epigenetyczne i ich wpływ na rokowanie u chorych na mastocytozę

Dotychczasowe wyniki potwierdzają istotną rolę zmian epigenetycznych w patogenezie i progresji mastocytozy, ze szczególnym uwzględnieniem jej bardziej zaawansowanych postaci. W związku z tym, nawiązując do wcześniejszych ustaleń, w kolejnym etapie badania przeprowadzono analizę sekwencji DNA wykazujących zmiany epigenetyczne z zastosowaniem ukierunkowanego sekwencjonowania nowej generacji (NGS) przedstawioną w pracy zatytułowanej „Next Generation Sequencing of Genes With Epigenetic Alterations in Mastocytosis” (Clin Transl Allergy, 2025). Równocześnie oceniono ekspresję genów, w których stwierdzono zmiany epigenetyczne, wykorzystując ilościową reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (real-time PCR, qPCR). Niniejsze badanie koncentruje się na wybranych genach kandydujących. Wyniki tego etapu opisano poniżej.

Analiza NGS 4272 wariantów genetycznych w wybranych wcześniej genach kandydujących ujawniła wykrywalne zmiany genetyczne we wszystkich chromosomach w komórkach krwi obwodowej zarówno pacjentów, jak i osób z grupy kontrolnej. Warto zauważyć, że znaczne różnice między grupą pacjentów a grupą kontrolną zaobserwowano w genach DNMT3A, SETD2, TET2 i BRD4, zlokalizowanych odpowiednio na chromosomach 2, 3, 4 i 19. Dla wyjaśnienia, DNMT3A jest metylotransferazą DNA, która reguluje ekspresję genów poprzez metylację DNA⁶⁷. Pomaga ona hamować reakcje zapalne komórek tucznych, a mutacje mogą prowadzić do nieprawidłowej aktywacji i proliferacji komórek tucznych. Zmiany w tym genie mogą przyczyniać się do nieprawidłowego zachowania komórek tucznych i potencjalnie prowadzić do postępu choroby⁶⁸. Wykryto zmianę genetyczną w genie DNMT3A zlokalizowanym na chromosomie 2 w pozycji 25246677, zgodnie z genomem referencyjnym GRCh38.p14. Zidentyfikowana delecja czterech nukleotydów (ATTC) prowadziła do mutacji typu przesunięcia ramki odczytu (frameshift). Tego rodzaju mutacje zazwyczaj skutkują powstaniem przedwczesnego kodonu stop, co prowadzi do syntezy skróconego białka, najprawdopodobniej

pozbawionego prawidłowej funkcji biologicznej. Mutacja powodująca utratę funkcji genu DNMT3A może zaburzać fizjologiczne mechanizmy regulujące aktywację oraz proliferację komórek tłuszczowych⁶⁸. Ponadto przewiduje się, że różnorodne warianty patogenne genu DNMT3A, obejmujące najczęściej występującą mutację wpływającą na aminokwas R882, jak również mutacje typu frameshift, nonsensowne oraz mutacje w obrębie miejsc splicingowych, istotnie wpływają na proces translacji u pacjentów z mastocytozą⁶⁹.

Gen supresorowy nowotworów SETD2 koduje metylotransferazę histonową, która uczestniczy zarówno w procesach naprawy uszkodzeń DNA, jak i w regulacji translacji. Białko to wpływa na ekspresję genów poprzez modulację wzorców metylacji DNA⁷⁰. Zaburzenia genetyczne w genie SETD2 mogą prowadzić do nieprawidłowych zmian epigenetycznych sprzyjających proliferacji oraz przeżywalności komórek, potencjalnie przyczyniając się do rozwoju mastocytozy⁷¹. Utrata funkcji SETD2 została opisana zarówno w nowotworach litych, jak i hematologicznych. W przypadku SM inaktywacja SETD2 zachodzi głównie na poziomie potranslacyjnym, a nie genomowym, i jest związana z hiperubikwitynacją białka oraz jego degradacją proteasomalną. Mechanizm ten ma charakter potencjalnie odwracalny, co czyni SETD2 obiecującym celem terapeutycznym, zwłaszcza w leczeniu pacjentów z zaawansowanymi postaciami mastocytozy⁷⁰. W chromosomie 3 w pozycji 47120946 (zgodnie z genomem referencyjnym GRCh38.p14) znaleźliśmy zmianę genetyczną, która okazuje się być mutacją silent. Mutacje tego typu nie zmieniają sekwencji aminokwasowej białek, ale mogą wpływać na funkcjonowanie genów poprzez oddziaływanie na wydajność translacji. Sugeruje to, że chociaż mutacje silent nie zmieniają bezpośrednio sekwencji białek, mogą wpływać na sposób ekspresji lub wyciszania genów w odpowiedzi na sygnały środowiskowe.

Gen TET2 jest genem supresorowym nowotworów zlokalizowanym na chromosomie 4q24 i odgrywa istotną rolę w regulacji hematopoezy poprzez udział w demetylacji DNA⁷². Zaburzenia funkcji TET2 mogą prowadzić do deregulacji aktywności komórek tłuszczowych i przyczyniać się do rozwoju mastocytozy układowej⁴⁵. W analizowanej grupie badawczej zidentyfikowano dwie mutacje w genie TET2. Pierwsza, zlokalizowana w pozycji 105272657 (rs1355157024), powoduje substytucję aminokwasu waliny na metioninę lub leucynę. Druga mutacja, wykryta w pozycji 105235894 chromosomu 4, jest mutacją typu missense prowadzącą do zmiany waliny na leucynę. Mutacje missense mogą wpływać na strukturę przestrzenną białka, a opisana druga mutacja nie była dotychczas raportowana w literaturze.

BRD4, jest białkiem zawierającym domenę bromową 4, zaangażowanym w regulację transkrypcji oraz przebudowę chromatyny. Odgrywa istotną rolę w wielu procesach komórkowych, w tym w odpowiedziach zapalnych i immunologicznych. BRD4, oddziałuje z acetylowanymi histonami i pełni funkcję tzw. „czytnika epigenetycznego”⁷³. Choć bezpośredni związek mutacji BRD4 z mastocytozą nie

został dotychczas jednoznacznie wykazany, jego udział w regulacji transkrypcji może wpływać na zachowanie komórek tucznych i pośrednio przyczyniać się do patogenezy choroby. W związku z obserwowaną wysoką ekspresją BRD4 w nowotworowych komórkach tucznych w ASM i MCL, białko to jest obecnie uznawane za obiecujący cel terapeutyczny w zaawansowanych postaciach choroby⁷³.

Podsumowując

Na podstawie analizy NGS krwi obwodowej wykryto znaczne różnice między grupą pacjentów a grupą kontrolną zaobserwowane w genach DNMT3A, SETD2, TET2 i BRD4, zlokalizowanych odpowiednio na chromosomach 2, 3, 4 i 19. Obecne wyniki potwierdzają wcześniejsze dowody na udział epigenetyczny oraz wskazują TET2, DNMT3A, SETD2 i BRD4 jako obiecujących kandydatów do dalszych badań.

Wnioski

Obecnie wykryte mutacje podkreślają złożoną interakcję między zmianami genetycznymi a modyfikacjami epigenetycznymi, które mogą wpływać na patogenezę mastocytozy. Uzyskane wyniki potwierdzają udział mechanizmów epigenetycznych oraz wskazują TET2, DNMT3A, SETD2 i BRD4 jako potencjalnie istotne. Zaobserwowane zmiany mogą mieć znaczenie dla rokowania chorych, ale ta zależność wymaga weryfikacji w większych grupach pacjentów. Konieczne są dalsze analizy uwzględniające profil metylacji oraz ekspresję genów w celu określenia ich wartości diagnostycznej, prognostycznej i terapeutycznej.

4.6 Podsumowanie

U chorych na mastocytozę reakcje nadwrażliwości, w tym anafilaktyczne, występują z wyższą częstością (38%-84%) niż w populacji ogólnej (0,05-3%). Najważniejszymi czynnikami wyzwalającymi są jady owadów błonkoskrzydłych w postaciach niezaawansowanych oraz leki w zaawansowanych postaciach choroby. Zidentyfikowano czynniki predykcyjne reakcji nadwrażliwości: tryptaza poniżej 90 ng/ml, diagnoza ISM i BMM, odsetek mastocytów w szpiku kostnym poniżej 15%. W toku wieloletniej obserwacji klinicznej stwierdza się pojawianie nowych reakcji nadwrażliwości u 4,8% chorych. Z tego względu istotnym elementem postępowania u chorych na mastocytozę, szczególnie z niskim ryzykiem progresji, jest ocena czynników ryzyka anafilaksji, występowania objawów uwolnienia mediatorów komórek tucznych oraz edukacja dotycząca czynników potencjalnie wywołujących objawy nadwrażliwości oraz postępowania w anafilaksji.

Możliwą przyczyną wysokiej częstości występowania alergii na jady owadów błonkoskrzydłych u chorych na mastocytozę może być udział zaburzeń mechanizmów epigenetycznych. Wykazano, że u pacjentów z mastocytozą obecne są zmiany w profilu metylacji DNA, które mogą stanowić przedmiot

dalszych analiz w kontekście mechanizmów patogenetycznych oraz potencjalnych markerów prognostycznych. Niezbędne są dalsze badania, w szczególności uwzględniające podtypy choroby, w celu identyfikacji zależności pomiędzy statusem metylacji a obrazem klinicznym. Ponadto konieczne są dalsze analizy dotyczące roli onkogenów FOXQ1, TWIST1 i ERG jako potencjalnych mutacji drugiego rzutu w mastocytozie, jak również identyfikacji nowych celów terapeutycznych.

Wykryte mutacje podkreślają złożoną interakcję między zmianami genetycznymi a modyfikacjami epigenetycznymi, które mogą wpływać na patogenezę mastocytozy oraz regulację ekspresji genów. Nie wykazano jednoznacznej zależności pomiędzy analizowanymi zmianami a rokowaniem pacjentów. Uzyskane wyniki wskazują geny TET2, DNMT3A, SETD2 i BRD4 jako potencjalnie istotne elementy tych procesów i stanowią obiecujące obiekty dalszych badań.

Przedstawione dane wymagają weryfikacji w większych grupach pacjentów w celu lepszego określenia ich znaczenia diagnostycznego, prognostycznego i terapeutycznego.

Wpływ na funkcjonowanie społeczeństwa i gospodarki

Wyniki badania wskazują na istotną rolę anafilaksji w obrazie klinicznym mastocytozy oraz wskazują czynniki ryzyka jej wystąpienia. Ponadto istotną rolę mają zmiany epigenetyczne mające wpływ na patogenezę choroby, w tym różnice w poziomach metylacji DNA oraz zmieniona ekspresja wybranych genów co może mieć istotne znaczenie dla funkcjonowania społeczeństwa i gospodarki. Dzięki poznaniu i zrozumieniu mechanizmów epigenetycznych pojawia się możliwość opracowania precyzyjnych metod diagnostycznych oraz identyfikacji nowych celów terapeutycznych co może przyczynić się do wcześniejszego wykrywania choroby, skuteczniejszego leczenia oraz ograniczenia jej powikłań. Ponadto, wskazanie możliwej roli czynników środowiskowych, takich jak alergie, jako modyfikatorów epigenetycznych, podkreśla znaczenie działań profilaktycznych i zdrowia publicznego, co może dodatkowo wpłynąć na zmniejszenie występowania choroby w populacji.

Z punktu widzenia społecznego oznacza to poprawę jakości życia pacjentów, zmniejszenie liczby hospitalizacji oraz ograniczenie wpływu choroby na zdolność do pracy. Jednocześnie, z perspektywy gospodarczej, potencjalne wdrożenie nowych strategii terapeutycznych może prowadzić do redukcji kosztów opieki zdrowotnej oraz strat wynikających z absencji chorobowej i obniżonej produktywności.

