

Wskaźnik palcowy 2D:4D i poziom metylacji DNA jako markery programowania epigenetycznego w tym prenatalnego w fizjologii człowieka na różnych etapach ontogenezy

2D:4D finger index and DNA methylation level as markers of epigenetic programming including prenatal programming, in human physiology at different stages of ontogenesis

Dr Paulina Agnieszka Pruszkowska-Przybylska



Łódź, październik 2024

Spis treści

1. Imię i Nazwisko	4
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.	4
2.1 Przebieg wykształcenia	4
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	5
3.1 Dłuższe przerwy w pracy	5
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):.....	6
a) Tytuł osiągnięcia naukowego:.....	6
Wskaźnik palcowy 2D:4D i poziom metylacji DNA jako markery programowania epigenetycznego w tym prenatalnego w fizjologii człowieka na różnych etapach ontogenezy	6
b) Wykaz prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne:.....	6
c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	9
c.1 Wprowadzenie.....	9
c.2 Uzasadnienie podjętego tematu.....	11
c.3 Cele ogólne i hipotezy badawcze	12
c.4 Materiały i metody	15
c.5 Wyniki wraz z omówieniem ewentualnego wykorzystania	18
c.5.1 Związki wskaźnika 2D:4D z licznymi cechami fenotypowymi człowieka	18
c.5.1.1 Ekspozycja na estrogeny prenatalne	19
c.5.1.2 Ekspozycja na testosteron prenatalny	21
c.5.2 Wiek epigenetyczny – novum w rozumieniu wieku biologicznego człowieka.....	22
c.5.2.1 Wiek epigenetyczny a ryzyko preeklampsji	24
c.5.2.2 Wiek epigenetyczny a wskaźnik palcowy 2D:4D	25
c.5.2.3 Sposób przechowywania próbek a wiek epigenetyczny.....	30
c.6 Podsumowanie	32
c. 7 Wykorzystanie wyników badań.....	35
c. 8 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.....	35
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	48

6.	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	51
7.	Inne informacje dotyczące kariery zawodowej.....	53
	Bibliografia.....	55

1. Imię i Nazwisko.

Paulina Agnieszka Pruszkowska-Przybylska

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

2.1 Przebieg wykształcenia

16.07.2020	Doktor nauk biologicznych (z wyróżnieniem) - Uniwersytet Łódzki; Wydział Biologii i Ochrony Środowiska. Tytuł pracy: Znaczenie czynników prenatalnych, środowiskowych oraz parametrów biochemicznych w kształtowaniu się proporcji i składu ciała oraz tempa rozwoju człowieka na różnych etapach ontogenezy progresywnej. Angielski tytuł: The significance of the prenatal, environmental and biochemical factors in the forming of the body proportion and composition, as well as tempo of human development on the various stages of the progressive ontogenesis.
10.2016 - 07.2010	Doktorantka w Katedrze Antropologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego
10.2016 – 06.2017	Uniwersytet Łódzki; Wydział Matematyki i Informatyki; Studia podyplomowe: „Analiza danych i data mining”
10.2015 - 09.2016	Doktorantka w Klinice Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
2013 - 2015	Uniwersytet Łódzki; Wydział Biologii i Ochrony Środowiska; Kierunek: Biologia II stopnia w trybie Indywidualnego Programu Studiów – realizacja magisterium na Uniwersytecie Kopenhaskim (średnia ocen z całego toku: 4,96). Tytuł pracy: Genetic differentiation between Greeks, Slovenians, Iraqis, Danes and Turkish using four Middle Eastern AIMs iPLEX panels.
2010 - 2013	Uniwersytet Łódzki; Wydział Biologii i Ochrony Środowiska; Kierunek: Biologia (od 3-go roku indywidualny program studiów połączenie bloku biologii środowiskowej i genetyki). Ukończenie studiów biologicznych I stopnia z wynikiem bardzo-dobrym (średnia ocen z całego toku studiów 4,73) oraz nieobowiązkowego bloku pedagogicznego. Tytuł pracy: Wpływ czynników środowiskowych i genetycznych na zaburzenia proporcji wagowo-wzrostowych.

Angielski tytuł: Genetic and environmental factors affecting body mass index.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

10.2020 - obecnie	Adiunkt - Katedra Antropologii WBiOŚ UŁ
05.2020 - 09.2020	Asystent - Katedra Antropologii WBiOŚ UŁ
05.2020 - 05.2021	Pracownik w projekcie „Analiza epigenomu w celach dochodzeniowo-śledczych - zwiększenie możliwości identyfikacyjnych i wykrywczych badań DNA (EPIGENOM)” - projekt nr DOB-BIO10/06/01/2019 (Zakres prac: wykonywanie pomiarów antropometrycznych, przeprowadzanie wywiadu z pacjentami, tworzenie bazy danych, pisanie manuskryptu prac naukowych)
07.2019 - 09.2020	Pracownik naukowo-techniczny – Katedra Antropologii WBiOŚ UŁ
02-09.2015	Pracownik w projekcie SONATA BIS nr 2012/05/E/NZ5/02130 pod tytułem „Profil krążących mikroRNA w diagnostyce rzadkich form cukrzycy” w Klinice Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Zakres prac: wykonywanie analiz ekspresji microRNA, opis wyników, tworzenie bazy danych)
2012 - 2013	Praca dla Polskiej Akademii Nauk w projekcie „V Zdjęcie Antropologiczne dzieci i młodzieży”. (Zakres prac: wykonywanie pomiarów antropometrycznych)

3.1 Dłuższe przerwy w pracy

09.2023 - 01.2024	Urlop macierzyński (20 tygodni)
03.2024 - 05.2024	Urlop rodzicielski (9 tygodni)

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Wskaźnik palcowy 2D:4D i poziom metylacji DNA jako markery programowania epigenetycznego w tym prenatalnego w fizjologii człowieka na różnych etapach ontogenezy

b) Wykaz prac stanowiących osiągnięcie habilitacyjne:

Dorobek habilitacyjny

1. (H1) Pruszkowska-Przybylska, P., Sitek, A., Rosset, I., Sobalska-Kwapis, M., Słomka, M., Strapagiel, D., Żądzińska, E. & Morling, N. (2021). Associations between second to fourth digit ratio, cortisol, vitamin D, and body composition among Polish children. *Scientific Reports*, 11(1), 1-9 (IF=4,379; MNiSW=140 pkt.)
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-86521-7>

Wkład: Byłam wiodącym autorem pracy. Zaprojektowałam badanie (problemy badawcze cele i hipotezy - **Pierwsza na świecie próba powiązania wzorca palcowego 2D:4D ze stężeniem witaminy D i kortyzolu oraz składem ciała**), koordynowałam pracę zespołu badawczego, zawiadywałam logistyką przedsięwzięcia, odpowiadałam za kontakt ze szkołami podstawowymi, zbierałam materiał (pomiary antropometryczne, dane kwestionariuszowe), tworzyłam bazę danych, przeprowadziłam prace laboratoryjne (analizy stężenia witaminy D i kortyzolu), wykonałam analizy statystyczne, wyciągnęłam ostateczne wnioski oraz przygotowałam wersję roboczą i ostateczną manuskryptu, byłam autorem korespondencyjnym (odpowiadałam za kontakt z redakcją czasopisma).

2. (H2) Kobus, M., Sitek, A., Rosset, I., Pruszkowska-Przybylska, P., & Żądzińska, E. (2021). Association of prenatal sex steroid exposure estimated by the digit ratio (2D:4D) with birth weight, BMI and muscle strength in 6-to 13-year-old Polish children. *Plos one*, 16(10), e0258179. (IF=3,24; MNiSW=100 pkt.)
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258179>

Wkład: Zbierałam materiał (pomiary antropometryczne, dane kwestionariuszowe), byłam zaangażowana w tworzenie wersji roboczej manuskryptu i wyciągnięcie ostatecznych wniosków. Autorzy **po raz pierwszy na świecie na polskiej grupie dzieci podjęli się próby powiązania wzorca palcowego 2D:4D z parametrami urodzeniowymi i siłą uścisku dłoni**.

3. (H3) Pruszkowska-Przybylska P., Kobus M., Iljin A., Wiktorska J.A., Żądzińska E., Sitek A. (2021). Thyroid diseases and second to fourth digit ratio in Polish adults. *Scientific Reports*, 11(1), 1-8 (IF=4,379; MNiSW=140 pkt.)
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-98436-4>

Wkład: Byłam wiodącym autorem pracy. Zaprojektowałam badanie (problemy badawcze cele i hipotezy - **Pierwsza na świecie próba porównania wzorca palcowego 2D:4D u osób u których zdiagnozowano choroby tarczycy i zdrowych**), uczestniczyłam w rekrutacji pacjentów do badań, zbierałam materiał (pomiar antropometryczne, dane kwestionariuszowe), wykonałam analizy statystyczne, wyciągnęłam ostateczne wnioski oraz przygotowałam wersję roboczą i ostateczną manuskryptu. Byłam autorem korespondencyjnym (odpowiadałam za kontakt z redakcją czasopisma)

4. (H4) Pruszkowska-Przybylska, P., Brennecke, S., Moses, E. K., & Melton, P. E. (2022). Evaluation of epigenetic age calculators between preeclampsia and normotensive pregnancies in an Australian cohort. *Scientific Reports*, 12(1), 1-12. (IF=4,997; MNiSW=140 pkt.) <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05744-4>.

Wkład: Byłam wiodącym autorem pracy. Miałam współudział w zaprojektowaniu badania (problemy badawcze cele i hipotezy - **Pierwsza na świecie próba porównania wieku epigenetycznego wśród kobiet z preeklampsją z kobietami o prawidłowym przebiegu ciąży**). Badania umożliwił staż naukowy w The Centre for Genetic Origins of Health and Disease (University of Western Australia and Curtin University), Perth (Australia) - projekt uzyskał dofinansowanie w ramach konkursu Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŁ wspierającego krótkoterminowe wyjazdy zagraniczne), wykonałam analizy bioinformatyczne i statystyczne wyciągnęłam ostateczne wnioski oraz przygotowałam wersję roboczą i ostateczną manuskryptu, byłam autorem korespondencyjnym (odpowiadałam za kontakt z redakcją czasopisma).

5. (H5) Pruszkowska-Przybylska, P., Kobus, M., Żądzińska, E., Rosset, I., Pruszkowska, M., Kuczyński, W., & Sitek, A. (2023). The age difference in 2D: 4D among the Polish population: An exploratory study. *Anthropological Review*, 86(4), 99-110. (IF=0; MNiSW=140 pkt) <https://doi.org/10.18778/1898-6773.86.4.08>

Wkład: Byłam wiodącym autorem pracy. Zaprojektowałam badanie (problemy badawcze cele i hipotezy - **Pierwsza na świecie próba porównania stabilności wzorca palcowego 2D:4D w ujęciu międzypokoleniowym w polskiej kohorcie**), zbierałam materiał (pomiar antropometryczne), wykonałam analizy statystyczne, wyciągnęłam ostateczne wnioski oraz przygotowałam wersję roboczą i ostateczną manuskryptu, byłam autorem korespondencyjnym (odpowiadałam za kontakt z redakcją czasopisma).