5 Opis pozostałego dorobku naukowego i osiągnięć naukowych.

Inne osiągnięcia naukowe

5.1 Prowadzenie rejestru mastocytozy w ramach Europejskiej Sieci mastocytozy - ECNM - The European Competence Network on Mastocytosis

Istotnym obszarem mojej działalności naukowej jest rozwój badań nad mastocytozą, w szczególności nad zaburzeniami komórek tucznych, obejmujący zarówno aspekty diagnostyczne, jak i analizę mechanizmów patofizjologicznych. W ramach prowadzonych przeze mnie projektów współtworzyłam i nadal rozwijam rejestr pacjentów tej rzadkiej choroby, który stanowi podstawę do prowadzenia analiz klinicznych oraz molekularnych w tej grupie chorych. Moja aktywność koncentruje się również na wdrażaniu i doskonaleniu nowoczesnych metod diagnostycznych, w szczególności badań genetycznych opartych na technologii sekwencjonowania nowej generacji (NGS), co umożliwiło bardziej precyzyjną identyfikację podłoża molekularnego analizowanych zaburzeń. Prowadzone przeze mnie badania obejmują ponadto identyfikację potencjalnych przyczyn dysfunkcji komórek tucznych oraz analizę mechanizmów odpowiedzialnych za występowanie określonych objawów klinicznych, co przyczyniło się do poszerzenia wiedzy na temat patogenezы i kliniki mastocytozy oraz stworzyło podstawy do rozwoju nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych. Wyniki tych badań zostały opublikowane w licznych pracach naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

Efektom tej współpracy jest 20 publikacji o łącznym IF=178 punktów, które zostały wymienione niżej w punkcie o współpracy.

5.2 Identyfikacja czynników wpływających na przebieg astmy.

5.2.1 Identyfikacja czynników pogarszających przebieg astmy alergicznej.

Astma to przewlekła choroba zapalna dolnych dróg oddechowych. Nowoczesne terapie lekami wziewnymi pozwoliły znacząco poprawić kontrolę choroby. Jednak około 3–10% pacjentów cierpi na ciężką astmę ciężką oporną na leczenie, w przypadku której dostępnych jest niewiele dodatkowych opcji terapeutycznych⁷⁴. Są to opracowane niedawno leki biologiczne: omalizumab, mepolizumab, benralizumab, reslizumab, dupilumab, tezepelumab. Leki biologiczne należy rozważyć u każdego pacjenta z ciężką astmą niekontrolowaną, a mianowicie u tych, którzy nie osiągają odpowiedniej kontroli choroby pomimo stosowania wysokich dawek wziewnych glikokortykosteroidów i długo działających beta-agonistów. Kryteria kwalifikacji do terapii poszczególnymi lekami są ściśle określone a kluczowe jest określenie fenotypu astmy^{75,76}. W praktyce klinicznej zwykle diagnostyka obejmuje badania morfologii krwi obwodowej w celu określenia eozynofilii, wykrywania specyficznych IgE w surowicy metodą ELISA lub punktowymi testami skórnymi. Czułość wykrywania sIgE w surowicy można zwiększyć dzięki zastosowaniu mikromacierzy zawierających ponad 250 ekstraktów alergenowych i molekuł, co umożliwia wykrywanie nowych uczuleń^{75,77}. Do najczęstszych alergenów

powietrzopochodnych o znaczeniu klinicznym należą roztocza kurzu domowego, antygeny karaluchów, pleśnie, zwierzęta domowe oraz pyłki roślin. Wśród alergenów pleśni znaczenie mają *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus* oraz *Cladosporium herbarum*⁷⁸. Grzyby z rodzaju *Alternaria* i *Cladosporium* dominują w środowisku zewnętrznym, są alergenami całorocznymi ale szczyt narażenia na nie przypada na okres od wiosny do jesieni. *Aspergillus* to typowy gatunek pleśni występujący w pomieszczeniach, który rozwija się w warunkach wysokiej wilgotności oraz braku dostępu do światła i wentylacji⁷⁸. Nadwrażliwość na grzyby wiąże się z ciężkimi przebiegami astmy. Jednak kliniczne implikacje uczulenia na *Aspergillus fumigatus* w ciężkiej astmie są nadal niejasne i są obiektem zainteresowania badaczy. Znaczny odsetek pacjentów z ciężką, oporną na leczenie astmą nadal nie może korzystać z potencjalnie ratującej życie terapii biologicznej z powodu braku potwierdzenia alergii wziewnej lub wysokiego poziomu eozynofilii. Dotyczy to nawet 30% do 50% pacjentów z astmą. Wykrycie nowych uczuleń może pomóc w wdrożeniu leczenia anty-IgE a także pomóc w osiągnięciu lepszej kontroli choroby poprzez eliminowanie ekspozycji na alergeny co pomaga w zmniejszeniu liczby ataków astmy⁷⁹.

Celem badania była ocena znaczenia klinicznego testu ALEX w kwalifikacji pacjentów z ciężką astmą do leczenia przeciwciałami anty-IgE. Drugim celem było przeanalizowanie korelacji między uczuleniem molekularnym a nasileniem astmy u pacjentów z ciężką astmą.

Zatem przeprowadzono ocenę czynników pogarszających przebieg astmy z wykorzystaniem badania mikromacierzy alergenowych sIgE (obejmującego 285 ekstraktów i komponentów) u 42 pacjentów obciążonych astmą ciężką przeprowadzonego w latach 2019-2022. Wykazano, że najczęstszymi uczuleniami wziewnymi w tej grupie były alergeny kota i pyłków traw. Dzięki ocenie z użyciem mikromacierzy wykazano nowe uczulenia u 21% potencjalnie umożliwiając leczenie biologiczne anty-IgE. Wyniki badania wykazały cięższy przebieg astmy u pacjentów uczulonych na alergen psa (Can f 1) i *Aspergillus* (Asp f 6). Identyfikacja nowych uczuleń stworzyła możliwość kwalifikacji części pacjentów do leczenia biologicznego anty-IgE oraz zindywidualizować terapię u konkretnych pacjentów. Projekt opisano w publikacji:

1. Romantowski J, Górka A, Moszkowska G, Kulczycka J, Minkowska K, Rolewicz A, Nittner-Marszałska M, Niedożytko M. Atopy and Multisensitizations in Specific IgE Microarrays and Their Impact on Severe Asthma. *Life* (Basel). 2022 Sep 29;12(10):1520. doi: 10.3390/life12101520. PMID: 36294955; PMCID: PMC9604971.

5.2.2 Wpływ mikroflory jelitowej na przebieg astmy.

W ostatnim czasie coraz więcej badań mikrobiologicznych i epidemiologicznych potwierdza hipotezę, że rozwój astmy (i chorób alergicznych) może być, przynajmniej częściowo, powiązany z mikroflorą jelitową⁸⁰. Herbst i in. przedstawili dowody na to, że komensalne bakterie jelitowe odgrywają ważną rolę ochronną w rozwoju alergicznej reakcji zapalnej w płucach poprzez regulację odpowiedzi zależnej od limfocytów Th2⁸¹. Przełomowym badaniem dotyczącym mikroflory dróg oddechowych okazało się badanie Hilty'ego, które dostarczyło pierwszych dowodów na obecność mikroorganizmów komensalnych w drzewie oskrzelowym, podważając dotychczasowy pogląd o jego sterylności. Przy wykorzystaniu technik genetycznych niezależnych od hodowli do identyfikacji określonych grup mikroorganizmów wykazano, że mikrobiota dróg oddechowych chorych na astmę jest istotnie zmieniona w porównaniu do mikrobioty osób zdrowych⁸². Następnie pojawiły się podobne obserwacje dotyczące mikrobiomu jelitowego, który u osób zdrowych składa się głównie z bakterii komensalnych, takich jak *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* i *Eubacterium*, przy niewielkim udziale gatunków oportunistycznych i chorobotwórczych (odpowiednio *Bacteroides*, *Enterobacteriaceae*, a także *Clostridium*, *Staphylococcus* i *Pseudomonas*)⁸³. Większość badań skupiała się na wpływie zmian w mikrobiomie jelitowym na zwiększone ryzyko astmy u dzieci. Fujimura i wsp. wykazali, że mniejsza liczebność bakterii z rodzajów *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* i *Akkermansia* wiązała się z wyższym ryzykiem wystąpienia astmy⁸⁴. W innym badaniu potwierdzono związek między zmniejszoną liczebnością bakterii z rodzajów *Lachnospira*, *Faecalibacterium* i *Rothia* a podwyższonym ryzykiem astmy⁸⁵. Dotychczas niewiele badań dotyczyło mikrobiomu jelitowego u dorosłych chorych na astmę. Badania pilotażowe wskazują jednak, że jego skład różni się w zależności od fenotypu choroby, co może wpływać na odpowiedź na leczenie⁸⁶. Ponieważ mikrobiota jelitowa podlega dynamicznym zmianom pod wpływem diety i stosowanych leków, czynniki te mogą istotnie kształtować jej skład i pośrednio wpływać na kontrolę astmy. W niniejszym badaniu analizowaliśmy wpływ diety i leków na skład gatunkowy flory bakteryjnej w grupie pacjentów, a także wynikający z tego wpływ zmienionej flory na skuteczność leczenia.

Przeprowadzono ocenę wpływu mikroorganizmów jelitowych na rozwój i przebieg astmy na podstawie analizy nawyków żywieniowych, składu mikroflory jelitowej oraz BMI pacjentów z astmą w porównaniu z grupą kontrolną, a także analizy wyników leczenia astmy w zależności od składu mikroflory jelitowej u 49 chorych z astmą oraz 18 osób zdrowych. Pacjenci z astmą wykazywali większe nasilenie objawów klinicznych we wszystkich badanych układach narządów. Najczęstszą przyczyną nieprawidłowych wyników badań kału była bakteria *E. coli*, z mianem $<10^6$. Nie stwierdzono istotnych różnic w nawykach żywieniowych pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Wykazano natomiast, że pacjenci z astmą charakteryzowali się mniejszym bogactwem i różnorodnością składu mikroflory jelitowej.

Zaobserwowano istotnie niższą różnorodność alfa i beta w tej grupie. Ponadto stwierdzono mniejszą liczebność bakterii *Faecalibacterium* w porównaniu z zdrowymi ochotnikami. W astmie niekontrolowanej wykazano statystycznie istotne zmniejszenie liczebności *Oscilospirales*, *Anaerovoracaceae* w porównaniu z astmą kontrolowaną i częściowo kontrolowaną. Dodatkowo u pacjentów przyjmujących glikokortykoidy (doustne i wziewne) zaobserwowano wzbogacenie mikroflory jelitowej w *Anaerovoracaceae* i *Christensenellaceae* oraz zmniejszenie liczebności *Faecalibacterium*.

Wnioski: Pomimo tego, że nawyki żywieniowe i wskaźnik BMI w obu badanych grupach były podobne, pacjenci z astmą wykazywali mniejsze bogactwo i różnorodność mikroflory jelitowej według wskaźnika Simpsona w porównaniu z grupą kontrolną stosującą podobną dietę. Zauważyliśmy różnice w składzie mikrobiomu, które mogą być związane z ciężkością choroby i stosowaniem leków, i sugerują potencjalny wpływ taksonów mikrobiologicznych na ciężkość astmy u pacjentów. Obserwacje te dostarczają ważnych dowodów na istotne zmiany w mikrobiomie jelitowym u pacjentów z astmą i wymagają potwierdzenia w przyszłych badaniach z większą populacją pacjentów. Niezwykle cenna może być również analiza wpływu zmian w mikrobiomie jelitowym na zaburzenia szlaków metabolicznych u pacjentów z astmą.

1. Harcęko-Zielińska E, Górka A, Romantowski J, Małgorzewicz S, Gruchała-Niedoszytko M, Wypych TP, Gutowska-Owsiak D, Abouali R, Chełmińska M, Niedoszytko M. Changes in the Gut Microbiome is Influenced by the Level of Control and Treatment in Asthma. *J Asthma Allergy*. 2025 Dec 22;18:1857-1867. doi: 10.2147/JAA.S539885. PMID: 41458324; PMCID: PMC12742298.