6. (H6) Pruszkowska-Przybylska, P., Dupont, M. E., Jacobsen, S. B., Smerup, M., Tfelt-Hansen, J., Morling, N., & Andersen, J. D. (2024). Evaluation of DNAmAge in paired fresh, frozen, and formalin-fixed paraffin-embedded heart tissues. *Plos one*, 19(5), e0299557. (IF=3,24; MNiSW=100 pkt.) <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299557>

Wkład: Byłam wiodącym autorem pracy. Miałam współudział w zaprojektowaniu badania (problemy badawcze cele i hipotezy - **Pierwsza na świecie ocena wieku epigenetycznego**

wykorzystując próbki tkanki serca w trzech formach: świeża, zamrożona, w bloczkach parafinowych), drogą konkursu (MINIATURA 5 (NCN), nr 2021/05/X/NZ1/01049) otrzymałam finansowanie na pobyt w jednostce Section of Forensic Genetics, Department of Forensic Medicine, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, aby przeprowadzić badania, wykonałam analizy bioinformatyczne (wyliczenie wieku epigenetycznego DNAmAge) i statystyczne, wyciągnęłam ostateczne wnioski oraz przygotowałam wersję roboczą i ostateczną manuskryptu, byłam autorem korespondencyjnym (odpowiadałam za kontakt z redakcją czasopisma podczas pracy nad kolejnymi wersjami manuskryptu)

7. (H7) Pruszkowska-Przybylska, P., Noroozi, R., Rudnicka, J., Pisarek, A., Wronka, I., Kobus, M., Wysocka, B., Ossowski, A., Spólnicka, M., Wiktorska, J., Iljin, A., Pośpiech, E., Branicki, W. & Sitek, A. (2024). Potential Predictor of Epigenetic Age Acceleration in Men: 2D: 4D Finger Pattern. *American Journal of Human Biology*, e24151. (IF=1,6; MNiSW=70 pkt.) <https://doi.org/10.1002/ajhb.24151>

Wkład: Byłam wiodącym autorem pracy. Zaprojektowałam badanie (problemy badawcze cele i hipotezy – **Pierwsza na świecie próba powiązania 2D:4D z wiekiem epigenetycznym**), zbierałam materiał (pomiar antropometryczny), wykonałam analizy statystyczne, wyciągnęłam ostateczne wnioski oraz przygotowałam wersję roboczą i ostateczną manuskryptu.

Tabela 1. Podsumowanie informacji biblio-metrycznych (Dane z dnia 21.10.2024 r.).

Artykuł	MNiSW	IF	IF – 5 letni	CiteScore - Top 10%	Liczba cytowania (Web of Science)
H1	140	4,379	5,133	+	7
H2	100	3,24	3,3	+	11
H3	140	4,379	5,133	+	5
H4	140	4,997	5,516	+	4
H5	140	0	0	-	0
H6	100	2,9	3,3	-	0
H7	70	1,6	2,2	+	0
Suma	830	22,007	24,582	5	27

Oświadczenia współautorów publikacji składających się na osiągnięcie habilitacyjne oraz kopie publikacji zostały umieszczone w załącznikach: (oświadczenia współautorów - Załącznik 5, kopie publikacji - Załącznik 6).

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

c.1 Wprowadzenie

Niniejsze osiągnięcie habilitacyjne będące zbiorem siedmiu prac naukowych skupia się na tematyce powiązań wskaźnika palcowego 2D:4D z różnorodnymi cechami fenotypowymi człowieka, jak i wyjaśnieniu związku wieku epigenetycznego matki z przebiegiem ciąży, a także zbadaniu związku zmian epigenetycznych ze wskaźnikiem palcowym 2D:4D. Dodatkowo w osiągnięciu habilitacyjnym znalazła się również praca metodyczna, w której zweryfikowano, czy sposób przechowywania próbek i rodzaj tkanki mogą wpływać na obliczany wiek epigenetyczny.

Programowanie fizjologii człowieka to bardzo ważna część współczesnych badań auksologicznych. Pojęcie programowania dzięki rozwojowi nauki zyskuje coraz szersze znaczenie. Po pierwsze możemy je rozumieć jako programowanie na poziomie prenatalnym, po drugie w szerszym ujęciu epigenetycznym. Środowisko życia matki tj. m.in. jej dieta, tryb życia, czy wreszcie stężenie i proporcja jej hormonów stwarza pewien wzorzec dla rozwoju i kształtuje fizjologię potomstwa już na tym etapie. Znany od wielu lat uniwersalnym wskaźnikiem proporcji hormonów prenatalnych jest wskaźnik palcowy 2D:4D, czyli stosunek długości palca drugiego (wskazującego 2D) do czwartego (serdecznego 4D) (Lutchmaya i in. 2004). Większa ekspozycja w okresie prenatalnym na testosteron wpływa na przyspieszoną proliferację chondrocytów palca czwartego, co powoduje szybsze wzrastanie tego palca w efekcie dając tzw. wzorzec męski, kiedy 2D:4D ma wartości niższe. Natomiast przy większej ekspozycji na prenatalny estrogen (niższe wartości testosteronu) namnażanie się chondrocytów nie jest tak intensywne, skutkując wyższymi wartościami wskaźnika 2D:4D dając tzw. wzorzec żeński (Manning et al. 1998; Zheng, Z. & Cohn, 2011). Wzorzec ten ustala się pod koniec pierwszego trymestru ciąży (Malas i in. 2006, Garn i in. 1975) i wydaje się być stały przez całe życie (Körner i in. 2020; Manning et al. 1998). Jednak wbrew tej hipotezie istnieją badania na gryzoniach (Huber i in. 2017) i ludziach (Hickey i in. 2010; Hollier i in. 2015; Çetin i in. 2016; Richards i in. 2020; Richards 2021), które zaprzeczają, że prenatalny testosteron wpływa na długość palca wskazującego i serdecznego. Badania wskazują także, że ekspozycja na hormony prenatalne nie wywiera wpływu na stężenie hormonów w późniejszym życiu, co wykazano poprzez brak związku pomiędzy wskaźnikiem palcowym 2D:4D, a stężeniem hormonów płciowych w dorosłym życiu (Kowal i in. 2020; Hönekopp i in. 2007).

Wskaźnik palcowy wyliczany jako proporcja długości palca wskazującego (2D) i serdecznego (4D) wymaga jedynie pomiaru długości palców, co czyni go nieinwazyjnym, szybkim i tanim sposobem oceny proporcji płciowych hormonów prenatalnych. Przy jego pomocy może być oceniona pewna pula cech biologicznych, poznawczych i behawioralnych, a także stan zdrowia w późniejszym życiu. Literatura przedmiotu podaje korelacje między 2D:4D a takimi cechami/parametrami jak: jakość plemników (Manning i in. 1998), masa ciała (Kozieł i in. 2018), proporcje ciała (Barut i in. 2008), skład ciała (Pruszkowska-Przybylska i in. 2018), pigmentacja skóry (Manning i in. 2004; Sitek i in. 2018), sprawność fizyczna (Kozieł i in. 2017), wiek wystąpienia pierwszej miesiączki (Matchock, 2008; Manning i Fink, 2011a), ryzyko autyzmu (Hönekopp, 2012), orientacja seksualna (Lippa, 2003; Lippa, 2006; Manning i in. 2024), podatność na ryzykowne spożywanie alkoholu (Lenz i in. 2018), dominujący charakter (Manning i Fink, 2008), zachorowanie na migrenę (Kobus in. 2021), zachowania agresywne (Manning i Wood, 1998b), a nawet zainteresowania zawodowe (Hell i Päßler, 2011; Kozieł i in. 2018).

Nie do końca wyjaśniona kwestia dotyczy lateralizacji wskaźnika 2D:4D. Metaanaliza przeprowadzona przez Hönekoppa i in. (2010) na ponad 70 wcześniejszych badaniach wykazała jednocześnie różnice płciowe dla prawej i lewej ręki. Wskazali, że dla 2D:4D (prawa ręka) odchylenie standardowe było większe o ok. 0,13 niż dla lewej ręki. Jednak efekt był niewielki. Od tego czasu wyniki te nie zostały powtórzone. Autorzy wyjaśnili, że przyczyną może być błąd pomiaru, efekt allometrii lub swoistość reakcji na prenatalne hormony płciowe – receptory na palcach prawej dłoni mogą być bardziej podatne na testosteron niż na dłoni lewej. Biorąc pod uwagę powyższe rozważania, różnice pomiędzy lewą i prawą ręką mogą być cechą specyficzną dla populacji.

Wraz z rozwojem genetyki w ostatnich latach obserwowany jest dynamiczny przyrost wiedzy w zakresie badań epigenetycznych, a w szczególności w obszarze skupionym na wieku biologicznym człowieka. Intuicyjnie od zawsze obserwowano brak zbieżności wieku kalendarzowego z biologicznym u niektórych osób i niejednokrotnie koincydencję tych dwóch z interakcją środowiskową. We współczesnych badaniach wykorzystuje się modyfikacje chemiczne genomu powstające jako efekt interakcji ze środowiskiem m in. tzw. metylacje będące miernikiem tempa starzenia. Metylacje to po-replikacyjne zmiany DNA polegające na przyłączeniu grupy metylowej do cytozyny najczęściej poprzedzającej nukleotyd guaninowy

lub w obrębie wysp CpG. Metylacja DNA wpływa na procesy takie jak: imprinting genomowy, rozwój embrionalny, czy transkrypcja (Moore i in. 2013).

Badane są różnorodne czynniki i ich wpływ na poziom metylacji. W 2013 roku po raz pierwszy stworzono algorytm wykorzystujący metylacje konkretnych miejsc CpG genów, który estymuje wiek biologiczny człowieka (Horvath, 2013). Na ten moment istnieje wiele tego typu algorytmów tworzonych w dwóch nurtach: maksymalizacja korelacji z wiekiem kalendarzowym – co jest szczególnie istotne w celach kryminalistycznych, i drugi trend: wyselekcjonowanie wszystkich odstępstw od wieku kalendarzowego – dla potrzeby obliczania wieku biologicznego człowieka, aby móc ocenić kondycję biologiczną człowieka niezależnie od wieku kalendarzowego.

Wiedząc, że hormony prenatalne kształtują pewne cechy w późniejszym życiu można zastanawiać się czy poprawnym byłoby uznanie ekspozycji na proporcję prenatalnych hormonów płciowych jako jeden z czynników przyspieszających, czy też zwiększających liczbę metylacji, a tym samym wpływający na wiek epigenetyczny człowieka.

c.2 Uzasadnienie podjętego tematu

Moje zainteresowania naukowe już od czasów studenckich znajdowały się na styku dwóch obszarów badawczych: genetyki i aukuologii medycznej.

Liczne współpracy międzynarodowe i krajowe zaowocowały tym, że dokonania habilitacyjne koncentrują się wokół dwóch zagadnień badawczych: wskaźnika palcowego 2D:4D oraz wieku epigenetycznego. Badania dotyczące wieku epigenetycznego oraz proporcji palcowej 2D:4D wciąż się rozwijają, jednak potrzebne są dane pochodzące od jak największej liczby populacji i sprawdzające nowe fenotypy tak, aby obraz ten był wiarygodny i dokładny. W swoich badaniach zajęłam się poszukiwaniem nowych zależności w tych dwóch obszarach.

Podjęłam się także nowatorskiego tematu łączącego jednocześnie dwa nurty badawcze - szukałam powiązania wieku epigenetycznego z proporcją prenatalnych hormonów płciowych. Dodatkowo w zestawieniu pojawia się aspekt metodyczny, który w świetle coraz liczniejszych badań epigenetycznych daje pewien pogląd na to, że rodzaj stosowanej metody przechowywania próbek poddawanych analizie może wpływać na obliczany wiek epigenetyczny. Powstałe prace stanowią spójny tematycznie zbiór badań dotyczących wskaźnika palcowego 2D:4D oraz wieku epigenetycznego i ich znaczenia w kształtowaniu różnorodnych cech fenotypowych człowieka na różnych etapach ontogenezy.

Podczas prowadzenia badań stanowiących osiągnięcie habilitacyjne sformułowałam następujące cele i hipotezy badawcze:

c.3 Cele ogólne i hipotezy badawcze

1. Wykazanie zależności między wzorcem palcowym a różnorodnymi cechami fenotypowymi w tym: predyspozycją do chorób tarczycy, siłą mięśni, parametrami urodzeniowymi, poziomem witaminy D, kortyzolu i składem ciała.

Hipoteza: Wskaźnik palcowy 2D:4D może być wyznacznikiem ryzyka chorób tarczycy, siły mięśni, wielkości i składu ciała oraz poziomu witaminy D i kortyzolu.

2. Zbadanie czy wskaźnik 2D:4D jest stabilny pomiędzy grupami zróżnicowanymi wiekowo.

Hipoteza: Wskaźnik 2D:4D wykazuje zróżnicowanie międzypokoleniowe.