6 Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

6.2.1 ECNM – The European Competence Network Mastocytosis

Współpraca międzynarodowa stanowi istotny element mojej działalności naukowej, realizowanej w ramach European Competence Network on Mastocytosis - ECNM, która jest inicjatywą powstałą w 2002 roku opartą na współpracy międzynarodowej ośrodków klinicznych w celu poprawy diagnostyki, prognozowania i leczenia chorych z nowotworami komórek tucznych. Dzięki niej zapewniamy pacjentom dostęp do najnowszych metod diagnostyki, terapii oraz rozpowszechniamy dostępne nowe informacje na temat choroby oraz postępów w diagnostyce, prognozowaniu i leczeniu. Klinika Alergologii pełni funkcję ośrodka doskonałości w zakresie mastocytozy, oferując kompleksowe usługi

diagnostyczne, opiekę oraz leczenie pacjentów. Funkcjonowanie naszego ośrodka opiera się na współpracy ze specjalistami z innych klinik GUMed: Kliniki Dermatologii, Wenerologii i Alergologii, Kliniki Hematologii, a także Zakładu Patomorfologii Klinicznej, Laboratorium Hematologii oraz Laboratorium Genetyki Klinicznej UCK. W 2012 roku członkowie ECNM stworzyli rejestr chorych - ECNM REGISTRY, który stanowi kompleksową bazę danych obejmującą informacje kliniczne, laboratoryjne oraz dotyczące stosowanych metod leczenia. Rejestr umożliwia systematyczną analizę przebiegu choroby, a także ocenę skuteczności stosowanych terapii. Wraz z prof. Markiem Niedoszytko wdrożyliśmy ten rejestr mastocytozy układowej i skórnej w ramach ECNM w Klinice Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Od momentu jego utworzenia nadal go prowadzę i aktualizuję. Sprawuję kompleksową opiekę nad pacjentami obciążonymi mastocytozą i zespołem aktywacji mastocytów z całej Polski jako center of excellence — zarówno w warunkach szpitalnych, jak i ambulatoryjnych — zgodnie ze wskazaniami. W ramach ECNM prowadzimy rejestr chorych, w którym obecnie są dane 695 chorych; oceniamy i wprowadzamy metody diagnostyczne (ze szczególnym uwzględnieniem badań genetycznych NGS), rozwijamy nowe sposoby leczenia, szukamy potencjalnych przyczyn zaburzeń komórek tłuszczowych i konkretnych objawów. Działania te są prowadzone w ścisłej współpracy międzynarodowej z licznymi naukowcami z całej Europy oraz Stanów Zjednoczonych, co pozwala na wymianę doświadczeń i integrację danych klinicznych i molekularnych w skali globalnej. Współpraca opiera się na ścisłych kontaktach naukowych i klinicznych z uznanymi ekspertami z mastocytozy z 27 ośrodków akademickich i klinicznych, w szczególności z prof. Peterem Valent oraz prof. Wolfgangiem Sperr z Kliniki Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Wiedniu, dr Hanneke Oude Elberink z Kliniki Alergologii Uniwersytetu w Groningen, dr Vito Sabato z Kliniki Immunologii, Alergologii i Reumatologii Uniwersyteckiego Szpitala w Antwerpii, dr Frankiem Siebenhaar z Instytutu Alergologii Charite - Uniwersytetu Medycznego w Berlinie, dr Sigurdem Broesby-Olsen z Kliniki Dermatologii i Alergologii Uniwersyteckiego Szpitala w Odense, prof. Massimo Triggiani z Kliniki Alergologii i Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Salerno oraz prof. Karin Hartmann z Kliniki Dermatologii z Uniwersytetu w Bazylei. Ponadto ośrodek w Gdańsku utrzymuje współpracę naukową z renomowanymi ośrodkami akademickimi i klinicznymi w ramach Europejskiej Sieci Mastocytozy jak: Uniwersytet Medyczny w Brnie (prof. Michael Doubek), Uniwersytecki Szpital w Helsinkach, Laboratorium Molekularnym oraz Szpitalem Pitié-Salpêtrière w Paryżu (prof. Michel Arock), Uniwersytecki Szpital w Tuluzie, Uniwersytety Medyczne w Kolonii, Aachen, Mannheim, Lipsku, Lubece oraz w Monachium, Uniwersytet Semmelweis w Budapeszcie, Uniwersytety w Neapolu i Weronie, Centrum Badań nad Mastocytozą w Kastylia-La Mancha w Toledo, Uniwersytet w Salamance, Uniwersytet Karolinska w Sztokholmie, Uniwersytecki szpital w Uppsala, Instytut Dermatologii św Jana w Londynie (prof. Cleve Grattan) oraz Uniwersytecki szpital w Salzburgu.

Wynikiem tej współpracydziałania są liczne publikacje naukowe traktujące o mastocytozie i zespole aktywacji mastocytów (MCAS) o łącznym IF=178 punktów, które zostały wymienione poniżej.

W ramach ECNM uczestniczę w regularnych wyjazdach zagranicznych, spotkaniach ekspertów i międzynarodowych kongresach, które umożliwiają aktywną wymianę wiedzy i doświadczeń między ośrodkami klinicznymi. Moje zaangażowanie obejmuje także współtworzenie wspólnych projektów badawczych, opracowywanie rekomendacji klinicznych oraz rozpowszechnianie najnowszych informacji dotyczących diagnostyki, terapii i prognozowania przebiegu choroby.

Dzięki uczestnictwu w tej międzynarodowej sieci ECNM zapewniam pacjentom dostęp do najnowszych metod diagnostyki i leczenia, a jednocześnie rozwijam swoje kompetencje naukowe i kliniczne, wnosząc wkład w rozwój wiedzy w zakresie nowotworów komórek tucznych.

W ramach współpracy ECNM biorę aktywny udział w corocznych kongresach ECNM, w czasie których wygłaszam wykład na temat aktualnie realizowanych projektów, przedstawiam wyniki zrealizowanych etapów badań naukowych i biorę udział w spotkaniach ekspertów. Poniżej zamieszczono listę spotkań oraz tematy wygłoszonych wykładów.

1. 14th Annual Meeting of the ECNM – Verona, October 27-29, 2016

Impact of the body mass index in patients with mastocytosis

2. 16th Annual Meeting of the ECNM – Salerno, October 11-13, 2018 ECNM Registry Projects for 2016- 2018 Impact of the body mass index in patients with mastocytosis

3. 17th Annual Meeting of the ECNM – Salzburg, October 03.10-05.10.2019 ECNM Registry Projects for 2016- 2019 Impact of the body mass index in patients with mastocytosis

4. 21 st Annual Meeting of the ECNM – Antwerp, September 21.09-23.09.2023 Genome-wide DNA methylation and gene expression in patients with indolent systemic mastocytosis

5. 22 st Annual Meeting of the ECNM – Berlin, September 12.09-14.09.2024 Genome-wide DNA methylation and gene expression in patients with indolent systemic mastocytosis

6. 23 rd Annual Meeting of the ECNM, 18-20.09.2025 London Next generation sequencing of genes with epigenetic alterations in mastocytosis

Poniżej zamieszczono listę prac, które są efektem współpracy w ramach ECNM, m.in.:

1. Valent P, Oude Elberink JNG, Gorska A, Lange M, Zanotti R, van Anrooij B, Bonifacio M, Bonadonna P, Gleixner KV, Hadzijusufovic E, Perkins C, Hartmann K, Illerhaus A, Merante S, Elena C, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Parente R, Triggiani M, Schwaab J, Jawhar M, Caroppo F, Fortina AB, Brockow K, David Fuchs, Greul R, Yavuz AS, Doubek M, Mattsson M, Hagglund H, Panse J,

- Sabato V, Aberer E, Al-Ali HK, Morren MA, Varkonyi J, Zink A, Nideszytko M, Niederwieser D, Malcovati L, Reiter A, Kennedy V, Gotlib J, Lortholary O, Hermine O, Arock M, Kluin-Nelemans H, Sperr WR; Study Group of the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM). The Data Registry of the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM): Set Up, Projects, and Perspectives. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019 Jan;7(1):81-87. doi: 10.1016/j.jaip.2018.09.024. Epub 2018 Nov 8. PMID: 30416055; PMCID: PMC7115815.
2. Sperr WR, Kundi M, Alvarez-Twose I, van Anrooij B, Oude Elberink JNG, Gorska A, Nideszytko M, Gleixner KV, Hadzijušufovic E, Zanotti R, Bonadonna P, Bonifacio M, Perkins C, Illerhaus A, Elena C, Merante S, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Parente R, Jawhar M, Belloni Fortina A, Caroppo F, Brockow K, Zink A, Fuchs D, Kilbertus AJ, Yavuz AS, Doubek M, Hägglund H, Panse J, Sabato V, Bretterklieber A, Niederwieser D, Breynaert C, Hartmann K, Triggiani M, Nideszytko B, Reiter A, Orfao A, Hermine O, Gotlib J, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Valent P. International prognostic scoring system for mastocytosis (IPSM): a retrospective cohort study. *Lancet Haematol*. 2019 Dec;6(12):e638-e649. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30166-8. Epub 2019 Oct 31. PMID: 31676322; PMCID: PMC7115823.
 3. Nideszytko B, Sobalska-Kwapis M, Strapagiel D, Lange M, Górka A, Elberink JNGO, van Doormaal J, Słomka M, Kalinowski L, Gruchała-Nideszytko M, Nowicki RJ, Valent P, Nideszytko M. Results from a Genome-Wide Association Study (GWAS) in Mastocytosis Reveal New Gene Polymorphisms Associated with WHO Subgroups. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 31;21(15):5506. doi: 10.3390/ijms21155506. PMID: 32752121; PMCID: PMC7432708.
 4. Trizuljak J, Sperr WR, Nekvindová L, Elberink HO, Gleixner KV, Gorska A, Lange M, Hartmann K, Illerhaus A, Bonifacio M, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Fortina AB, Shoumariyeh K, Jawhar M, Zanotti R, Bonadonna P, Caroppo F, Zink A, Triggiani M, Parente R, von Bubnoff N, Yavuz AS, Hägglund H, Mattsson M, Panse J, Jäkel N, Kilbertus A, Hermine O, Arock M, Fuchs D, Sabato V, Brockow K, Bretterklieber A, Nideszytko M, van Anrooij B, Reiter A, Gotlib J, Kluin-Nelemans HC, Mayer J, Doubek M, Valent P. Clinical features and survival of patients with indolent systemic mastocytosis defined by the updated WHO classification. *Allergy*. 2020 Aug;75(8):1927-1938. doi: 10.1111/all.14248. Epub 2020 Mar 16. PMID: 32108361; PMCID: PMC7115854.
 5. Valent P, Akin C, Nideszytko B, Bonadonna P, Hartmann K, Nideszytko M, Brockow K, Siebenhaar F, Triggiani M, Arock M, Romantowski J, Górka A, Schwartz LB, Metcalfe DD. Diagnosis, Classification and Management of Mast Cell Activation Syndromes (MCAS) in the Era of Personalized Medicine. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov 27;21(23):9030. doi: 10.3390/ijms21239030. PMID: 33261124; PMCID: PMC7731385.

6. Kluin-Nelemans HC, Reiter A, Illerhaus A, van Anrooij B, Hartmann K, Span LFR, Gorska A, Nidoszytko M, Lange M, Scaffidi L, Zanotti R, Bonadonna P, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Parente R, Triggiani M, Schwaab J, Jawhar M, Caroppo F, Fortina AB, Brockow K, Zink A, Fuchs D, Kilbertus A, Yavuz AS, Doubek M, Mattsson M, Hagglund H, Panse J, Sabato V, Aberer E, Niederwieser D, Breynaert C, Várkonyi J, Kennedy V, Lortholary O, Jakob T, Hermine O, Rossignol J, Arock M, Gotlib J, Valent P, Sperr WR. Prognostic impact of eosinophils in mastocytosis: analysis of 2350 patients collected in the ECNM Registry. *Leukemia*. 2020 Apr;34(4):1090-1101. doi: 10.1038/s41375-019-0632-4. Epub 2019 Nov 18. PMID: 31740811; PMCID: PMC7115841.
7. Romantowski J, Górka A, Lange M, Nidoszytko B, Gruchała-Nidoszytko M, Nidoszytko M. How to diagnose mast cell activation syndrome: practical considerations. *Pol Arch Intern Med*. 2020 Apr 30;130(4):317-323. doi: 10.20452/pamw.15212. Epub 2020 Feb 25. PMID: 32096778.
8. Greiner G, Sprinzl B, Górka A, Ratzinger F, Gurbisz M, Witzeneder N, Schmetterer KG, Gisslinger B, Uyanik G, Hadzijusufovic E, Esterbauer H, Gleixner KV, Krauth MT, Pfeilstöcker M, Keil F, Gisslinger H, Nidoszytko B, Nidoszytko M, Sperr WR, Valent P, Hoermann G. Hereditary α tryptasemia is a valid genetic biomarker for severe mediator-related symptoms in mastocytosis. *Blood*. 2021 Jan 14;137(2):238-247. doi: 10.1182/blood.2020006157. PMID: 32777817; PMCID: PMC7116780.
9. Fuchs D, Kilbertus A, Kofler K, von Bubnoff N, Shoumariyeh K, Zanotti R, Bonadonna P, Scaffidi L, Doubek M, Elberink HO, Span LFR, Hermine O, Elena C, Benvenuti P, Yavuz AS, Brockow K, Zink A, Aberer E, Gorska A, Romantowski J, Hadzijusufovic E, Fortina AB, Caroppo F, Perkins C, Illerhaus A, Panse J, Vucinic V, Jawhar M, Sabato V, Triggiani M, Parente R, Bergström A, Breynaert C, Gotlib J, Reiter A, Hartmann K, Nidoszytko M, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Sperr WR, Greul R, Valent P. Scoring the Risk of Having Systemic Mastocytosis in Adult Patients with Mastocytosis in the Skin. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021 Apr;9(4):1705-1712.e4. doi: 10.1016/j.jaip.2020.12.022. Epub 2020 Dec 23. PMID: 33346151.
10. Aberer E, Sperr WR, Bretterklieber A, Avian A, Hadzijusufovic E, Kluin-Nelemans HC, Oude Elberink H, van Anrooij B, Nidoszytko M, Lange M, Górka A, Elena C, Brazzelli V, Belloni Fortina A, Caroppo F, Hartmann K, Illerhaus A, Reiter A, Jawhar M, Bonadonna P, Zanotti R, Triggiani M, Parente R, Gotlib J, Doubek M, von Bubnoff N, Fuchs D, Sabato V, Brockow K, Jäkel N, Panse J, Valent P. Clinical Impact of Skin Lesions in Mastocytosis: A Multicenter Study of the European Competence Network on Mastocytosis. *J Invest Dermatol*. 2021 Jul;141(7):1719-1727. doi: 10.1016/j.jid.2020.12.030. Epub 2021 Feb 11. PMID: 33581142.

11. Kluin-Nelemans HC, Jawhar M, Reiter A, van Anrooij B, Gotlib J, Hartmann K, Illerhaus A, Oude Elberink HNG, Gorska A, Nidoszytko M, Lange M, Scaffidi L, Zanotti R, Bonadonna P, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Müller S, Triggiani M, Parente R, Schwaab J, Kundi M, Fortina AB, Caroppo F, Brockow K, Zink A, Fuchs D, Angelova-Fischer I, Yavuz AS, Doubek M, Mattsson M, Hagglund H, Panse J, Simonowski A, Sabato V, Schug T, Jentzsch M, Breynaert C, Várkonyi J, Kennedy V, Hermine O, Rossignol J, Arock M, Valent P, Sperr WR. Cytogenetic and molecular aberrations and worse outcome for male patients in systemic mastocytosis. *Theranostics*. 2021 Jan 1;11(1):292-303. doi: 10.7150/thno.51872. PMID: 33391475; PMCID: PMC7681091.
12. Romantowski J, Górka A, Nidoszytko M, Gulen T, Gruchała-Nidoszytko M, Nidoszytko B, Lange M, Brockow K, Arock M, Akin C, Valent P. A Challenge for Allergologist: Application of Allergy Diagnostic Methods in Mast Cell Disorders. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 1;22(3):1454. doi: 10.3390/ijms22031454. PMID: 33535634; PMCID: PMC7867197.
13. Zanotti R, Bonifacio M, Lucchini G, Sperr WR, Scaffidi L, van Anrooij B, Oude Elberink HN, Rossignol J, Hermine O, Gorska A, Lange M, Hadzijusufovic E, Miething C, Müller S, Perkins C, Shomali W, Elena C, Illerhaus A, Jawhar M, Parente R, Caroppo F, Solomianyi O, Zink A, Mattsson M, Yavuz AS, Panse J, Varkonyi J, Doubek M, Sabato V, Breynaert C, Vucinic V, Schug T, Häggglund H, Wortmann F, Brockow K, Angelova-Fischer I, Belloni Fortina A, Triggiani M, Reiter A, Hartmann K, Malcovati L, Gotlib J, Shoumariyeh K, Nidoszytko M, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Bonadonna P, Valent P. Refined diagnostic criteria for bone marrow mastocytosis: a proposal of the European competence network on mastocytosis. *Leukemia*. 2022 Feb;36(2):516-524. doi: 10.1038/s41375-021-01406-y. Epub 2021 Sep 20. PMID: 34545185.
14. Lübke J, Schwaab J, Christen D, Elberink HO, Span B, Nidoszytko M, Gorska A, Lange M, Gleixner KV, Hadzijusufovic E, Solomianyi O, Angelova-Fischer I, Zanotti R, Bonifacio M, Bonadonna P, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Müller S, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Hagglund H, Mattsson M, Parente R, Varkonyi J, Fortina AB, Caroppo F, Zink A, Brockow K, Breynaert C, Bullens D, Yavuz AS, Doubek M, Sabato V, Schug T, Niederwieser D, Hartmann K, Triggiani M, Gotlib J, Hermine O, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Panse J, Sperr WR, Valent P, Reiter A, Jawhar M. Prognostic Impact of Organomegaly in Mastocytosis: An Analysis of the European Competence Network on Mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2023 Feb;11(2):581-590.e5. doi: 10.1016/j.jaip.2022.10.051. Epub 2022 Nov 17. PMID: 36403897.
15. Kennedy VE, Perkins C, Reiter A, Jawhar M, Lübke J, Kluin-Nelemans HC, Shomali W, Langford C, Abuel J, Hermine O, Nidoszytko M, Gorska A, Mital A, Bonadonna P, Zanotti R, Tanasi I, Mattsson

- M, Hagglund H, Triggiani M, Yavuz AS, Panse J, Christen D, Heizmann M, Shoumariyeh K, Müller S, Elena C, Malcovati L, Fiorelli N, Wortmann F, Vucinic V, Brockow K, Fokoloros C, Papageorgiou SG, Breynaert C, Bullens D, Doubek M, Ilerhaus A, Angelova-Fischer I, Solomianyi O, Várkonyi J, Sabato V, Rüfer A, Schug TD, Hermans MAW, Fortina AB, Caroppo F, Bumbea H, Gulen T, Hartmann K, Elberink HO, Schwaab J, Arock M, Valent P, Sperr WR, Gotlib J. Mast cell leukemia: clinical and molecular features and survival outcomes of patients in the ECNM Registry. *Blood Adv.* 2023 May 9;7(9):1713-1724. doi: 10.1182/bloodadvances.2022008292. PMID: 36094848; PMCID: PMC10182174.
16. Lübke J, Schmid A, Christen D, Oude Elberink HNG, Span LFR, Nidoszytko M, Gorska A, Lange M, Gleixner KV, Hadzijusufovic E, Stefan A, Angelova-Fischer I, Zanotti R, Bonifacio M, Bonadonna P, Shoumariyeh K, von Bubnoff N, Müller S, Perkins C, Elena C, Malcovati L, Hagglund H, Mattsson M, Parente R, Varkonyi J, Fortina AB, Caroppo F, Brockow K, Zink A, Breynaert C, Leven T, Yavuz AS, Doubek M, Sabato V, Schug T, Hartmann K, Triggiani M, Gotlib J, Hermine O, Arock M, Kluin-Nelemans HC, Panse J, Sperr WR, Valent P, Reiter A, Schwaab J. Serum chemistry profiling and prognostication in systemic mastocytosis: a registry-based study of the ECNM and GREM. *Blood Adv.* 2024 Jun 11;8(11):2890-2900. doi: 10.1182/bloodadvances.2024012756. PMID: 38593217; PMCID: PMC11214361.
 17. Harceńko-Zielińska E, Nidoszytko M, Górka A, Małgorzewicz S, Gruchała-Nidoszytko M, Bronk M, Dąbrowski S, Chełmińska M, Jassem E. The influence of nutritional habits, body mass index and intestinal microbiota in mastocytosis on clinical symptoms using conventional culture and next generation sequencing. *Clin Transl Allergy.* 2024 Jan;14(1):e12310. doi: 10.1002/clt2.12310. PMID: 38282197; PMCID: PMC10787583.
 18. Rüfer A, Nilus H, Hermine O, Nidoszytko M, Oude Elberink JNG, Bonadonna P, Shoumariyeh K, Gulen T, Hartmann K, Sabato V, Angelova-Fischer I, Baffoe D, Christen D, Belloni Fortina A, Breynaert C, Brockow K, von Bubnoff N, Bumbea H, van Daele P, Doubek M, Dybedal I, Elena C, Fokoloros C, Górka A, Heizmann M, Jentzsch M, Klein S, Lübke J, Mattsson M, Mulder A, Panse J, Schug TD, Sciumè M, Stefan A, Sztormowska M, Várkonyi J, Wortmann F, Yavuz AS, Sperr M, Gotlib J, Reiter A, Triggiani M, Sperr WR, Valent P. Prognostic impact of expression of CD2, CD25, and/or CD30 in/on mast cells in systemic mastocytosis: a registry study of the European Competence Network on Mastocytosis. *Leukemia.* 2025 Mar;39(3):675-683. doi: 10.1038/s41375-024-02504-3. Epub 2025 Jan 15. PMID: 39815050; PMCID: PMC11879856.
 19. Sztormowska M, Górka A, Piskunowicz M, Górka L, Nazar W, Chełmińska M, Kuziemski K, Jassem E, Nidoszytko M. The Pulmonary Manifestation of Mastocytosis: Experiences of the National

Reference Centre of Excellence. J Clin Med. 2025 Aug 3;14(15):5455. doi: 10.3390/jcm14155455. PMID: 40807076; PMCID: PMC12347703.

20. Szudy-Szczyrek A, Mlak R, Pigoń-Zajac D, Krupski W, Mazurek M, Tomczak A, Chromik K, Górka A, Koźlik P, Juda A, Kokoć A, Dubaj M, Sacha T, Niedożytko M, Helbig G, Szczyrek M, Szumiło J, Małecka-Massalska T, Hus M. Role of sclerostin in mastocytosis bone disease. Sci Rep. 2025 Jan 2;15(1):161. doi: 10.1038/s41598-024-83851-0. PMID: 39747949; PMCID: PMC11697018.

6.1.2 Współpraca międzyośrodkowa w realizacji badań stanowiących osiągnięcie naukowe dotyczące identyfikacji czynników wpływających na przebieg astmy.

Udział w międzyośrodkowym projekcie badawczym oceniającym czynniki pogarszające przebieg astmy na podstawie badania mikromacierzy alergenowych sIgE (285 ekstraktów i komponentów) u chorych obciążonych astmą ciężką (2019–2022) realizowanym przez naukowców Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (wraz z dr Janem Romantowskim i Markiem Niedożytko z Kliniki Alergologii; z dr Julią Kulczycką i dr Grażyną Moszkowską z Laboratorium Immunologii i Transplantologii Klinicznej UCK), członków Studenckiego Koła Naukowego przy Klinice Alergologii GUMed oraz Kliniki Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii Wrocławskiego Uniwersytetu Medycznego (z prof. Marittą Nittner-Marszałską). Badanie prowadzone było we współpracy z wyżej wymienionymi wyspecjalizowanymi ośrodkami klinicznymi i laboratoryjnymi w zakresie diagnostyki alergologicznej i leczenia ciężkiej astmy. Wyniki projektu opublikowano w artykule pod tytułem „Atopy and Multisensitizations in Specific IgE Microarrays and Their Impact on Severe Asthma” w Life (Basel), 2022.