3. Wykazanie związku tempa starzenia epigenetycznego z zaburzeniami w przebiegu ciąży.

Hipoteza: Podwyższony wiek epigenetyczny może zwiększać ryzyko ciąży powikłanej.

4. Sprawdzenie czy sposób przechowywania materiału biologicznego i rodzaj tkanek, z których został pobrany wpływają na wiek epigenetyczny.

Hipoteza: Sposób przechowywania materiału biologicznego i rodzaj użytej tkanki wpływają na wartość estymowanego wieku epigenetycznego.

5. Powiązanie wieku epigenetycznego ze wzorcem palcowym 2D:4D.

Hipoteza: Wskaźnik 2D:4D wraz z wiekiem epigenetycznym mogą stanowić markery starzenia biologicznego człowieka.

Tabela 2. Cele szczegółowe.

Lp.	Artykuł	Cel szczegółowy	Wyniki	Rodzaj programowania
		Wykazanie zależności między wzorcem palcowym a różnorodnymi cechami fenotypowymi w tym: predyspozycją do chorób tarczycy, siłą mięśni, parametrami urodzeniowymi, poziomem witaminy D, kortyzolu, składem ciała i cechami matczynymi.		
H1	Associations between second to	Ocena powiązań między kortyzolem,	Chłopcy z typowym dla mężczyzn	Prenatalna ekspozycja

	fourth digit ratio, cortisol, vitamin D, and body composition among Polish children	witaminą D oraz składem ciała a wskaźnikiem 2D:4D.	wzorcem 2D:4D mieli niższe stężenie witaminy D w ślinie. Stężenie kortyzolu oraz skład ciała nie okazał się istotnie związany ze wskaźnikiem 2D:4D.	na hormony płciowe
H2	Association of prenatal sex steroid exposure estimated by the digit ratio (2D:4D) with birth weight, BMI and muscle strength in 6- to 13-year-old Polish children	Ustalenie czy proporcje steroidów płciowych w czasie ciąży mają wpływ na parametry urodzeniowe oraz wielkość ciała i siłę mięśni u dzieci.	Masa urodzeniowa była istotnie ujemnie skorelowana ze wskaźnikiem 2D:4D u dzieci (wzorzec męski). Wyższe (żeńskie) wartości 2D:4D były istotnie dodatnio skorelowane z masą ciała, BMI oraz obwodem talii i bioder dzieci w wieku 6-13 lat, natomiast niższe wartości 2D:4D (męskie) były istotnie ujemnie skorelowane z siłą mięśni dłoni.	Prenatalna ekspozycja na hormony płciowe
H3	Thyroid diseases and second to fourth digit ratio in Polish adults	Wykazanie związku między wskaźnikiem 2D:4D a chorobami tarczycy, biorąc pod uwagę wskaźnik masy ciała (BMI) i stosunek talii do bioder (WHR).	Kobiety cierpiące na choroby tarczycy miały wyższe wartości wskaźnika 2D:4D w przypadku lewej ręki.	Prenatalna ekspozycja na hormony płciowe
	Zbadanie czy wskaźnik 2D:4D jest stabilny pomiędzy grupami zróżnicowanymi wiekowo.			

H4	The age difference in 2D:4D among the Polish population: An exploratory study	Ocena różnic w stosunku 2D:4D pomiędzy płciami i trzema grupami wiekowymi: dzieci (6-13 lat), młodzi dorośli (18-29) i dorośli (powyżej 30 lat).	U kobiet wskaźnik palcowy 2D:4D prawej ręki był dodatnio skorelowany z wiekiem. Zaobserwowano także istotne różnice w proporcjach 2D:4D pomiędzy grupami wiekowymi.	Prenatalna ekspozycja na hormony płciowe
Wykazanie związku tempa starzenia epigenetycznego z zaburzeniami w przebiegu ciąży.				
H5	Evaluation of epigenetic age calculators between preeclampsia and normotensive pregnancies in an Australian cohort.	Zbadanie czy wiek epigenetyczny (DNAmAge) jest przyspieszony u kobiet z preeklampsją w porównaniu z kobietami zdrowymi.	Wykazano, że DNAmAge jest zwiększone u kobiet z PE w niektórych zegarach epigenetycznych w porównaniu z kobietami zdrowymi.	Epigenetyczne Metylacje DNA
Sprawdzenie czy przechowywanie materiału i rodzaj tkanek wpływają na wyniki otrzymanego wieku epigenetycznego.				
H6	Evaluation of DNAmAge in paired fresh, frozen, and formalin-fixed paraffin-embedded heart tissues.	Zbadanie czy sposób przechowywania próbek ma wpływ na otrzymane wartości wieku epigenetycznego (DNAmAge) oraz czy istnieje taka różnica pomiędzy tkanką mięśnia sercowego, a krwią.	Próbki tkanki sercowej zatopione w parafinie (FFPE) wykazały niższy DNAmAge w porównaniu z próbkami zamrożonymi i świeżymi. Dodatkowo DNAmAge tkanki serca było niższe niż krwi.	Epigenetyczne (metylacje DNA)
Powiązanie wieku epigenetycznego ze wzorcem palcowym 2D:4D.				
H7	Potential predictor of epigenetic age acceleration in men: 2d:4d finger pattern	Zbadanie zależności między stosunkiem palcowym 2D:4D a wiekiem	Wzorec żeński (2D: 4D większy lub równy 1) u mężczyzn jest	Epigenetyczne (metylacje DNA)

		epigenetycznym i tempem starzenia opartym na metylacjach DNA.	powiązany z przyspieszeniem wieku epigenetycznego.	oraz prenatalna ekspozycja na hormony płciowe
--	--	---	--	---

c.4 Materiały i metody

Materiał Badawczy

Materiał badawczy stanowiły dane pozyskane ze zróżnicowanych grup:

- Grupa dziecięca województwa łódzkiego (n=172) zebrana w latach 2015-2017
- Populacja dorosłych Polaków (n=342) zebrana w latach 2020-2021
- Grupa australijskich kobiet (n=176) zebrana w latach 2007- 2011
- Populacja duńska (n=10) zebrana w 2021 roku

Metody

Pomiary 2D:4D

Długość palca drugiego (2D, wskazującego) i czwartego (4D, serdecznego) mierzono przez pomiar bezpośredni od środka zgięcia proksymalnej części dłoni (pseudophalangion (pph) do czubka palca (dactylion (da)) z dokładnością do 0,001 m za pomocą cyrkla liniowego (Verniera). Wszystkie pomiary powtórzono dwukrotnie i przyjęto wartość średnią, aby zminimalizować błąd pomiaru.

Pomiary przeprowadziłam samodzielnie wraz z zespołem Katedry Antropologii, przy użyciu sprzętu Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska.

Analizy laboratoryjne

Witamina D, poziom kortyzolu.

Część laboratoryjna obejmowała badania stężenia witaminy D i kortyzolu w ślinie metodą enzymatyczną (ELISA).

Analizy przeprowadziłam samodzielnie przy użyciu sprzętu Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska

Przygotowanie próbek tkanki mięśnia sercowego

Tkankę ludzkiego prawego przedsionka pobrano od 10 osób: 9 mężczyzn i 1 kobiety (średni wiek: 66,5, SD = 9,1), które przeszły planową operację kardiologiczną w Rigshospitalet w Kopenhadze, (Dania) w dniach 2–23 czerwca 2021 r. Wszystkie próbki podzielono na trzy części: jedną część wykorzystano do ekstrakcji DNA bezpośrednio po pobraniu tkanki (tkanka świeża), drugą zamrożono w temperaturze -80°C (tkanka zamrożona), a ostatnią część utrwalono w formalinie i zatopiono w parafinie (tkanka FFPE).

Od każdego pacjenta pobierano krew na dzień przed planowaną operacją kardiologiczną. W sumie zebrano 4 ml krwi pełnej do probówek z EDTA.

Metylacje DNA - EPIC array

Wszystkie analizy metylacyjne zostały przeprowadzone przy użyciu macierzy Illumina EPIC Infinium.

a) Kohorta australijska

Pathwest Laboratory Medicine (Perth, Australia Zachodnia).

b) Kohorta dorosłych Polaków

Małopolskie Centrum Biotechnologiczne Malopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University.

c) Kohorta duńska

Section of Forensic Genetics, Department of Forensic Medicine, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen.

Wylizanie wieku epigenetycznego

a) Kohorta australijska

W analizach bioinformatycznych uwzględniono sześć zegarów epigenetycznych do wyliczenia DNAmAge: Horvath (Horvath i in. 2013), Hannum (Hannum i in. 2013), Levine (PhenoAge) (Levine in. 2018), DNAmAge Skin&Blood (Horvath2) (Horvath i in. 2018), Wu (Wu i in. 2019) i TL (Lu i in. 2019). Wiek epigenetyczny obliczono przy użyciu znormalizowanych przez metodę BMIQ wartości β metylacji DNA wykorzystując pakiet metyloclock przy pomocy oprogramowania R. Dodatkowo obliczono GrimAge jako sumę 8 biomarkerów opartych na metylacji DNA dla białek osocza i zgłaszanego przez pacjentów palenia papierosów (liczba wypalonych paczek rocznie) (Ross i in. 2020).

Dla sześciu (z wyłączeniem TL) z siedmiu miar DNAmAge obliczono trzy biomarkery przyspieszenia wieku epigenetycznego. Należą do nich: różnica między wiekiem epigenetycznym a wiekiem chronologicznym (Δ DNAmAge), przyspieszenie wieku epigenetycznego (EAA) (wyliczone jako reszty z regresji liniowej wieku chronologicznego dla każdej miary wieku epigenetycznego, oraz wewnętrzne przyspieszenie wieku epigenetycznego (IEAA) (które reprezentuje reszty z wieloczynnikowej regresji liniowej, dla każdego wyniku miara DNAmAge).

Analizy wieku epigenetycznego przeprowadziłam samodzielnie wraz z Philipem Meltonem.

b) Kohorta dorosłych Polaków

Przed obliczeniem wieku epigenetycznego przeprowadzono podstawową kontrolę jakości wygenerowanych danych dotyczących metylacji DNA przy użyciu oprogramowania GenomeStudio (Methylation Module v1.8, Illumina Inc, 2008; Illumina, 2010). Dalszą kontrolę jakości, etapy wstępnego przetwarzania i normalizację przeprowadzono przy użyciu oprogramowania R 4.2.2 (pakiety minfi i RnBeads R). Wartości beta metylacji wygenerowano przy użyciu pakietu Bioconductor minfi z korekcją tła normalizacji ssNoob.

Wiek epigenetyczny obliczono za pomocą internetowego kalkulatora Horvath Online <https://dnamage.clockfoundation.org/>. Wybrane w badaniu zegary epigenetyczne to: DNAmAge , DNAmAge Hannum, DNAmAge Skin&Blood, DNAm PhenoAge, DNAm GrimAge oraz ujemnie skorelowane z algorytmem starzenia komórkowego DNAmTL.

Obliczono odpowiednie miary przyspieszenia wieku epigenetycznego dla wszystkich miar DNAmAge: (EAA) przyspieszenie wieku epigenetycznego (EAA) oraz wewnętrzne przyspieszenie wieku epigenetycznego (IEAA).

d) Kohorta duńska

Do analizy metylacji wykorzystano pakiet R (wersja 4.2.2) – Rnbeads w celu przeprowadzenia kontroli jakości i normalizacji BMIQ. Wiek epigenetyczny obliczono przy użyciu znormalizowanych przez metodę BMIQ wartości β metylacji pakietu Bioconductor uwzględniając następujące zegary epigenetyczne: Horvath (Horvath i in. 2013), Hannum (Hannum i in. 2013), Levine (PhenoAge) (Levine in. 2018), DNAmAge Skin&Blood (Horvath2) (Horvath i in. 2018), PedBE (McEwen i in. 2020), Wu (Wu i in. 2019), BLUP (Zhang i in. 2019), EN (Zhang i in. 2019) i TL (Lu i in. 2019).