Badania nad oceną wpływu mikroflory jelitowej na przebieg astmy były realizowane we współpracy z zespołami klinicznymi i naukowymi Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, zajmującymi się diagnostyką oraz leczeniem chorób układu oddechowego i analizą mikrobioty jelitowej, co umożliwiło kompleksową ocenę zależności pomiędzy składem mikroflory jelitowej a przebiegiem astmy oraz odpowiedzią na leczenie. Badanie składało się z trzech części.

W pierwszym etapie, we współpracy z Zakładem Żywienia Klinicznego i Dietetyki GUMed, przeanalizowaliśmy kwestionariusze dotyczące najczęściej zgłaszanych objawów, z wyszczególnieniem grup pokarmów, po których spożyciu występują cechy nadwrażliwości pokarmowej. Dodatkowo pacjenci wypełnili kwestionariusz FFQ-6 (Food Frequency Questionnaire), który jest półilościowym, zwalidowanym dla populacji polskiej narzędziem służącym do oceny częstotliwości spożycia 165 produktów pokarmowych (żywności i napojów) w określonym czasie, zazwyczaj w ciągu ostatniego

miesiąca lub roku. Na podstawie oceny powtarzalności wyników uzyskanych przy użyciu kwestionariusza częstości spożycia (FFQ) uznano go za trafne narzędzie pomiarowe do oceny częstotliwości i ilości spożywanej żywności. W drugim etapie zbadaliśmy mikroflorę jelitową przy użyciu tradycyjnej metody hodowli. Materiał był pobierany w Klinice Alergologii GUMed i przesyłany do Laboratorium Mikrobiologii Klinicznej UCK lub pobierany przez pacjentów w domu i dostarczany do Laboratorium Mikrobiologii Klinicznej UCK zgodnie z obowiązującym protokołem. W trzecim etapie przeanalizowaliśmy sekwencje 16S rRNA u 16 losowo wybranych chorych na astmę, którzy brali udział w poprzednich etapach badania, a następnie porównaliśmy uzyskane wyniki z grupą kontrolną. Izolację DNA z pobranych próbek przeprowadzono w firmie A&A Biotechnology w Gdyni. Sekwencjonowanie oraz analizę bioinformatyczną wykonano w firmie Macrogen (Laboratory, IT and Business Headquarter & Support Center) mieszczącej się w Republice Korei. Pełną analizę bioinformatyczną przeprowadzono we współpracy z Pracownią Badań Mikrobiomu Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego PAN w Warszawie, a wyniki projektu zostały opublikowane w J Asthma Allergy, 2025 pod tytułem Changes in the Gut Microbiome is Influenced by the Level of Control and Treatment in Asthma, 2025.

6.1.2 Współpraca międzyośrodkowa w realizacji badań stanowiących osiągnięcie naukowe dotyczące astmy i zaburzeń lękowo-depresyjnych.

Zainicjowałam współpracę z Kliniką Psychiatrii Dorosłych GUMed polegającą na wspólnym sprawowaniu opieki nad pacjentami oraz koordynacją procesów diagnostyczno – terapeutycznych w ramach projektu badawczego GUMED zatytułowanego „Korelacja między leczeniem zaburzeń lękowych i depresyjnych, a kontrolą ciężkich postaci astmy”, KB/380/2025, w terminie 09.2025 – 31.05.2028. Celem realizowanego projektu jest ocena zależności pomiędzy skutecznością leczenia zaburzeń lękowych i depresyjnych a poprawą kontroli astmy ciężkiej u pacjentów pozostających pod opieką specjalistyczną Kliniki Alergologii. Projekt realizowany jest we współpracy ze specjalistami psychiatrii - Agatą Grzegorzewską oraz prof. Wiesławem Cubałą z Kliniki Psychiatrii.

Do badania planowane jest włączenie 200 pacjentów z rozpoznaniem astmy ciężkiej pozostających w 5. stopniu leczenia zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami terapeutycznymi. U wszystkich pacjentów podczas wizyt kontrolnych przeprowadzana jest ocena objawów depresyjnych z wykorzystaniem standaryzowanego kwestionariusza Zdrowia Pacjenta PHQ-9 (Patient Health Questionnaire-9). Wizyty kontrolne planowane są w regularnych odstępach czasu (np. co 4 miesiące), co umożliwi systematyczną ocenę zmian w stanie klinicznym pacjentów.

Ocena kontroli astmy jest prowadzona zgodnie ze schematem zaproponowanym w wytycznych Global Initiative for Asthma (GINA, 2024). Analiza obejmie między innymi ocenę obecności objawów ze strony układu oddechowego oraz wyników badań czynnościowych płuc, w tym parametrów spirometrycznych, ze szczególnym uwzględnieniem natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej (FEV₁) oraz stężenie tlenu azotu w powietrzu wydychanym (FENO). Zgromadzone dane kliniczne pozwolą na analizę potencjalnych zależności pomiędzy stanem psychicznym pacjentów a stopniem kontroli astmy oraz skutecznością prowadzonego leczenia.

Chorzy na astmę ciężką, trudną do leczenia mimo intensywnej terapii są w grupie chorych z wysokim ryzykiem śmiertelności z powodu astmy. Szereg chorób współistniejących, poza płucnych, przyczynia się do złej kontroli astmy. Choroby współistniejące mogą zwiększać nasilenie objawów, pogorszać jakość życia lub zwiększać częstość zaostrzeń. Mogą nawet stanowić odrębny fenotyp ciężkiej astmy. Obecnie obserwuje się postęp w kierunku identyfikacji i leczenia poszczególnych „cech - chorób, które można leczyć”, jak: alergiczny i niealergiczny nieżyt nosa, przewlekłe zapalenie zatok przynosowych, choroba refluksowa przełyku, obturacyjny bezdech senny, dysfunkcja strun głosowych, a także lęk i depresja. Okazuje się, że aż 18% pacjentów z astmą ma depresję, podczas gdy 11%-37% ma zaburzenia lękowe. Pacjenci z trudną astmą mają jeszcze wyższy wskaźnik depresji i zaburzeń lękowych, odpowiednio 31% i 81% dla depresji i lęku. Zatem niedodiagnozowanie innych chorób wydaje się być istotnym czynnikiem wpływającym na przebieg astmy. Nawet wśród specjalistów zajmujących się astmą część chorób współistniejących była pomijana, gdy nie oceniano ich systematycznie. Czułość diagnozy klinicznej dla różnych chorób współistniejących wymaga określonego standardowego podejścia. W analizie badań prospektywnych depresja była związana z 43% zwiększonym ryzykiem rozwoju astmy w wieku dorosłym. Celem Projektu jest określenie, czy u pacjentów ciężką astmą, którzy równocześnie chorują na depresję i zaburzenia lękowe, leczenie w.w. chorób wpłynie na poprawę kontroli astmy.

6.1.3 Opracowanie recenzji artykułów naukowych dla czasopism medycznych

1. "Rapid Oral Desensitization to Semaglutide Following Anaphylaxis With Positive Intradermal Testing," dla *Allergologia et Immunopathologia*, IF 2.1
2. "Assessment of Drug Allergy and Determination of Safe Alternative Medications: A Retrospective Observational Study" dla *International Journal of Clinical Practice*, IF 2.4

6.2 Granty

- 1) „Badanie znaczenia procesów epigenetycznych w patogenezie mastocytozy nadzieją na znalezienie nowych możliwości terapeutycznych”; Finansowany przez Fundację Naukową Polpharmy nr GUMed/K/735/12/2018/231; rola w grantie – **wykonawca**.

Zrealizowany w Klinice Alergologii GUMed, we współpracy z Kliniką Dermatologii, Wenerologii i Alergologii GUMed, Katedrą Żywienia Klinicznego GUMed, Centralnym Bankiem Tkanek i Materiału Genetycznego Zakładu Medycznej Diagnostyki Laboratoryjnej GUMed, Zakładem Genetyki Molekularnej i Epigenetyki Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi oraz Pracownią Biobank Katedry Biofizyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego.

W ramach realizacji grantu przeprowadzono analizę czynników wpływających na zmiany epigenetyczne, oceniono globalną metylację DNA oraz markery zmian epigenetycznych. Następnie przeprowadzono analizę epigenomu z wykorzystaniem mikromacierzy DNA. Sekwencje wykazujące zmiany epigenetyczne poddano dalszej analizie metodą sekwencjonowania nowej generacji (NGS), a ekspresję genów związanych z tymi zmianami oceniono przy użyciu techniki real-time PCR.

W wyniku przeprowadzonych badań sformułowano wnioski:

1. Chorzy na mastocytozę istotnie różnią się pod względem poziomu metylacji wybranych regionów CMR.
2. Wykryto 85 regionów CMR różniących się pod względem poziomu metylacji między grupami (regiony istotnie statystycznych, przy przyjęciu poziomu odcięcia delta beta ≥ 0.05).
3. Z 85 regionów CMR zidentyfikowano 38 CMR, które charakteryzowały się zmniejszonym poziomem metylacji (hipometylowane) a także 47 CMR ze zwiększonym poziomem metylacji (hipermetylowane).
4. Wśród 85 CMRów zidentyfikowano 31 zlokalizowanych w regionach regulatorowych następujących genów: *APOB*, *RASGEF1B*, *KRTCAP3*, *FAM123C*, *ANKMY1*, *GRM2*, *MFSD11*, *SLC2A14*, *PLSCR2*, *CCER2*, *RAB22A*, *SLC6A16*, *SYCP2L*, *NKAIN3*, *ANO1*, *SGPP2*, *YWHAE*, *TMEM246*, *EAPP*, *EDARADD*, *CMC1*, *CCDC102B*, *SCG2*, *NEK6*, *TMEM246-AS1*, *TMEM220*, *PAQR7*, *ADGRG6*, *CDH7*, *SGMS1*, *SH3PXD2A*.
5. Wyniki badania wskazują na znaczenie zmian epigenetycznych oraz zwiększonej ekspresji genów *GRM2* oraz *KRTCAP3*, opisanych przez nas wcześniej mikromacierzach DNA, która mają znaczenie w patologii wielu chorób nowotworowych, ale dotychczas nie były opisywane w patogenezie mastocytozy.
6. Przeanalizowano 4272 warianty genetyczne i zidentyfikowano pięć regionów wykazujących istotne różnice między grupą pacjentów a grupą kontrolną, zlokalizowanych w genach *TET2*,

DNMT3A, SETD2 i BRD4. Dwa z wykrytych wariantów nie były wcześniej opisywane. Uzyskane wyniki potwierdzają udział tych genów w mastocytozie i wskazują na zasadność dalszych badań w większej grupie pacjentów.

Podsumowując, wykazano, że u pacjentów z mastocytozą obecne są zmiany w profilu metylacji DNA, które mogą stanowić przedmiot dalszych analiz w kontekście mechanizmów patogenetycznych oraz potencjalnych markerów prognostycznych.

Wyniki przeprowadzonych badań sformułowano w osiągnięciu habilitacyjnym.

Wyniki zostały opublikowane w pracach:

1. Górski A, Jabłońska E, Reszka E, Niedożytko M, Lange M, Gruchała-Niedożytko M, Jarczak J, Strapagiel D, Górski-Ponikowska M, Bastian P, Pelikant-Małecka I, Kalinowski L, Niedożytko B. DNA methylation profile in patients with indolent systemic mastocytosis. Clin Transl Allergy. 2021
 2. Górski A, Urbanowicz M, Grochowalski Ł, Seweryn M, Sobalska-Kwapis M, Wojdacz T, Lange M, Gruchała-Niedożytko M, Jarczak J, Strapagiel D, Górski-Ponikowska M, Pelikant-Małecka I, Kalinowski L, Niedożytko B, Gutowska-Owsiak D, Niedożytko M. Genome-Wide DNA Methylation and Gene Expression in Patients with Indolent Systemic Mastocytosis. Int J Mol Sci. 2023
 3. Górski A, van De Wetering T, Sobalska-Kwapis M, Niedożytko B, Gutowska-Owsiak D, Niedożytko M. Next Generation Sequencing of Genes With Epigenetic Alterations in Mastocytosis. Clin Transl Allergy. 2025;
- 2) „Zastosowanie dupilumabu w leczeniu mastocytozy układowej o powolnym przebiegu z zajęciem skóry – Manaskin”; Realizowany w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym na lata 2023-2029; Finansowany przez Agencję Badań Medycznych w wysokości 11 698 640,40zł; numer projektu 2023/ABM/01/00007-00; rola w projekcie – **współbadacz, zastępca kierownika**. Aktualnie uzyskano zgodę CTIS na prowadzenie badania i trwa rekrutacja pacjentów. Celem projektu jest ocena redukcji zmian skórnych występujących w przebiegu mastocytozy, zmniejszenie objawów alergii i anafilaksji, poprawa jakości życia chorych na mastocytozę ocenianych za pomocą stężenia tryptazy mastocytarnej oraz określenia stopnia zaawansowania choroby po leczeniu dupilumabem. Wyniki badania mają prowadzić do poprawy jakości życia chorych oraz zapobiegania przedwczesnemu zgonowi poprzez zmniejszenie częstości reakcji anafilaktycznych, ciężkich reakcji alergicznych, depresji oraz prowadzić do poprawy ogólnego stanu zdrowia.

Badanie znajduje się obecnie na etapie rekrutacji uczestników. Do chwili przygotowania niniejszej pracy do badania włączono 16 z planowanych 66 osób. Z uwagi na trwający proces rekrutacji oraz brak zakończonych obserwacji nie są jeszcze dostępne wyniki ani wstępne analizy danych.

6.3 Pozostała działalność naukowa

1) W wynikach pracy doktorskiej zatytułowanej „Ocena ekspresji wybranych genów za pomocą techniki RT-PCR u chorych na mastocytozę” przedstawiłam istotne różnice w ekspresji genów B3GAT1 i ITGB1 u chorych na mastocytozę w porównaniu z osobami zdrowymi oraz między chorymi z alergią na jady owadów a chorymi bez anafilaksji w wywiadzie. Analiza porównawcza profili ekspresji genomów w krwi obwodowej i szpiku kostnym wykazała istotne różnice w ekspresji 7689 transkryptów, w tym ponad dwukrotne w 943 oraz powyżej ośmiokrotne w 45 genach. Geny limfocytów T i B nie wykazywały różnic ekspresji między badanymi materiałami. Częstość reakcji anafilaktycznych wynosiła 49,3% i była istotnie wyższa u chorych na mastocytozę układową niż skórą. Najczęstszymi czynnikami wyzwalającymi anafilaksję były pokarmy (29%), użądlenia przez owady błonkoskrzydłe (22%) i leki (15%). Średnie stężenie tryptazy było wyższe u chorych z anafilaksją w wywiadzie oraz z objawami MCAS indukowanymi czynnikami fizycznymi, które występowały u 74% badanych i częściej dotyczyły chorych na mastocytozę układową. Dnia 05.05.2016 Rada Wydziału Lekarskiego nadała wyróżnienie rozprawie doktorskiej a wyniki zostały przedstawione w publikacjach:

1. Górską A, Gruchała-Niedoszytko M, Niedoszytko M, Maciejewska A, Chełmińska M, Skrzypski M, Wasąg B, Kaczkan M, Lange M, Nędoszytko B, Pawłowski R, Małgorzewicz S, Jassem E: The Role of TRAF4 and B3GAT1 Gene Expression in the Food Hypersensitivity and Insect VenomAllergy in Mastocytosis. Arch Immunol Ther Exp. 2016 Dec;64(6):497-503
2. Górską A, Nędoszytko M, Lange M, Chełmińska M, Nędoszytko B, Wasąg B, Słomiński JM, Gruchała-Nędoszytko M, Nowicki R, Jassem E: Risk factors for anaphylaxis in patients with mastocytosis. Pol Arch Med Wewn. 2015;125(1-2):46-53

2) Jestem autorką rozdziałów w monografiach:

1. Alergia na jady owadów u chorych na mastocytozę. Alergia na owady Wyd. 2 / pod red. Marity Nittner-Marszałskiej.
2. Serce i płuca. Wydawnictwo Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, 2022 /pod red. Ewy Jassem, Marcina Gruchały, Marka Nędoszytko, Anny Kowalczyk – rozdział zatytułowany „ Zaburzenia rytmu serca w chorobach układu oddechowego”.

6.4 PATENT

PATENT nr 244930 na wynalazek pod tytułem „Zastosowanie 2-metoksyestradiolu w leczeniu mastocytozy z dnia 02.04.2024 /patent trwa od dnia 08.12.2021 mający istotny potencjalny wpływ na funkcjonowanie społeczeństwa i gospodarki. Opatentowany sposób leczenia wykorzystuje 2-metoksyestradiol jako środek selektywnie cytotoksyczny wobec komórek tucznych. Może to przynieść przełom w leczeniu postaci choroby, na które obecnie brakuje skutecznych terapii, zmniejszyć uciążliwe objawy, zmniejszyć liczbę reakcji anafilaktycznych u chorych z mastocytozą układową i skórą. Patent wzmacnia pozycję polskiej nauki, GUMed, w opracowaniu nowych leków, co może przyczynić się do rozwoju w obszarze badań. Patent otwiera drogę do współpracy z firmami farmaceutycznymi, licencji na technologię oraz może zaoferować tańszą lub skuteczniejszą alternatywę dla drogich terapii celowanych, jakimi są inhibitory kinaz tyrozynowych. Daje to szansę na realne korzyści ekonomiczne. Wprowadzenie nowej metody terapii może potencjalnie zmniejszyć koszty hospitalizacji i leczenia chorych na mastocytozę oraz poprawić ich jakość życia i aktywność zawodową. Patent daje GUMed wyłączne prawo do korzystania z wynalazku – stanowi własność intelektualną.

6.5 Aktywny udział w konferencjach naukowych zagranicznych

1. 5-9.06.2010 Prevalence of insect venom allergy and the safety of VIT in Polish patients with mastocytosis. Allergy 2010; vol. 65, suppl. 92, s. 100-101XXIX EAACI Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, London
2. 11-15.06.2011 Anaphylactic reactions in Polish mastocytosis patients. Allergy 2011; vol. 66, suppl. 94, XXX Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Istanbul
3. 5-9.06.2015 Allergy 2015, vol. 70, suppl. 101; European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, Barcelona:
 - a. The causative and risk factors of hypersensitivity reactions including anaphylaxis in patients with mastocytosis.
 - b. Gene expression profile assesement using RT-PCR in patients with mastocytosis.
 - c. The analysis of the whole genom expression profiles in peripheral and bone marrow blood of mastocytosis patients
 - d. The influence of obesity on the gene expression in obese asthma patients
4. 26-30.05.2018 Allergy: 2018 : vol. 73, suppl. 105 European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, Munich
 - a. The prevalence and the treatment of insect venom allergy in mastocytosis patients in the Polish Center of Mastocytosis
5. 01-05.06.2019 Allergy 2019 : vol. 74, suppl. 106 European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, Lisbon
 - a. Conut score as a tool for early detection of poor nutritional in advances forms of SM

- b.** Impact of the body mass index in patients with mastocytosis
- 6.** 06-08.06.2020 European Academy of Allergy and Clinical Immunology Digital Congress, abstracts; DOI serii streszczeń: 10.1111/all.14509
 - a.** Typical symptoms of mastocytosis in patients in the polish center of excellence registry
- 7.** 01-03.07.2022 European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Praga
 - a.** Genome-wide DNA methylation profile and its impact on gene expression in patients with indolent systemic mastocytosis.
- 8.** 13-16.06.2025 European Academy of Allergy and Clinical Immunology, GlasgowNext generation sequencing of genes with epigenetic alteration in mastocytosis
- 9.** 14th Annual Meeting of the ECNM – Verona, October 27-29, 2016
 - a.** Impact of the body mass index in patients with mastocytosis
- 10.** 16th Annual Meeting of the ECNM – Salerno, October 11-13, 2018 ECNM Registry Projects for 2016- 2018 Impact of the body mass index in patients with mastocytosis
- 11.** 17th Annual Meeting of the ECNM – Salzburg, October 03.10-05.10.2019 ECNM Registry Projects for 2016- 2019 Impact of the body mass index in patients with mastocytosis
- 12.** 21 st Annual Meeting of the ECNM – Antwerp, September 21.09-23.09.2023 Genome-wide DNA methylation and gene expression in patients with indolent systemic mastocytosis
- 13.** 22 st Annual Meeting of the ECNM – Berlin, September 12.09-14.09.2024 Genome-wide DNA methylation and gene expression in patients with indolent systemic mastocytosis
- 14.** 23 rd Annual Meeting of the ECNM, 18-20.09.2025 London Next generation sequencing of genes with epigenetic alterations in mastocytosis

7 Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

7.1 Zajęcia dydaktyczne

- 1.** Zajęcia dydaktyczne w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym dla kierunku lekarskiego, lekarsko-dentystycznego, farmacji, ratownictwa medycznego; od 2015 roku do obecnego roku akademickiego 2025.
- 2.** Prowadzenie zajęć praktycznych ze studentami wydziału lekarskiego, lekarsko-dentystycznego oraz nauk o zdrowiu. Prowadzenie seminariów dla studentów V roku wydziału lekarskiego. Prowadzenie analogicznych zajęć w języku angielskim dla studentów English Division.
- 3.** Członek Komitetu Naukowego VII oraz IX Studenckiej Konferencji Internistycznej organizowanej przez Studenckie Koło Naukowe Interny przy Zakładzie Prewencji i Dydaktyki GUMed dnia 10.05.2024 oraz dnia 16.05.2026..

4. Wykład w czasie kursu dla diagnostów laboratoryjnych specjalizujących się z laboratoryjnej immunologii medycznej: „Choroby autoimmunizacyjne i alergiczne” zatytułowany „Atopowe zapalenie skóry” (11.2024r, w 05.2020).
5. Organizacja obowiązkowego kursu specjalizacyjnego dla lekarzy specjalizujących się w alergologii „Immunoterapia chorób alergicznych” 17-18.09.2015.
6. Organizacja wraz z prowadzeniem wykładów w czasie corocznej konferencji Serce i Płuca, organizowanej przez Klinikę Alergologii, Klinikę Pneumonologii oraz Klinikę Kardiologii GUMed od 2019:
 - a) Zapalenie eozynofilowe w astmie T2 zależnej. Czy mepolizumab może być lekiem pierwszego wyboru u pacjentów z astmą ciężką i nie tylko...; Gdańsk 16.11.2024
 - b) Warsztaty z immunoterapii swoistej – immunoterapia w praktyce; Gdańsk 19.11.2022
 - c) Alergia na jady owadów błonkoskrzydłych; Gdańsk 16.11.2019

7.2 Organizacja sekcji PTA

Jako członek zespołu powołującego sekcję „Anafilaksja, alergia na jady owadów, mastocytoza” Polskiego Towarzystwa Alergologicznego w 05.2021 roku aktywnie uczestniczę w budowaniu jej struktur oraz wyznaczaniu kierunków rozwoju. Angażuję się zarówno w prace koncepcyjne, jak i organizacyjne, współtworząc fundamenty sprawnego i efektywnego funkcjonowania sekcji.

Biorę czynny udział w organizacji oraz realizacji spotkań naukowo-szkoleniowych, dbając o ich poziom merytoryczny i organizacyjny. Prowadzę ogólnopolskie projekty naukowe, koordynując współpracę między ośrodkami oraz inicjując działania sprzyjające integracji środowiska. Współpracuję z odpowiednimi sekcjami innych towarzystw krajowych i międzynarodowych, rozwijając wymianę doświadczeń oraz wspólne inicjatywy naukowe.

Wygłaszam wykłady podczas kongresów PTA, dzieląc się wiedzą i wynikami prowadzonych projektów. Moim celem jest aktywne wspieranie rozwoju sekcji „Anafilaksja, alergia na jady owadów, mastocytoza” PTA oraz budowanie jej silnej pozycji w środowisku krajowym i międzynarodowym.

Wygłaszanie wykładów w czasie kongresów PTA:

- 1) XIV Międzynarodowy Kongres PTA Katowice 29.09-02.10.2021 „Mastocytoza i zespół aktywacji mastocytów”
- 2) XVI Konferencja szkoleniowa PTA Toruń 13.04.2024 „Epidemiologia mastocytozy w Polsce”

Od 2009 roku jestem członkiem Komisji Rewizyjnej Oddziału Pomorskiego PTA. Obecnie pełnię tę funkcję kolejną kadencję (2024-2027).