Analizy wieku epigenetycznego przeprowadziłam samodzielnie.

c.5 Wyniki wraz z omówieniem ewentualnego wykorzystania

Wyniki badań zebranych w zaprezentowanym zestawieniu habilitacyjnym dają odpowiedzi na pytania dotyczące związku wskaźnika palcowego 2D:4D z licznymi cechami biologicznymi człowieka w tym z wiekiem epigenetycznym i kalendarzowym. Zmiany metylacyjne genomu to druga główna składowa badań, w której nie tylko wykazano związek wieku epigenetycznego ze wskaźnikiem palcowym, ale i z ryzykiem ciąży powikłanej, a także zweryfikowano, czy sposób przechowywania próbek do badań wpływa na wyniki obliczanego wieku epigenetycznego.

c.5.1 Związki wskaźnika 2D:4D z licznymi cechami fenotypowymi człowieka

Wskaźnik 2D:4D jako wyznacznik proporcji prenatalnych steroidów płciowych wydaje się mieć coraz większe znaczenie w przewidywaniu pewnych cech fenotypowych człowieka. Ekspozycja na dominujące stężenie testosteronu lub estrogenów w trakcie rozwoju prenatalnego ma istotny wpływ na przebieg kolejnych faz ontogenezy regulując tor rozwojowy niektórych cech. Dominujące hormony mogą bowiem wpływać na ekspresję genów rzutując na pewne zmiany w fenotypie.

Badania na mysich modelach Zhenga i Cohna w 2011 roku wykazały na palcu czwartym obecność większej ilości receptorów dla androgenów (AR) niż dla estrogenów (ER- α). Poprzez nadmiar androgenów dochodzi do wzmożonej pracy chondrocytów na palcu czwartym powodując jego wydłużenie. Proliferacja komórek chrzęstnych pozostaje pod kontrolą genów homeotycznych: Hoxa i Hoxd (Mortlock i Innis, 1997) odpowiadających jednocześnie za rozwój gonad (Manning i in. 1998a). W związku z tym receptory AR są konieczne do rozwoju męskiego/niskiego stosunku 2D:4D, natomiast receptory ER- α warunkują rozwój żeńskiego/wysokiego stosunku 2D:4D. Zatem stosunek długości 2D do 4D można zaklasyfikować do dwóch wzorców: męskiego, gdy $2D:4D < 1$ i żeńskiego, gdy $2D:4D \geq 1$ (Zheng i Cohn, 2011).

c.5.1.1 Ekspozycja na estrogeny prenatalne

Ekspozycja płodowa na hormony żeńskie wiąże się z szeregiem konsekwencji. Estrogeny to hormony o charakterze anabolicznym silnie skorelowane z rozbudową tkanki tłuszczowej, co ma swoje konsekwencje w dalszym rozwoju człowieka. Wiele zespołów naukowych badało związek pomiędzy wzorcem żeńskim wskaźnika palcowego a urodzeniową masą ciała, BMI, czy obwodami ciała na późniejszych etapach ontogenezy. Wyniki nie są jednak jednoznaczne. Jednocześnie badacze wykazali związek pomiędzy wzorcem palcowym żeńskim a wyższym BMI i obwodami talii i bioder (Rich-Edwards i in. 2005, Bagepally i in. 2020, Bazaes i in. 2004, Pruszkowska-Przybylska i in. 2018), jak i niektórzy nie potwierdzili tego związku (Muller i in. 2020; Jägetoft i in. 2022). Wciąż brakuje danych dla polskiej grupy dziecięcej. W odniesieniu do związku masy urodzeniowej ze wskaźnikiem 2D:4D wyraźnie brakuje badań na różnorodnych populacjach. Danborn i in. (2010) na populacji nigeryjskiej wykazali ujemną korelację pomiędzy masą urodzeniową a wskaźnikiem palcowym u chłopców (lewa dłoń), natomiast u dziewcząt była ona pozytywna (lewa i prawa dłoń). Ronalds i in. (2002) w badaniach na grupie angielskich dzieci oraz Eichler i in. (2018) na grupie niemieckich dzieci nie wykazali istotnie statystycznego powiązania pomiędzy masą urodzeniową a wskaźnikiem palcowym. W pracy **H3** zbadalam **asocjację pomiędzy wskaźnikiem 2D:4D a masą**

Cel szczegółowy:

Ustalenie czy proporcje sterydów płciowych w czasie ciąży mają wpływ na parametry urodzeniowe oraz wielkość ciała.

urodzeniową BMI, obwodem talii i bioder u dzieci w wieku 6-13 lat. Wykazałam, że u dzieci ze wzorcem palcowym żeńskim BMI obwód talii i bioder miały większe wartości, a masa urodzeniowa niższe wartości niż u tych ze wzorcem męskim dłoni. Wyniki te znacząco

wzbogacają stan nauk biologicznych o **dane** dla polskiej grupy dzieci. Należy podkreślić, że **wyniki te potwierdzają hipotezę oszczędnego genotypu** (Neel 1962) i **fenotypu** (Hales & Barker 1992) głoszącą, iż niska masa urodzeniowa wiąże się z ryzykiem wystąpienia zaburzeń metabolicznych w późniejszym życiu. Ze względu na deficyty masy metabolizm zaczyna działać wg. „oszczędnego trybu” skutkując nadmierną akumulacją tkanki tłuszczowej w późniejszym życiu - **co potwierdzają moje wyniki badań - wskaźnik 2D:4D dodatkowo korelował z BMI** u dzieci w wieku 6-13 lat i **ujemnie z masą urodzeniową.**

Wśród wielu badań omawiających asocjację między wskaźnikiem palcowym a niektórymi chorobami człowieka brakuje badań sprawdzających związek z chorobami tarczycy. Związek między prenatalnym programowaniem funkcji tarczycy a hormonami płciowymi pozostaje

niejasny, jednak Wilcoxon i Redei (2004) twierdzą, że czynność tarczycy jest programowana w okresie prenatalnym i może być regulowana przez steroidy płciowe w wieku dorosłym.

Hormony tarczycy są transportowane przez specyficzne białko: globulinę wiążącą tyroksynę (TBG). Estrogen powoduje wzrost stężenia TBG, co prowadzi do wzrostu stężenia hormonu tarczycy (T4). Istnieją jednak dowody na to, że zaburzenia tarczycy mogą być konsekwencją bezpośredniego wpływu estrogenów na oś podwzgórze-przysadka-tarczyca (HPT) i nie mieć związku z TBG m.in. w przypadku podwyższonego TSH (Benvenga i in. 2018; Moreira i in. 2003).

W literaturze można znaleźć badania dotyczące aktualnej proporcji hormonów płciowych i ryzyka chorób tarczycy. Podwyższony poziom estrogenów wydaje się występować częściej u osób z niedoczynnością tarczycy (Arduc i in. 2015) zwłaszcza u kobiet (Schmidt i in. 2017). Niektóre badania wykazały jednak, że to właśnie podwyższony poziom androgenów może mieć związek z niedoczynnością tarczycy. W badaniach na szczurach wykazano również, że u kobiet z niższym poziomem estrogenów w okresie menopauzalnym częściej występowała niedoczynność tarczycy (wyższy poziom androgenów obserwowany jest także u kobiet z zespołem policystycznych jajników (PCOS) (Schmidt i in. 2011).

Dodatkowo istnieją pewne podejrzenia, że podwyższony poziom testosteronu może mieć związek z nadmierną pracą tarczycy co wykazano u chińskich pacjentów płci męskiej (Li i in. 2010).

W badaniach na grupie **dorosłych Polaków (H2)** po raz pierwszy wykazałam, że **kobiety z wyższym wskaźnikiem 2D:4D** (lewa ręka) w wieku 30-70 lat **częściej** dotknięte są **chorobami tarczycy**. Co potwierdza wnioski wysnute przez Tabachnika i in. (2020), którzy po raz pierwszy powiązali problematykę wskaźnika palcowego i zaburzeń pracy tarczycy otrzymując również wyższe wskaźniki 2D:4D u izraelskich kobiet z chorobami tarczycy.

Cel szczegółowy:

Wykazanie związku między wskaźnikiem 2D:4D a chorobami tarczycy, biorąc pod uwagę wskaźnik masy ciała (BMI) i stosunek talii do bioder (WHR).

Proporcja pomiędzy palcem wskazującym a serdecznym ustala się już w życiu płodowym około trzynastego tygodnia (Garan i in. 1975) i wydaje się być stabilna przez całe życie (Körner i in. 2020; Manning et al. 1998a). Jednakże, do czasu osiągnięcia dojrzałości płciowej obserwuje się nieznaczny wzrost wskaźnika wraz z wiekiem (Trivers et al. 2006; McIntyre i

in. 2006). Jednocześnie badania przeprowadzone przez Richardsa i in. (2017) wykazały, że 2D:4D wśród dorosłych mężczyzn koreluje negatywnie z wiekiem.

Kobus i in. (2021) nie wykazali statystycznie istotnej korelacji między 2D:4D obserwowanej między pokoleniami w grupie Polaków w wieku 18–76 lat. Podobnie jak Manning i Fink (2018) zaprezentowali nieistotny wpływ wieku i brak interakcji z płcią na 2D:4D u dzieci i dorosłych w wieku 2-30 lat.

W badaniach **H4** przeprowadziłam analizę pomiędzy **trzema grupami wiekowymi** (dzieci 6-13 lat, młodzi dorośli 18-29 lat, dorośli > 29 lat) i **wykazałam, że grupa młodych dorosłych (18-29 lat) miała istotnie większe wartości wskaźnika niż dzieci w wieku 6-13 lat.** Wyniki te podkreślają **potrzebę kontrolowania wieku** w badaniach

Cel szczegółowy:

Ocena różnic w stosunku 2D:4D pomiędzy płciami i trzema grupami wiekowymi: dzieci (6-13 lat), młodzi dorośli (18-29) i dorośli (powyżej 30 lat).

wskaźnika 2D:4D na polskiej populacji. Do podobnych wniosków doszli Kyriakidis i in. (2021), którzy zaprezentowali na greckiej grupie, że osoby w wieku 38–63 lat miały znacznie wyższy stosunek 2D:4D w porównaniu z grupą w wieku <38 i ≥64 lat.

Analizując epigenom i obliczając **wiek epigenetyczny po raz pierwszy** powiązałam go ze **wskaźnikiem 2D:4D (H7)**. Wykazałam, że **mężczyźni ekspozowani na żeńskie hormony** w okresie płodowym są bardziej narażeni na **przyspieszone starzenie**, co zostanie szczegółowo opisane w części pracy dotyczącej epigenetyki.

c.5.1.2 Ekspozycja na testosteron prenatalny

Zwiększona ekspozycja prenatalna na testosteron również wiąże się z pewnymi długofalowymi konsekwencjami metabolicznymi. Testosteron to hormon przyspieszający rozrost tkanki mięśniowej. Zgodnie z tą prawidłowością zauważono pewne zależności między bardziej męskim wzorcem palcowym a masą mięśniową (Pruszkowska-Przybylska i in. 2018) i ich siłą (Tomkinson i Tomkinson, 2017; Ranson i in. 2015; Peeters i in. 2013). Ranson i in. (2015) przeprowadzili badania na 1776 walijskich dzieciach w wieku 8-12 lat i wykazali, że chłopcy o bardziej męskim wzorcu mają większą siłę uścisku dłoni. Podobne wyniki na grupie chłopców uzyskali Tomkinson i Tomkinson (2017), którzy wykazali, że żeńskie wartości 2D:4D były związane ze słabszą siłą uścisku prawej dłoni u 57 amerykańskich chłopców (odmiana kaukaska). Jednakże w grupie 316 irańskich chłopców w wieku 7–13 lat nie stwierdzono istotnych korelacji siły uścisku dłoni z 2D:4D (Eghbali, 2016). Podobnie w grupie

178 flamandzkich dziewcząt w wieku 13-18 lat nie wykazano związku między wzorcem palcowym, a siłą uścisku dłoni (Peeters i in. 2013).