7.3 Wykłady na zaproszenie jako ekspert

Wygłosiłam wykłady na zaproszenie, występując w roli eksperta podczas konferencji i kongresów. Moje wystąpienia dotyczyły kluczowych zagadnień merytorycznych dotyczących mastocytozy, a zaproszenia stanowiły wyraz uznania dla mojego doświadczenia oraz dorobku naukowego.

1. Wygłoszenie wykładu „Jak odczuwać w mastocytozie?” w czasie XV Sympozjum Immunoterapia Alergenowa, Katowice 24.01-25.01.2025.
2. Wygłoszenie wykładu „Klasyfikacja, diagnostyka i obraz kliniczny mastocytozy. Aktualne zalecenia WHO” w czasie XXXII Zjazdu Polskiego Towarzystwa hematologów i Transfuzjologów w Gdańsku w dniach 23-25.10.2025.

7.4 Funkcja promotora

Promotor pomocniczy dr n. med. Eweliny Harcęko-Zielińskiej – dysertacja pod tytułem „Badania mikroflory jelitowej, zaburzeń odżywiania, nadwrażliwości i alergii pokarmowej u chorych leczonych z powodu astmy, mastocytozy oraz w grupie kontrolnej” – obrona pracy doktorskiej w 2022

7.5 Studenckie koło naukowe

Współpraca ze studenckim kołem naukowym przy Klinice Alergologii we współpracy z dr Janem Romantowskim. Realizacja projektu zatytułowanego „Korelacja między leczeniem zaburzeń lękowych i depresyjnych, a kontrolą ciężkich postaci astmy” wraz z studentami VI roku wydziału lekarskiego Adamem Żmijewskim oraz Nicolą Le. Projekt realizowany jest od 01.10.2025 roku. Obecnie jest na etapie analizy danych od 50 chorych (docelowa grupa badawcza to 200 osób). Dotychczasowe obserwacje nieoficjalnie potwierdzają doniesienia o istniejącej korelacji astmy ciężkiej z zaburzeniami nastroju.

7.6 Działaność społeczna i organizacyjna

W ramach działalności społecznej podejmuję wsparcie logistyczno-organizacyjne działalności harcerskiej ZHR, aktywnie uczestnicząc w przygotowaniu przedsięwzięć drużyny prowadzonej przez mojego syna, pełniącego obecnie funkcję drużynowego 10 Gdańskiej Drużyny Harcerzy „Abrakadabra”. Moje działania obejmują wsparcie planowania, organizację zasobów oraz zapewnienie bezpieczeństwa uczestników, co pozwala drużynie realizować cele edukacyjne i wychowawcze w sposób bezpieczny i profesjonalny.

W ramach tej działalności aktywnie zaangażowałam się w organizacyjne wsparcie wysokogórskiej wyprawy harcerskiej do Argentyny w 2024 roku, odpowiadając za kwestie zdrowotne i medyczne

uczestników. Zapewniłam kompleksowe przygotowanie zaplecza medycznego, w tym wyposażenie ekspedycji w odpowiednio skompletowaną apteczkę pierwszej pomocy dostosowaną do warunków wyprawy powyżej 4000 m n.p.m. Koordynowałam również kwestie związane z zabezpieczeniem niezbędnego ubezpieczenia zdrowotnego, dbając o pełne bezpieczeństwo uczestników. Przy moim współudziale została także zorganizowana pomoc ekspercka – specjalistyczne szkolenie oraz konsultacje medyczne przed wyjazdem prowadzone on-line przez dr hab. Roberta Szymczaka, obejmujące przygotowanie do przebywania na dużych wysokościach oraz zasady postępowania medycznego w trakcie wyprawy. Całość działań pozwoliła na bezpieczną i efektywną realizację przedsięwzięcia.

8 Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

8.1 Badania kliniczne

Brałam udział w badaniach klinicznych jako investigator:

1. Masitinib in treatment of patients with Smouldering Systemic, Indolent Systemic or Cutaneous mastocytosis with handicap; AB 06006 study; AB Science; Od 2010 do 2016
2. Masitinib in Severe Indolent or Smoldering Systemic Mastocytosis Unresponsive to Optimal Symptomatic Treatment; NCT04333108; AB Science; od (03/04/2020) do 2024
3. Masitinib for the Treatment of Severe Mast Cell Activation Syndrome; NCT05449444; AB Science; od (08/07/2020) do 2025
4. To Compare Efficacy and Safety of CT-P39 and EU-approved Xolair in Patients With Chronic Spontaneous Urticaria (omalizumab); NCT04426890; Celltrion; Od 2021 do 2024
5. A 52-week, randomized, double-blind, double-dummy, parallel-group, multi-centre, non-inferiority study to investigate the efficacy and safety of depemokimab compared with mepolizumab in adults with relapsing or refractory Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis (EGPA) receiving standard of care (SoC) therapy; NCT05263934; GlaxoSmithKline; Od 2023 do 2025
6. A Phase 2 Multicenter Study of TL-895 in Subjects with Relapse/Refractory Myelofibrosis, Janus Kinase Inhibitor Intolerant Myelofibrosis and Janus Kinase Inhibitor Treatment Ineligible Myelofibrosis, or Indolent Systemic Mastocytosis; Telios Pharma TL-895-201; Od 2024 do 2025

8.2 Nagrody

8.2.1 Nagrody Rektora

1. NAGRODA REKTORA III stopnia za w 2013 roku za badania nad mastocytozą skóry w aspekcie klinicznym, epidemiologicznym i rokowniczym.
2. NAGRODA REKTORA w 2017 roku za Wyróżnioną Pracę Doktorską za badania nad ekspresją wybranych genów za pomocą techniki RT-PCR u chorych na mastocytozę.
3. NAGRODA REKTORA II stopnia w 2018 roku za badania nad patogenezą i aspektami klinicznymi mastocytozy.
4. NAGRODA REKTORA I stopnia w 2021 roku za cykl prac na temat genetyki, rozpoznawania, leczenia, rokowania u chorych na mastocytozę.
5. ZESPOŁOWA NAGRODA REKTORA II stopnia w 2023 roku za badania nad klinicznymi i genetycznymi aspektami mastocytozy (praca oryginalna).
6. ZESPOŁOWA DYDAKTYCZNA NAGRODA REKTORA I stopnia w 2023 roku za współautorstwo w monografii Serce i płuca.
7. ZESPOŁOWA NAGRODA REKTORA II stopnia w 2024 roku za osiągnięcie naukowe pn. Badania nad genetycznymi mastocytozami i agresywnymi postaciami choroby.
8. ZESPOŁOWA NAGRODA REKTORA I stopnia w 2024 roku za osiągnięcie naukowe pn. Badania nad klinicznymi i immunologicznymi aspektami astmy.
9. ZESPOŁOWA NAGRODA REKTORA II stopnia w 2025 roku za osiągnięcie naukowe pn. Badania nad występowaniem reakcji nadwrażliwości u chorych na mastocytozę, profilowaniem i rokowaniem.

8.2.2 Uzyskane prestiżowe nagrody i wyróżnienia:

1. Nagroda za najlepszą prezentację w sesji plakatowej „Prize Winner” podczas kongresu EAACI w Lizbonie w 2019r za pracę Impact Of The Body Mass Index In Patients With Mastocytosis.
2. Nagroda „Outstanding Poster Presentation Award” przyznana podczas kongresu EAACI w Walencji w 2024r za pracę Clinical characteristics of mastocytosis in Poland based on Polish Registry of mastocytosis.
3. Najlepsza prezentacja w sesji plakatowej Kongresu Polskiego Towarzystwa Alergologicznego w Krakowie w 2024r pt: „Next generation sequencing of genes with epigenetic alterations in mastocytosis” zaprezentowana ponownie na Sesji Najlepsi z Najlepszych.
4. **RISISNG STAR 2015** - 3rd International Workshop on Lung Health - Monaco, 15-17 January 2016 - Rising Stars Competition Results – wykład pod tytułem „Risk factors for anaphylaxis and the differences in B3GAT1 and ITGB1 gene expression in patients with mastocytosis”

9 Analiza Bibliometryczna

1. Impact Factor

Zgodnie z analizą Biblioteki Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego:

Całkowity IF z wyłączeniem osiągnięcia habilitacyjnego: **205,197**

Całkowity IF łącznie z osiągnięciem habilitacyjnym: **231,754**

IF prac z 1 autorstwem: 20,311

2. Liczba cytowań publikacji.

Scopus.com: **949** Web of Science Core Collection: **886**

Bez autocytowań:

Scopus.com: **890** Web of Science Core Collection: **827**

3. Indeks Hirscha.

Scopus.com: **16** Web of Science Core Collection: **16**

10 Piśmiennictwo

1. Galván-Morales, M. Á., Vizuet-de-Rueda, J. C., Montero-Vargas, J. M. & Teran, L. M. Role of Mast Cells in Human Health and Disease: Controversies and Novel Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* **26**, 8895 (2025).
2. Valent, P. *et al.* The Data Registry of the European Competence Network on Mastocytosis (ECNM): Set Up, Projects, and Perspectives. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* **7**, (2019).
3. Valent, P. *et al.* Harmonization of Diagnostic Criteria in Mastocytosis for Use in Clinical Practice: WHO vs ICC vs AIM/ECNM. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* vol. 12 3250-3260.e5 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2024.08.044> (2024).
4. Valent, P., Akin, C. & Metcalfe, D. D. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* **129**, 1420–1427 (2017).
5. Arock, M. *et al.* KIT mutation analysis in mast cell neoplasms: recommendations of the European Competence Network on Mastocytosis. *Leukemia* **29**, 1223–1232 (2015).
6. Bodemer, C. *et al.* Pediatric Mastocytosis Is a Clonal Disease Associated with D816V and Other Activating c-KIT Mutations. *Journal of Investigative Dermatology* **130**, 804–815 (2010).
7. Nedoszytko, B. *et al.* Results from a genome-wide association study (Gwas) in mastocytosis reveal new gene polymorphisms associated with who subgroups. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 1–17 (2020).
8. Nedoszytko, B. *et al.* Clinical impact of inherited and acquired genetic variants in mastocytosis. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 22 1–18 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ijms22010411> (2021).
9. D'Ambrosio, C., Akin, C., Wu, Y., Magnusson, M. K. & Metcalfe, D. D. Gene expression analysis in mastocytosis reveals a highly consistent profile with candidate molecular markers. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **112**, 1162–1170 (2003).
10. Niedozytko, M. *et al.* Gene expression profile, pathways, and transcriptional system regulation in indolent systemic mastocytosis. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* **66**, 229–237 (2011).