W badaniach **H3 po raz pierwszy na kohorcie 1148 polskich dzieci** wykazałam, iż zarówno u **chłopców i dziewcząt** w wieku 6-13 lat o **męskim wzorcu prawej dłoni** obserwuje się **większą siłę mięśni**. W przypadku wskaźnika 2D:4D dla lewej dłoni istotną statystycznie zależność otrzymałam tylko u **chłopców**.

Cel szczegółowy:

Ustalenie czy proporcje sterydów płciowych w czasie ciąży mają wpływ na parametry urodzeniowe oraz wielkość ciała i siłę mięśni u dzieci.

Zwiększona ekspozycja na testosteron może także mieć związek z poziomem witaminy D. W swoich badaniach **H1** wykazałam, że **niższe wartości 2D:4D** wiążą się ze **spadkiem poziomu**

Cel szczegółowy:

Ocena powiązań między kortyzolem, witaminą D oraz składem ciała, a wskaźnikiem 2D:4D.

witaminy D u chłopców w wieku 6-13 lat. Były to **pierwsze badania** korelujące te zmienne wykorzystując wskaźnik 2D:4D. Fitzgerald i in. (2018) wykazali słaby negatywny związek między stężeniem witaminy D i testosteronem wśród chłopców w wieku 15–18 lat, podczas gdy Pilz i in. (2011) zasugerowali,

że suplementacja witaminą D zwiększa poziom testosteronu u mężczyzn. Sugerowano, że związek między stężeniem testosteronu i witaminy D jest związany z receptorami witaminy D (VDR) w komórkach Leydiga w jądrach, które wytwarzają testosteron (Al-Dujalili i in. 2016). Przeciwnie wnioski w badaniach mogą wynikać z etapu ontogenezy badanych chłopców (7–11 lat). Poziom witaminy D u chłopców przed okresem dojrzewania może sam w sobie nie być bezpośrednio powiązany z aktualnym stężeniem testosteronu ze względu na niedojrzałe gruczoły płciowe bez w pełni rozwiniętych receptorów witaminy D. Warto zauważyć, że Heijboer i in. (2015) oraz Lerchbaum i in. (2017) wykazali, że suplementacja witaminą D nie była powiązana ze wzrostem poziomu testosteronu.

c.5.2 Wiek epigenetyczny – novum w rozumieniu wieku biologicznego człowieka

Człowiek intuicyjnie od dawien zauważał, że nie wszyscy ludzie starzeją się w jednakowym tempie i nie dla każdego pewne mierzalne aspekty starzenia tj. siwienie, zmarszczki pojawiają się w tym samym wieku kalendarzowym. Wiek biologiczny człowieka co prawda skorelowany jest z kalendarzowym jednak nie są to wartości dokładnie równe. W klasycznej antropologii do określania wieku biologicznego człowieka na różnych etapach ontogenezy wykorzystuje się różnorodne sposoby oceny m in. wiek zębowy, morfologiczny, wiek cech płciowych (skala

Tannera) (Malinowski i Bożyłow, 1997), czy wiek metaboliczny, który bierze pod uwagę parametry składu ciała i jego masę (Vásquez-Alvarez i in. 2021). Obecnie techniki te doskonalone są opierając się o większą liczbę cech np. poziom ciśnienia krwi, czy natlenowania tkanek (Hahnen i in. 2020, Rafl i in. 2022). Są one nawet mierzone w zegarkach typu smartwatch ze specjalnymi czujnikami, które monitorują takie dane i przy wykorzystaniu odpowiednich algorytmów wyliczają wiek sprawnościowy użytkownika (Massoomi i Handberg 2019).

Starzeniu towarzyszy spadek funkcji metabolicznych organizmu i szereg charakterystycznych cech morfologicznych. Wciąż jednak trudno podać jednoznacznie jedną definicję starzenia się organizmu. W ujęciu biochemicznym istnieje teoria wolno-rodnikowego starzenia się organizmu mająca u podstawy endo- i egzogenne efekty utleniania biologicznego, czyli wolne rodniki, których ilość jest miarą starzenia organizmu. Zarówno procesy utleniania biologicznego, których nie możemy zminimalizować - chociażby oddychanie komórkowe, jak i czynniki egzogenne takie jak dopływ chemikaliów, dieta, ekspozycja na używki intensyfikują ten proces zwiększając pulę wolnych rodników i przyspieszając tym samym tempo starzenia (Harman, 2006).

Inny mechanizm stojący u podstaw wielu teorii starzenia to skracanie się telomerów. Każda komórka ciała ulegająca regeneracji ulega licznym podziałom mitotycznym. Aby było to możliwe przed każdym podziałem musi zajść replikacja materiału genetycznego. Ze względu na antyrównoległość nici DNA jedna jest tzw. nicią opóźnioną i luka po ostatnim starterze nie jest na niej uzupełniana. Stąd materiał genetyczny jest zabezpieczony końcówkami zwanymi telomerami. Jednakże, materiał genetyczny z podziału na podział jest skracany i staje się coraz bardziej podatny na uszkodzenia, czyli niejako staje się wyznacznikiem zużycia organizmu (Shammas, 2011).

Nowe podejście do zagadnienia starzenia się organizmu umożliwia rozwój epigenetyki. Zmiany epigenetyczne związane ze starzeniem obejmują metylację DNA, modyfikację histonów, przebudowę chromatyny, regulację niekodującego RNA (ncRNA), czy modyfikację RNA. Poprzez interakcję ze środowiskiem tempo zmian chemicznych genomu stwarza pole do estymowania tempa starzenia. Dokładniej chodzi tutaj o zmiany typu metylacje DNA, których związek z ekspozycją na różnorodne czynniki jest obecnie weryfikowany przez wielu badaczy (Wang i in. 2022).

W roku 2013 Horvath i jego zespół po raz pierwszy opracowali algorytm mający na celu ocenę wieku epigenetycznego na podstawie metylacji wyselekcjonowanych miejsc w genomie. Od tego czasu pojawiło się wiele nowych algorytmów, które tworzone są w dwóch trendach w zależności od zastosowania: takie które mają jak najdokładniej korelować z wiekiem kalendarzowym znajdując zastosowanie w kryminalistyce (Freire-Aradas i in. 2017) jak i te, mające niejako wyłapać pewne odstępstwa od wieku kalendarzowego znajdując zastosowanie w medycynie czy biologii wyjaśniając podłoże procesów starzenia. Zegary te w końcu mają zawierać algorytmy mogące możliwie jak najlepiej dopasowywać się do badanego typu tkanek (Levine i in. 2018, Lu i in. 2019a).

W przeprowadzonych badaniach stanowiących osiągnięcie habilitacyjne skupiono się na powiązaniu procesu starzenia epigenetycznego z okresem prenatalnym. Po pierwsze wykazano związek z przyspieszonym wiekiem epigenetycznym będącym wypadkową oddziaływań środowiskowych a ryzykiem preeklampsji. Po drugie przyspieszenie wieku epigenetycznego zanotowano także wśród mężczyzn bardziej ekspozowanych na prenatalny estrogen. Zatem wydaje się, że wczesnym markerem tempa starzenia może okazać się wskaźnik 2D:4D, natomiast sam wiek epigenetyczny markerem ryzyka różnorodnych chorób w tym zaburzeń okołoporodowych. Ponadto zweryfikowano czy sposób przechowania próbek (próbki świeże, zamrożone i w bloczkach parafinowych) ma wpływ na otrzymane wyniki wieku epigenetycznego.

c.5.2.1 Wiek epigenetyczny a ryzyko preeklampsji

Analizy metylacji DNA wzbogacane o nowe miejsca w genomie będące wyznacznikami przyspieszenia biologicznego starzenia się organizmu wyznaczone na podstawie m. in. zachorowalności na choroby czy innych dodatkowych biologicznych czynników ryzyka, umożliwiają tworzenie coraz dokładniejszych algorytmów wyliczających wiek epigenetyczny (DNAmAge) (Ross i in. 2020).

Cel szczegółowy:

Zbadanie czy wiek epigenetyczny (DNAmAge) jest przyspieszony u kobiet z preeklampsją w porównaniu z kobietami zdrowymi.

W badaniu **H5** na kohorcie australijskich kobiet starałam się ustalić, czy matczyne DNAmAge i powiązane miary przyspieszenia wieku epigenetycznego różniły się istotnie u kobiet z PE i u kobiet, które miały ciążę o prawidłowym przebiegu. Użyłam siedmiu powszechnie stosowanych zegarów epigenetycznych do obliczenia DNAmAge: Horvath,

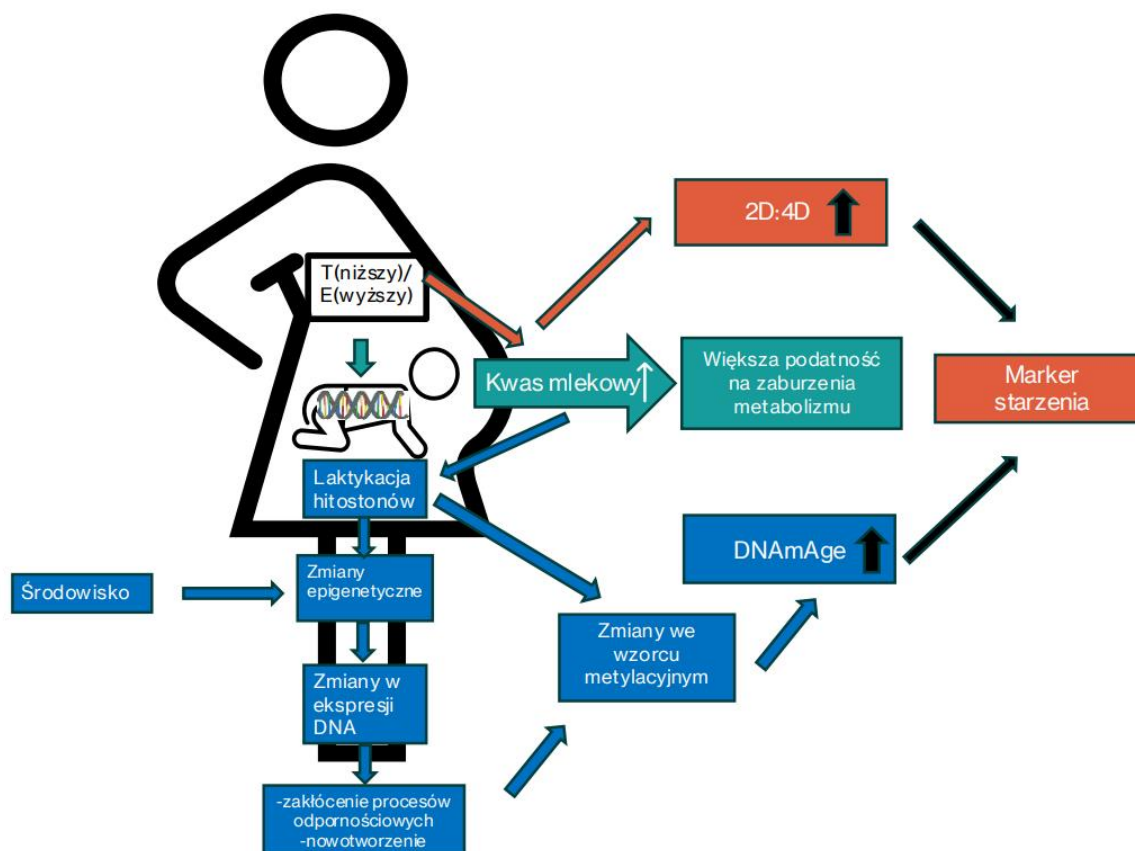
Hannum, PhenoAge, Horvath Skin and Blood, Wu, GrimAge i TL. Oszacowałam również trzy miary przyspieszenia wieku epigenetycznego: Δ DNAmAge, EAA i IEAA, a także zastępcze miary DNAmAge dotyczące liczby komórek odpornościowych i funkcji białek osocza. **Potwierdziłam**, że każda z siedmiu badanych miar DNAmAge była istotnie **skorelowana z wiekiem chronologicznym**. Niezależnie od współzmiennych zaobserwowałam **istotny wzrost DNAmAge w modelu Wu** u kobiet z PE w porównaniu z kobietami w ciąży prawidłowej. Ponadto wykryłam również **zwiększone Δ DNAmAge, EAA i IEAA dla trzech miar DNAmAge** (Wu, Hannum i PhenoAge) u **kobiet z PE**. Wykazałam również istotne różnice między czterema pomiarami DNAmAge: Bcell, NK, DNAmadm i DNAmapai_1. Odkrycia te sugerują, że **DNAmAge jest istotnie wyższy u kobiet z PE** i podkreślają możliwą **rolę metylacji DNA** w zwiększonej **podatności matki na ciążę powikłane z PE**.

Wiele badań wskazuje, że zaawansowany wiek matki prowadzi do różnorodnych powikłań ciąży (Yogev i in. 2010; Ziadeh i in. 2002) i wad wrodzonych (Herbert i in. 2015). W badaniach na kohorcie australijskiej **nie zaobserwowałam** jednak istotnej statystycznie **różnicy pomiędzy wiekiem chronologicznym a PE**. Wynik ten kontrastuje z dwoma niedawnymi badaniami, które wykazały, że u kobiet w zaawansowanym wieku matki występuje zwiększone ryzyko PE. W obu badaniach stwierdzono, że kobiety w wieku > 35 lat (Lamminpää i in. 2012) i > 45 lat w przypadku Sheena i in. (2020) były obciążone najwyższym ryzykiem rozwoju PE. W przypadku **moich badań** średni wiek chronologiczny **kobiet w ciąży prawidłowej** (wiek = 31,76) i **wśród kobiet z PE** (wiek = 30,53) **był podobny**, a **jednak różnice pomiędzy wiekiem epigenetycznym okazały się istotne statystycznie**. Nasuwają się więc wnioski wskazujące na **związek gorszej kondycji biologicznej ze zwiększonym ryzykiem PE niezależnie od wieku badanych**, co stanowi novum w przeprowadzonych badaniach.

c.5.2 2 Wiek epigenetyczny a wskaźnik palcowy 2D:4D

Wskaźnik palcowy może być pomocny w ocenie tempa procesu starzenia biologicznego i ocenie ryzyka śmiertelności w wieku dorosłym dzięki zbadaniu różnych miar DNAmAge i tempa starzenia. **Powiązanie ekspozycji prenatalnej na hormony płciowe z wiekiem epigenetycznym po raz pierwszy** zaprezentowałam w pracy **H7** stanowiącej zestawienie habilitacyjne. Jej celem było zbadanie związku pomiędzy prenatalną ekspozycją na hormony płciowe, których proporcja może odgrywać rolę w zmianach epigenetycznych i procesie starzenia. Prawdopodobnie w okresie prenatalnym poziom testosteronu i estrogenu może

wpływać na zmiany epigenetyczne, takie jak metylacja DNA, które kształtują późniejszą podatność na zmiany w tempie biologicznego starzenia się organizmu (Rycina 1).



Rycina 1. Prawdopodobny związek między proporcją prenatalnych sterydów płciowych (wyższy poziom estrogenów i niższy poziom testosteronu) a późniejszymi hipotetycznymi konsekwencjami, takimi jak wyższy poziom mleczanu i jego molekularne i fenotypowe skutki (T-testosteron, E-estrogen).

Zwiększony poziom prenatalnego testosteronu może mieć charakter protekcyjny i chronić przed zaburzeniami rozwoju (Lydecker i in. 2012), dlatego dzieci o niższym wskaźniku palcowym mogą być mniej podatne na niektóre choroby w późniejszym życiu (Culbert i in. 2015). Związek między 2D:4D a starzeniem się zaobserwowali już Manning i Fink (2011b), którzy wykazali, że wyższy wskaźnik 2D:4D był powiązany z krótszą długością życia. Dodatkowo Kalichman i in. (2019) wykazali, że niski poziom 2D:4D jest powiązany z długowiecznością wśród mężczyzn. Najnowsze badania przeprowadzone przez Manninga i in. (2024) wykazały, że wyższy poziom testosteronu w okresie płodowym stymuluje mitochondria odpowiedzialne za metabolizm tlenowy, co może mieć długoterminowe konsekwencje w

późniejszym życiu i wiązać się również z korzyściami przeciwstarzeniowymi. W pracy **H7** **wykazałam**, że w przypadku niektórych kalkulatorów wieku epigenetycznego **wzorzec żeński** (wyższy poziom estrogenów w okresie prenatalnym) **u mężczyzn** odpowiada za **przyspieszenie wieku epigenetycznego**. Tendencję tę zaobserwowałam dla większości stosowanych zegarów epigenetycznych, jednak tylko w przypadku niektórych z nich (PhenoAgeAccel i AgeAccelDNAmTL) wyniki były istotne statystycznie. Może to być efekt specyficznych zestawów wysp CpG używanych do trenowania modelu epigenetycznego (de Lima Camillo i in. 2022), ale może to również wynikać ze zbyt małej wielkości próby (n=176). PhenoAge i DNAmTLAge jw. to modele prognostyczne drugiej generacji oparte na DNAmAge, które zamiast dokładnej predykcji wieku chronologicznego zostały dostosowane w celu przewidywania długości życia i jakości zdrowia (Levine et al. 2018; Lu et al. 2019b; Noroozi et al. 2023).

Cel szczegółowy:

Zbadanie zależności między stosunkiem palcowym 2D:4D a wiekiem epigenetycznym i tempem starzenia opartym na metylacjach DNA.

Zegar PhenoAge to epigenetyczny biomarker starzenia się, który został skalibrowany na podstawie wieku chronologicznego i różnych klinicznych miar wieku fenotypowego. Potrafi przewidzieć ryzyko chorób, takich jak nowotwory czy choroba niedokrwienna serca i wykazuje odwrotną korelację do wieku wystąpienia menopauzy (Liu et al. 2019). Model ten opierał się na 513 CpG z próbek krwi (Levine et al. 2018). Inną miarą opartą na PhenoAge jest przyspieszenie wieku fenotypowego (PhenoAgeAccel), które pozwala na estymację umieralności poprzez uwzględnienie w modelu pewnych cech fenotypowych tj. wiek, pochodzenie etniczne, wykształcenie, liczbę chorób czy zachowania prozdrowotne (Liu et al. 2019).

Drugi model to biomarker epigenetyczny długości telomerów (DNAmTL) trenowany na danych dotyczących metylacji DNA 140 miejsc CpG. DNAmTL jest odwrotnie skorelowany z innymi modelami starzenia epigenetycznego, zgodnie z zasadą, że im krótsze telomery, tym wiek biologiczny jest wyższy. Zarówno krótsze telomery, jak i niższy wiek epigenetyczny DNAmTL powiązано z różnymi chorobami związanymi z wiekiem i skutkami zdrowotnymi, w tym chorobami układu krążenia, zespołem metabolicznym, nowotworami i innymi przyczynami śmierci (Aubert et al. 2008; Chen et al. 2016), czy ze starzeniem się układu odpornościowego Pearce i in. (2023).

Zaprezentowane modele silnie odpowiadają starzeniu biologicznemu, a nie standardowemu starzeniu chronologicznemu. **Moje wyniki** w tym zakresie **mogą wskazywać**, że **prenatalna ekspozycja na estrogeny** może prowadzić do **przyspieszonego rozwoju raka** lub **chorób układu krążenia**, a nawet **andropauzy u mężczyzn**.

W literaturze można znaleźć badania podejmujące problematykę nadmiaru estrogenów u mężczyzn w odniesieniu do niektórych cech fenotypowych, w tym w procesie starzenia. Ponholzer i in. (2002) nie uzyskali istotnych wyników dotyczących estrogenów i procesu starzenia się mężczyzn. W badaniu tym przeprowadzonym ponad 20 lat temu proces starzenia oceniano za pomocą kwestionariusza zawierającego 38 pozycji obejmujących kilka aspektów starzenia się mężczyzny, w tym parametry społeczno-ekonomiczne. Inne badanie wykazało, że wczesna ekspozycja na estrogeny zwiększa podatność mężczyzn na raka wątroby (Weisburger i in. 1966), co może być częściowo wskaźnikiem starzenia fenotypowego. Badanie przeprowadzone przez Prinsa i in. (2007) na modelach szczurów wykazało, że wczesna estrogenizacja samców powoduje zwiększoną częstość występowania zmian w prostatie wraz z wiekiem. Autorzy podkreślili znaczenie mechanizmów epigenetycznych, zwłaszcza metylacji DNA. Dziesięć lat przed nimi Li i in. (1997) przedstawili dowody na to, że wczesna ekspozycja na hormony płciowe – szczególnie w okresie prenatalnym, może trwale wpłynąć na metylację DNA określonych genów, prowadząc do większej predyspozycji do rozwoju nowotworów w późniejszej ontogenezie.

Najnowsze badania sugerują, że dla dorosłych mężczyzn istnieje poziom progowy estradiolu – poziomy podprogowy są powiązane ze zwiększonym ryzykiem złamań, utratą masy kostnej i opóźnionym dojrzewaniem kości (Vandenput i Ohlsson, 2009).

Jednakże wszystkie prowadzone badania dotyczyły aktualnego poziomu estrogenów u mężczyzn i nie uwzględniały okresu prenatalnego, na którym opierają się moje badania. Wiadomo, że prenatalna proporcja hormonów płciowych nie zawsze odpowiada poziomowi estrogenów czy testosteronu (np. Kowal i in. 2020, Zhang i in. 2020, Hönekopp i in. 2007) w późniejszej ontogenezie.

Jednak zaobserwowano już wcześniej, że prenatalna ekspozycja na hormony płciowe może programować późniejszy rozwój (Li i in. 2023), a nasze badanie podkreśla, że wczesna androgenizacja stanowi efekt ochronny przed późniejszym starzeniem biologicznym.

Wyniki metaanaliz przeprowadzonych przez Raevuori i in. (2014) zasugerowały, że wyższy poziom testosteronu w okresie prenatalnym (niższy 2D:4D) może chronić przed rozwojem

szeregu objawów występujących w niektórych zaburzeniach odżywiania, takich jak bulimia nervosa.

Narażenie na niekorzystne czynniki może wpływać na poziom hormonów prenatalnych, co w konsekwencji oddziałuje na zmiany długości palców i dalszy przebieg rozwoju. Płeć męska jest bardziej podatna na działanie niekorzystnych czynników, w przeciwieństwie do kobiet, których wskaźnik urodzeń jest wyższy w populacjach o słabszej kondycji biologicznej (Catalano i Bruckner 2006). Proporcję tę określa się jako wtórny stosunek płci (noworodki płci męskiej do noworodków płci żeńskiej), który wskazuje, że złe warunki środowiskowe wpływają na niższy współczynnik poprzez zmniejszenie liczby płodów płci męskiej (Catalano i Bruckner 2006; Troche i Kleinhaus, 2012). Zatem wydaje się, że ewolucja niejako faworyzuje estrogeny w środowisku trudniejszym do przetrwania, w przeciwieństwie do testosteronu, który może być faworyzowany w bardziej stabilnych warunkach. **Z moich badań wynika pośrednio, że mężczyźni z żeńskim wzorcem palcowym lewej ręki w życiu płodowym byli bardziej eksponowani na prenatalne estrogeny, co można wiązać się z gorszymi warunkami prenatalnymi.** Warunki te mogą rzutować na programowanie fenotypu płodu i prowadzić do późniejszej **większej predyspozycji na niektóre choroby, a nawet przyspieszać proces starzenia.**

Analiza epigenomu wykazała, że płeć męska jest bardziej podatna na przyspieszenie wieku epigenetycznego (Noroozi i in. (2023), Crimmins i in. (2021) oraz Xiao i in. (2018)). Płeć męska w stabilnym środowisku wewnątrzmacicznym może być eksponowana na wyższy poziom testosteronu, co skutkuje późniejszym niższym indeksem 2D:4D w porównaniu do osób narażonych na wyższy poziom estrogeny (wyższy indeks 2D:4D) i posiadających więcej zmian epigenetycznych spowodowanych przez niedogodne środowisko wewnątrzmaciczne. Zmiany te mogą wpływać na przyspieszony wiek epigenetyczny, który jest obliczany poprzez zmiany w wzorcu metylacyjnym DNA.