11. Lee, S. H., Lee, J. H., Lee, Y. M. & Kim, D. K. Involvement of MITF-A, an alternative isoform of mi transcription factor, on the expression of tryptase gene in human mast cells. *Exp. Mol. Med.* **42**, 366–375 (2010).
12. Lee, Y. N. *et al.* KIT signaling regulates MITF expression through miRNAs in normal and malignant mast cell proliferation. *Blood* **117**, 3629–3640 (2011).
13. Esteller, M. Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine* **358**, 1148–1159 (2008).
14. Li, W. & Xu, L. Epigenetic Function of TET Family, 5-Methylcytosine, and 5-Hydroxymethylcytosine in Hematologic Malignancies. *Oncol. Res. Treat.* **42**, 309–317 (2019).
15. Feinberg, A. P., Ohlsson, R. & Henikoff, S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat. Rev. Genet.* **7**, 21–33 (2006).
16. Cordaux, R. & Batzer, M. A. The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat. Rev. Genet.* **10**, 691–703 (2009).
17. Yang, A. S. *et al.* A simple method for estimating global DNA methylation using bisulfite PCR of repetitive DNA elements. *Nucleic Acids Res.* **32**, 1–6 (2004).
18. Schwaab, J. *et al.* Comprehensive mutational profiling in advanced systemic mastocytosis. *Blood* **122**, 2460–2466 (2013).
19. Jawhar, M. *et al.* Additional mutations in SRSF2, ASXL1 and/or RUNX1 identify a high-risk group of patients with KIT D816V+ advanced systemic mastocytosis. *Leukemia* **30**, 136–143 (2016).
20. Trizuljak, J. *et al.* Clinical features and survival of patients with indolent systemic mastocytosis defined by the updated WHO classification. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* **75**, 1923–1934 (2020).
21. Kibsgaard, L. *et al.* How “benign” is cutaneous mastocytosis? A Danish registry-based matched cohort study. *Int. J. Womens Dermatol.* **6**, 294–300 (2020).
22. Pulfer, S. *et al.* Health-Related Quality of Life and Influencing Factors in Adults with Nonadvanced Mastocytosis—A Cross-Sectional Study and Qualitative Approach. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **9**, 3166-3175.e2 (2021).
23. Górska, A. *et al.* Risk factors for anaphylaxis in patients with mastocytosis. **125**, (2015).
24. Niedożytko, M. *et al.* Prevalence of hypersensitivity reactions in various forms of mastocytosis: A pilot study of 2485 adult patients with mastocytosis collected in the ECNM registry. *Allergy* **79**, 2470–2481 (2024).
25. Tejedor Alonso, M. A., Moro Moro, M. & Múgica García, M. V. Epidemiology of anaphylaxis. *Clinical & Experimental Allergy* **45**, 1027–1039 (2015).
26. Niedożytko, M. *et al.* Gene expression analysis predicts insect venom anaphylaxis in indolent systemic mastocytosis. *Allergy* **66**, 648–657 (2011).
27. Górska, A. *et al.* The Role of TRAF4 and B3GAT1 Gene Expression in the Food Hypersensitivity and Insect Venom Allergy in Mastocytosis. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. **64**, (2016).
28. Pardani, A. *et al.* Mayo alliance prognostic system for mastocytosis: clinical and hybrid clinical-molecular models. *Blood Adv.* **2**, 2964–2972 (2018).

29. Valent, P. *et al.* New Insights into the Pathogenesis of Mastocytosis: Emerging Concepts in Diagnosis and Therapy. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* **18**, 361–386 (2023).
30. van Doormaal, J. J. *et al.* Prevalence of indolent systemic mastocytosis in a Dutch region. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **131**, 1429–1431.e1 (2013).
31. Di Raimondo, C. *et al.* Cutaneous mastocytosis: A dermatological perspective. *Australasian Journal of Dermatology* **62**, (2021).
32. González De Olano, D. *et al.* Prevalence of allergy and anaphylactic symptoms in 210 adult and pediatric patients with mastocytosis in Spain: A study of the Spanish network on mastocytosis (REMA). *Clinical and Experimental Allergy* **37**, 1547–1555 (2007).
33. Brockow, K., Jofer, C., Behrendt, H. & Ring, J. Anaphylaxis in patients with mastocytosis: a study on history, clinical features and risk factors in 120 patients. *Allergy* **63**, 226–232 (2008).
34. Jennings, S. *et al.* The Mastocytosis Society Survey on Mast Cell Disorders: Patient Experiences and Perceptions. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2**, 70–76 (2014).
35. Niedozytko, M., Bonadonna, P., Elberink, J. N. G. O. & Golden, D. B. K. Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Hymenoptera Venom Allergy in Mastocytosis Patients. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* **34**, 365–381 (2014).
36. Sturm, G. J. *et al.* <scp>EAACI</scp> guidelines on allergen immunotherapy: Hymenoptera venom allergy. *Allergy* **73**, 744–764 (2018).
37. Bilò, B. M. & Bonifazi, F. Epidemiology of insect-venom anaphylaxis. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **8**, 330–337 (2008).
38. Gomes, E. *et al.* Self-reported drug allergy in a general adult Portuguese population. *Clinical & Experimental Allergy* **34**, 1597–1601 (2004).
39. Bousquet, J. *et al.* Rhinitis associated with asthma is distinct from rhinitis alone: The <scp>ARIA-MeDALL</scp> hypothesis. *Allergy* **78**, 1169–1203 (2023).
40. Simó-Riudalbas, L. & Esteller, M. Cancer genomics identifies disrupted epigenetic genes. *Hum. Genet.* **133**, 713–725 (2014).
41. Traina, F. *et al.* Single nucleotide polymorphism array lesions, TET2, DNMT3A, ASXL1 and CBL mutations are present in systemic mastocytosis. *PLoS One* **7**, 1–9 (2012).
42. Ko, M. *et al.* Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature* **468**, 839–843 (2010).
43. Leoni, C. *et al.* Reduced DNA methylation and hydroxymethylation in patients with systemic mastocytosis. *Eur. J. Haematol.* **95**, 566–575 (2015).
44. Soucie, E. *et al.* In aggressive forms of mastocytosis, TET2 loss cooperates with c-KITD816V to transform mast cells. *Blood* **120**, 4846–4849 (2012).
45. Tefferi, A. *et al.* Frequent TET2 mutations in systemic mastocytosis: Clinical, KITD816V and FIP1L1-PDGFRα correlates. *Leukemia* **23**, 900–904 (2009).
46. Chen, Z. *et al.* Decreased 5-hydroxymethylcytosine levels correlate with cancer progression and poor survival: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* **8**, 1944–1952 (2017).
47. Potaczek, D. P. *et al.* Epigenetics and allergy: From basic mechanisms to clinical applications. *Epigenomics* **9**, 539–571 (2017).

48. Huvenne, W., Hellings, P. W. & Bachert, C. Role of Staphylococcal Superantigens in Airway Disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **161**, 304–314 (2013).
49. Harb, H., Alashkar Alhamwe, B., Garn, H., Renz, H. & Potaczek, D. P. Recent developments in epigenetics of pediatric asthma. *Curr. Opin. Pediatr.* **28**, (2016).
50. Holt, P. G. & Sly, P. D. Viral infections and atopy in asthma pathogenesis: New rationales for asthma prevention and treatment. *Nat. Med.* **18**, 726–735 (2012).
51. Hew, K. M. *et al.* Childhood exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons is linked to epigenetic modifications and impaired systemic immunity in T cells. *Clin. Exp. Allergy* **45**, 238–248 (2015).
52. Somineni, H. K. *et al.* associated with childhood asthma and traffic-related air pollution. *J. Allergy Clin. Immunol.* **137**, 797-805.e5.
53. Brunst, K. J. *et al.* Forkhead box protein 3 (FOXP3) hypermethylation is associated with diesel exhaust exposure and risk for childhood asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* vol. 131 592–593 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.042> (2013).
54. Breton, C. V *et al.* Particulate matter, DNA methylation in nitric oxide synthase, and childhood respiratory disease. *Environ. Health Perspect.* **120**, 1320–1326 (2012).
55. Fu, A., Leaderer, B. P., Gent, J. F., Leaderer, D. & Zhu, Y. An environmental epigenetic study of ADRB2 5'-UTR methylation and childhood asthma severity. *Clin. Exp. Allergy* **42**, 1575–1581 (2012).
56. Mitchell, A. V. *et al.* FOXQ1 recruits the MLL complex to activate transcription of EMT and promote breast cancer metastasis. *Nat. Commun.* **13**, (2022).
57. Li, Y. *et al.* Forkhead box Q1: A key player in the pathogenesis of tumors (Review). *International Journal of Oncology* vol. 49 51–58 Preprint at <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3517> (2016).
58. Cui, X. *et al.* Prognostic value of FOXQ1 in patients with malignant solid tumors: A meta-analysis. *Onco. Targets. Ther.* **10**, 1777–1781 (2017).
59. Ghafouri-Fard, S. *et al.* The interplay between non-coding RNAs and Twist1 signaling contribute to human disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy* vol. 135 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111220> (2021).
60. Adamo, P. & Lodomery, M. R. The oncogene ERG: a key factor in prostate cancer. *Oncogene* **35**, 403–414 (2016).
61. Niswender, C. M. & Conn, P. J. Metabotropic glutamate receptors: Physiology, pharmacology, and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **50**, 295–322 (2010).
62. Spolak-Bobryk, N. *et al.* The role of the clinical and psychological symptoms of mastocytosis in the patient's quality of life. *Postepy Dermatol. Alergol.* **39**, 688–696 (2022).
63. Spolak-Bobryk, N., Romantowski, J., Kujawska-Danecka, H. & Niedoszytko, M. Mastocytosis patients' cognitive dysfunctions correlate with the presence of spindle-shaped mast cells in bone marrow. *Clin. Transl. Allergy* **12**, 3–5 (2022).
64. Szalanczy, A. M. *et al.* Keratinocyte-associated protein 3 plays a role in body weight and adiposity with differential effects in males and females. *Front. Genet.* **13**, (2022).

65. Fujiwara, S. *et al.* Gene expression and methylation analysis in melanomas and melanocytes from the same patient: Loss of NPM2 expression is a potential immunohistochemical marker for melanoma. *Front. Oncol.* **9**, (2019).
66. Wang, F. *et al.* Integrated Genome-Wide Methylation and Expression Analyses Reveal Key Regulators in Osteosarcoma. *Comput. Math. Methods Med.* **2020**, (2020).
67. Yanagisawa, Y., Ito, E., Yuasa, Y. & Maruyama, K. The human DNA methyltransferases DNMT3A and DNMT3B have two types of promoters with different CpG contents. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression* **1577**, 457–465 (2002).
68. Leoni, C. *et al.* Dnmt3a restrains mast cell inflammatory responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **114**, E1490–E1499 (2017).
69. Ley, T. J. *et al.* DNMT3A Mutations in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* **363**, 2424–2433 (2010).
70. Mancini, M. *et al.* SETD2 non genomic loss of function in advanced systemic mastocytosis is mediated by an Aurora kinase A/MDM2 axis and can be therapeutically targeted. *Biomark. Res.* **11**, (2023).
71. Górska, A. *et al.* DNA methylation profile in patients with indolent systemic mastocytosis. *Clin. Transl. Allergy* **11**, (2021).
72. Guallar, D. *et al.* RNA-dependent chromatin targeting of TET2 for endogenous retrovirus control in pluripotent stem cells. *Nat. Genet.* **50**, 443–451 (2018).
73. Wedeh, G. *et al.* Identification of bromodomain-containing protein-4 as a novel marker and epigenetic target in mast cell leukemia. *Leukemia* **29**, 2230–2237 (2015).
74. Hekking, P.-P. W. *et al.* The prevalence of severe refractory asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **135**, 896–902 (2015).
75. Côté, A., Godbout, K. & Boulet, L.-P. The management of severe asthma in 2020. *Biochem. Pharmacol.* **179**, 114112 (2020).
76. Marone, G. *et al.* Tezepelumab: a novel biological therapy for the treatment of severe uncontrolled asthma. *Expert Opin. Investig. Drugs* **28**, 931–940 (2019).
77. Del Giacco, S. R. *et al.* Allergy in severe asthma. *Allergy* **72**, 207–220 (2017).
78. Rojano, B. *et al.* Allergen Sensitization and Asthma Outcomes among World Trade Center Rescue and Recovery Workers. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **16**, 737 (2019).
79. Leynaert, B. *et al.* Gender differences in prevalence, diagnosis and incidence of allergic and non-allergic asthma: a population-based cohort. *Thorax* **67**, 625–631 (2012).
80. Fujimura, K. E. & Lynch, S. V. Microbiota in Allergy and Asthma and the Emerging Relationship with the Gut Microbiome. *Cell Host Microbe* **17**, 592–602 (2015).
81. Herbst, T. *et al.* Dysregulation of Allergic Airway Inflammation in the Absence of Microbial Colonization. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **184**, 198–205 (2011).
82. Hilty, M. *et al.* Disordered Microbial Communities in Asthmatic Airways. *PLoS One* **5**, e8578 (2010).
83. Fuller, R. & Gibson, G. R. Modification of the Intestinal Microflora Using Probiotics and Prebiotics. *Scand. J. Gastroenterol.* **32**, 28–31 (1997).

84. Fujimura, K. E. *et al.* Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat. Med.* **22**, 1187–1191 (2016).
85. Arrieta, M.-C. *et al.* Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci. Transl. Med.* **7**, (2015).
86. Begley, L. *et al.* Gut microbiota relationships to lung function and adult asthma phenotype: a pilot study. *BMJ Open Respir. Res.* **5**, e000324 (2018).

Oświadczam, że nie ubiegałam się wcześniej o nadanie stopnia doktora habilitowanego.