Najnowsze badania przeprowadzone przez Manninga i in. (2024) wskazały, że istnieje prawdopodobny związek między wysokim poziomem testosteronu w życiu płodowym a późniejszymi niższymi poziomami mleczanu, które mogą oddziaływać z histonami. Według autorów poziom testosteronu w okresie płodowym stymuluje mitochondria, które odpowiadają za metabolizm tlenu, skutkując długoterminowymi konsekwencjami w późniejszym życiu. Pośrednio potwierdzili, że niska wartość 2D:4D może być związana z korzyściami

zdrowotnymi poprzez obniżenie poziomu mleczanu. Zaproponowali również, że 2D:4D może być tym samym wskaźnikiem statusu mleczanu.

Szlak działania mleczanu jest określany jako laktylacja i przebiega w następujący sposób: mleczan kondensuje z wewnątrzkomórkowym koenzymem A, co powoduje produkcję mleczanu CoA (lac-CoA). Następnie lac-CoA jest transportowany do jądra, gdzie enzym acetylotransferaza (tzw. „writer”) przyłącza grupę acetylową do miejsc lizyny na histonach, w procesie znanym jako acetylacja. Mechanizm ten zmienia strukturę chromatyny, powodując różne zmiany epigenetyczne znane jako „readers”. Zmiany te mogą przyczyniać się do wielu zaburzeń metabolicznych, w tym sygnalizacji onkogennej i niestabilności komórki. Ponadto struktura chromatyny może powrócić do swojego pierwotnego stanu poprzez działanie tzw. „erasers”, które mogą być następnie wykorzystane do innych modyfikacji potranslacyjnych histonów (Yu i in. 2024).

W świetle tych rozważań pojawia się **potencjalne wyjaśnienie moich ustaleń**. Zidentyfikowano **korelację między podwyższonym stosunkiem 2D:4D** u mężczyzn a podwyższonym poziomem mleczanu (Manning i in. 2024), który z kolei oddziałuje z histonami, **indukując acetylację** i potencjalnie zmieniając ekspresję genów (Yu i in. 2024). Te liczne zmiany mogą skutkować nieprawidłowościami metabolicznymi, w tym tumorogenezą i zaburzeniem procesów odpornościowych (Xu i in. 2024; Wang i in. 2024), co z kolei może prowadzić do **zmian we wzorcu metylacji** i wzrostu wieku epigenetycznego. Alternatywna hipoteza zakłada, że zmiany we wzorcu metylacji mogą wynikać z procesu laktylacji. Wykazano, że laktylacja chromatyny jest związana z demetylacją, a metylacja jest związana z deacetylacją, co skutkuje zmienionymi wzorcami metylacji (Traxler i in. 2021). Niemniej jednak otrzymane przeze mnie wyniki wskazują jedynie na potencjalną korelację między laktylacją a procesem metylacji. W badaniu tym nie zagłębiano się w szczegóły procesu laktylacji, a dalsze badania są konieczne aby uzasadnić tę hipotezę. Rysunek 1 przedstawia wyjaśnienie potencjalnego związku między ekspozycją na prenatalny stosunek steroidów płciowych a późniejszymi skutkami, w tym poziomami mleczanu i ich konsekwencjami molekularnymi i fenotypowymi.

c.5.2.3 Sposób przechowywania próbek a wiek epigenetyczny

Prawidłowe przechowywanie próbek jest ważną kwestią w kontekście przeprowadzanych dalszych analiz w wielu dziedzinach np. w kryminalistyce (Kerrigan, 2013), czy naukach medycznych (Vaught i Henderson 2011). Powszechnie wybiera się takie warunki

przechowywania, aby uniknąć degradacji tkanki i aby były one dopasowane do charakteru badań i rodzaju tkanki (Zhu i in. 2022). Najbardziej znaną stosowaną metodą przechowywania próbek jest zamrażanie, które jednak wymaga dużej przestrzeni, jeśli archiwum próbek jest liczne. Inną powszechnie stosowaną metodą konserwacji tkanek jest utrwalanie w formalinie i zatapianie w parafinie (ang. formalin-fixed, paraffin-embedded - FFPE) (Kokkat i in. 2013). Zaletą próbek FFPE jest możliwość przechowywania w temperaturze pokojowej, co nie generuje dodatkowych kosztów (Vaught i Henderson 2011). To w jaki sposób przechowywana jest próbka może mieć potencjalny wpływ na jakość DNA, a także na metylację DNA (Zhu i in. 2022). Bulla i in. (2016) ocenili wpływ metylacji DNA z próbek krwi przechowywanych w różnych warunkach temperaturowych i wykazali, że określone warunki przechowywania mają znaczący wpływ na wydajność ekstrakcji DNA, ale nie na integralność DNA, czy metylację.

Ze względu na rozwój badań epigenetycznych znacząco wzrosła potrzeba przeprowadzania analiz metylacji DNA (Vidaki i Kayser 2018, Ullah et al. 2021). Ma ona swoje zastosowanie w kryminalistyce, m.in. do określenia rodzaju tkanki ze śladami biologicznymi, oceny wieku nieznanego podejrzanego czy różnicowania bliźniąt jednojajowych (Vidaki i Kayser 2018). Przewidywanie wieku dawcy na podstawie metylacji wysp CpG w tkance jest powszechnie znane jako DNAmAge (Li i in. 2022a, Li i in. 2022b). DNAmAge można obliczyć za pomocą różnych narzędzi predykcyjnych. Został on pierwotnie zaproponowany przez Horvatha w 2013 roku. Obecnie obserwuje się coraz większą liczbę nowych podejść i istnieją również inne kalkulatory DNAmAge m in.: Hannum (Hannum i in. 2013), Levine (PhenoAge) (Levine in. 2018), DNAmAge Skin&Blood (Horvath2) (Horvath i in. 2018), PedBE (McEwen i in. 2020), Wu (Wu i in. 2019), BLUP (Zhang i in. 2019), EN (Zhang i in. 2019) i TL (Lu i in. 2019), które zostały opracowane dla różnych tkanek i grup wiekowych. Zegary epigenetyczne znajdują zastosowanie w różnych badaniach związanych szacowaniem wieku chronologicznego (Rayan, 2021), ale także procesem starzenia, stylem życia i predyspozycjami do chorób (Koop i in. 2020, Noroozi i in. 2021).

Jednym z wyzwań w ocenie wieku biologicznego jest opracowanie funkcjonalnych zegarów specyficznych dla tkanki i cech fenotypowych (Bell i in. 2019). Trwające prace nad profilowaniem metylacji DNA dla różnych tkanek dają informacje o tym, które miejsca genomu powinno uwzględniać się w analizie, aby otrzymany wiek odpowiadał biologicznemu/chronologicznemu (Zhu i in. 2022).

Cel szczegółowy:

Zbadanie czy sposób przechowywania próbek ma wpływ na otrzymane wartości wieku epigenetycznego (DNAmAge) oraz czy istnieje taka różnica pomiędzy tkanką mięśnia sercowego, a krwią.

W badaniach własnych **wykazałam (H6) że DNAmAge tkanki serca jest niższy niż wiek chronologiczny** co jest zgodne z badaniami przeprowadzonymi przez Pavanello i in. (2020). Pociąga to za sobą potrzebę opracowania modelu DNAmAge opartego na próbkach tkanki serca w celu dokładnego oszacowania wieku.

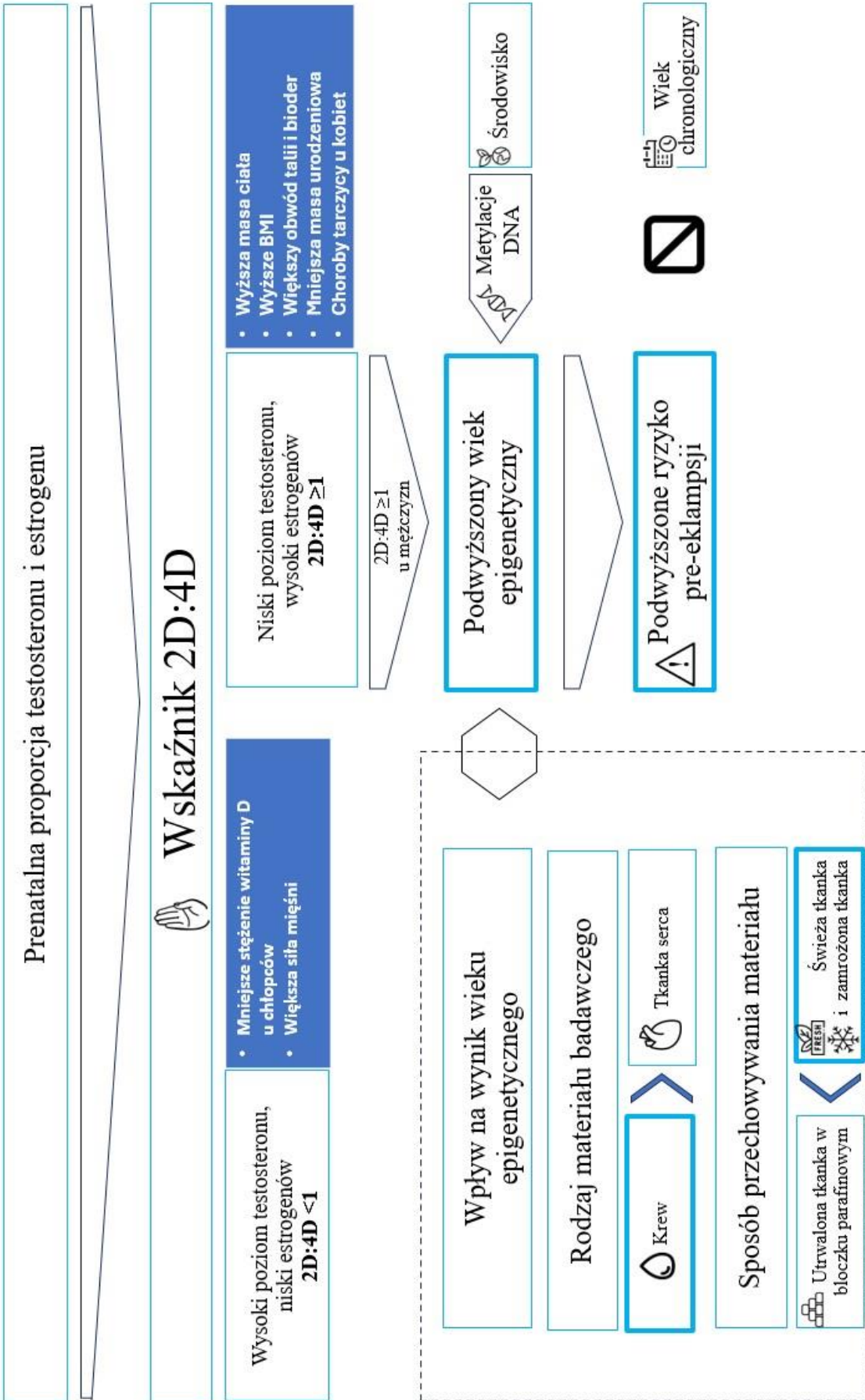
Podczas oceny wieku przeprowadzona przy użyciu metylacji DNA **wykazałam po raz pierwszy, że próbki serca FFPE mają niższy wiek epigenetyczny niż próbki zamrożone i świeże**. Przyczyna tych wyników jest nieznana i należy ją zweryfikować. Może to mieć związek z pewnymi zmianami chemicznymi zachodzącymi w tkance podczas procesu przygotowania, które wpływają na metylację DNA i prowadzą niejako do „odmłodzenia” pod względem DNAmAge. Aktualne badania przedstawiają jedynie niewielką część tego zagadnienia. Wiadomo, że analiza kwasów nukleinowych przy użyciu próbek FFPE jest wykonalna, ale ilość i jakość kwasów nukleinowych jest słabsza w porównaniu do próbek z zamrożonej tkanki, dlatego już wcześniejsze badania sugerowały standaryzację wyników w przypadku stosowania próbek FFPE (Hewitt i in. 2008). Z drugiej strony, późniejsze badania wykazały, że procedura FFPE nie wpływa ani na jakość, ani na ilość DNA (Kokkat et al. 2013). Co zaskakujące, Moran i in (2014) nie stwierdził różnic pomiędzy metylacją DNA w próbkach FF i FFPE pochodzących z różnych tkanek: piersi, jelita grubego, nerki, płuc, jajnika, trzustki, prostaty, żołądka. Brakuje jednak badań oceniających wpływ przygotowania próbek FFPE na metylację DNA w tkance serca i obliczany wiek epigenetyczny.

Kolejnym problemem jest wpływ czasu przechowywania na metylację DNA. W moim badaniu próbki FFPE były przechowywane o miesiąc dłużej niż próbki FF przed ekstrakcją DNA, zatem różnica czasu była stosunkowo niewielka. W próbkach krwi Li i in. (2018) wykazali, że nawet 20 lat przechowywania próbek FF nie miało wpływu na metylację DNA.

c.6 Podsumowanie

Podsumowując dokonania zebrane w zestawieniu habilitacyjnym przeprowadzone badania ukazują nowe elementy w obrazie okresu prenatalnego mające istotny wkład w rozwój dyscypliny nauk biologicznych (Rycina 2). Otóż:

- Środowisko wewnątrzmacicznych hormonów płciowych wyliczane przez wskaźnik palcowy 2D:4D wskazuje na proporcję testosteronu do estrogenów w dwóch kierunkach, rzutując na różnorodne cechy fenotypowe człowieka:
 - Potwierdziłam, że przy dominacji prenatalnego testosteronu obserwuje się
 - Niższe stężenie witaminy D u chłopców w wieku 6-13 lat
 - Niższą masę urodzeniową u chłopców
 - Większą siłę mięśni u chłopców
 - Wskazałam, że przy dominacji prenatalnej estrogenów obserwowane jest:
 - Zwiększone ryzyko chorób tarczycy wśród kobiet
 - Akceleracja wieku epigenetycznego (DNAmAge) u mężczyzn
 - Większa masa ciała
 - Większe BMI
 - Większy obwód talii i bioder
- Stwierdziłam, że wskaźnik palcowy 2D:4D może wykazywać wyższe wartości w grupie młodych dorosłych Polaków (18-30 lat)
- Wykazałam, że środowisko życia, którego miarą są metylacje DNA może wpływać na wiek epigenetyczny (DNAmAge), którego akceleracja predysponuje do powikłań podczas ciąży takich jak preeklampsja
- Udowodniłam, że sposób przechowywania próbek może wpływać na otrzymane wartości wieku epigenetycznego
 - Próbki zatopione w parafinie wykazywały niższy wiek epigenetyczny niż świeże i zamrożone.
- Wskazałam, że próbki mięśnia sercowego wykazują niższy wiek epigenetyczny niż próbki krwi



Rycina 2. Graficzne przedstawienie otrzymanych wyników i ich wzajemne powiązania

c. 7 Wykorzystanie wyników badań

Związek wskaźnika palcowego 2D:4D z predyspozycją do szeregu chorób np. chorób psychicznych czy wskazanych w niniejszej pracy chorób tarczycy stwarzają nowe możliwości do opracowania szybkich i szeroko dostępnych testów screeningowych np. w formie mobilnej aplikacji zawierającej podstawowy wywiad medyczny i zdjęcie dłoni badanego. Mogłoby to być dobre narzędzie w profilaktyce wielu chorób. Przeprowadzone badania wskazują, że wskaźnik palcowy mógłby stanowić predyktor chorób tarczycy oraz otyłości. Ponieważ wskaźnik ten wydaje się różnicować tempo starzenia biologicznego człowieka może posłużyć do zakwalifikowania do konkretnej grupy ryzyka przyspieszonego starzenia.

Kolejne potencjalne wykorzystanie wskaźnika palcowego 2D:4D to sport. W zależności od wzorca palcowego można mieć predyspozycje do budowania konkretnych komponentów ciała (np. mięśni). Już na etapie dzieciństwa kluby sportowe wykorzystując prostą aplikację mogłyby badać predyspozycję do konkretnych typów sportów (siłowe, zręcznościowe) swoich podopiecznych, jak optymalizując przebieg ich kariery sportowej.

Pomimo wielu prac badających zmienność fenotypów człowieka w zależności od różnych stosunków palcowych nie skorelowano tego samego czasu kształtowania się wskaźnika palcowego i płci mózgu co rzutuje na cechy osobowości w dorosłym życiu. Dzięki zauważeniu tej koincydencji, wskaźnik 2D:4D staje się uniwersalnym narzędziem pomiarowym pewnej grupy cech. Natomiast zbiór tych cech wydaje się być kluczowy dla stworzenia długotrwałej relacji.

Z kolei wiek epigenetyczny będący miarą metylacji genomu może stać się dobrym predyktorem aktualnej kondycji biologicznej pacjenta np. wskazywać cięższe ryzykowne, czy predyspozycję do szeregu chorób tj. układu krążenia, nowotworów poprzez akcelerację procesu starzenia.

W końcu przeprowadzona część metodyczna pracy podkreśla zasadność prowadzenia dalszych badań nad różnicami pomiędzy tkankami i sposobem przechowywania próbek, które mogą wpływać na wiarygodność estymowanego wieku epigenetycznego.

c. 8 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

Pozostałe dokonania poza dorobkiem habilitacyjnym skupiają się także w zakresie badań dotyczących zagadnień auksologicznych i epigenetycznych.

Moje badania auksologiczne, które rozpoczęłam już na studiach licencjackich, dotyczą różnorodnych czynników mogących wpływać na proporcję i skład ciała, a także rozwój człowieka na jego różnych etapach ontogenezy.

W trakcie studiów magisterskich realizowanych w ramach Indywidualnego Programu Studiów zostałam zaangażowana w międzynarodowe badania EUROFORGEN na Uniwersytecie Kopenhaskim w Zakładzie Genetyki Sądowej pod opieką prof. Nielsa Morlinga, które zaowocowały pracą magisterską pt. „Genetic differentiation between Greek, Slovenian, Iraqi, Danes and Turkish using four AIMs IPLEX panels” oraz artykułem opublikowanym w renomowanym czasopiśmie: *Forensic Science International: Genetics*. Dzięki temu stażowi mogłam zapoznać się z wieloma technikami biologii molekularnej, które wykorzystuję do dziś. Ponadto zostałam zatrudniona w pierwszym projekcie jako wykonawca: SONATA BIS nr 2012/05/E/NZ5/02130 pod tytułem „Profil krążących mikroRNA w diagnostyce rzadkich form cukrzycy” w Klinice Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Podczas pracy w projekcie rozwijałam dalsze umiejętności pracy laboratoryjnej (wykonywanie analiz ekspresji mikroRNA). Efektem pracy był poster na konferencji: 42nd Annual Meeting of the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) pt. „Temporal dynamics of serum let-7 g expression show its involvement in the decline of residual beta cell function.”.

W ramach projektów wchodzących w skład pracy doktorskiej ponownie powróciłam do tematyki zaburzeń proporcji i składu ciała, a także tempa rozwoju motorycznego dzieci. Dokonałam analiz z wykorzystaniem archiwalnych baz danych z lat 1993-2004 (n=1930, wiek 3-54 miesięcy) oraz baz danych stworzonych w oparciu o materiał własny, zbierany w łódzkich szkołach podstawowych (n=640, wiek: 6-13 lat). Praca dotycząca stężenia witaminy D w ślinie i składu ciała powstała w kooperacji z prof. Nielsem Morlingiem z Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen.

W kwietniu 2019 roku we współpracy z trzema jednostkami (Katedra Antropologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki; Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu; Zakład Antropologii PAN Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu) zaczęłam realizację autorskiego projektu dotyczącego poziomu ekspresji wybranych mikro-RNA wśród siatkarek badanych przed i po treningu na

przeestrzeni jednego sezonu rozgrywek. Wykazałam, że poziom ekspresji jednego z mikro-RNA jest związany z wysiłkiem fizycznym.

W latach 2020/2021 zostałam zatrudniona w roli wykonawcy w projekcie “Analiza epigenomu w celach dochodzeniowo-śledczych – zwiększenie możliwości identyfikacyjnych i wykrywczych badań DNA” (numer projektu DOB-BIO10/06/01/2019). W projekcie dokonywałam pomiarów antropometrycznych oraz tworzyłam bazę danych, a także uczestniczyłam w powstawaniu manuskryptu kilku prac.

Od 2020 roku wspomagam zespół badawczy dr. Wojciecha Kuczyńskiego (Uniwersytet Medyczny w Łodzi) zajmującego się zaburzeniami snu w kontekście pomiarów antropometrycznych w tym analiz 2D:4D i preferencji seksualnych.

We współpracy z dr Mircea Ilescu (Cambridge University), który w ramach projektu IDUB gościł w Katedrze Antropologii w latach 2020-2022 i osobiście sprawowałam nad nim opiekę, przedsięwzięte zostały prace dotyczące pigmentacji skóry w populacji polskiej w korelacji z witaminą D.

Od 2022 roku pełnię rolę promotora pomocniczego doktoratu mgr Anny Opoki. W efekcie współpracy powstały prace dotyczące znaczenia karmienia piersią u dzieci w pierwszych latach życia.

We wszystkich badaniach ważną ich część stanowią analizy statystyczne, a także bioinformatyczne, których warsztat wciąż doskonalę podczas międzynarodowych warsztatów oraz długoterminowych wizyt w zagranicznych jednostkach. Ukończyłam także studia podyplomowe Analiza danych i data mining na Uniwersytecie Łódzkim.

Poniżej opisano tematykę realizowanych badań z podziałem na okresy przed i po uzyskaniu po uzyskaniu stopnia doktora

Dorobek po uzyskaniu stopnia doktora

Wskaźnik 2D:4D i cechy matczyne

U dziewcząt ze wzorcem męskim w wieku 6-13 lat wykazano, że ich matki zazwyczaj pracowały w czasie trwania ciąży i były starsze niż w przypadku dziewczynek ze wzorcem żeńskim. Z kolei większa ekspozycja na estrogeny (wzorec żeński) była charakterystyczna dzieci kobiet deklarujących palenie przed ciążą lub w trakcie.

- Sitek, A., Rosset, I., Kobus, M., Pruszkowska-Przybylska, P., & Żądzińska, E. (2022). Maternal age and behavior during pregnancy affect the 2D: 4D digit ratio in Polish children aged 6–13 years. *Biology*, *11*(9), 1286. <https://doi.org/10.3390/biology11091286> (IF=5,168; MNiSW=100)

Skład ciała i stężenie kortyzolu

Praca będąca kontynuacją zagadnień podejmowanych podczas pracy doktorskiej rozważała związek poziomu kortyzolu z tkanką mięśniową i tłuszczową u dzieci w wieku 6-13 lat. Badania wykazały, że stężenie kortyzolu jest dodatnio powiązane z masą mięśniową i ujemnie skorelowane z masą tłuszczową, nawet jeśli stężenie kortyzolu zostało adjustowane na czynniki środowiskowe. Nie stwierdzono jednak istotnych statystycznie różnic w stężeniu kortyzolu pomiędzy dziećmi z prawidłowym i nadmiernym BMI, u żadnej z płci. U dzieci z rodzin zamożnych stwierdzono zwiększone stężenie kortyzolu.

- Pruszkowska-Przybylska, P., Sitek, A., Rosset, I., Sobalska-Kwapis, M., Słomka, M., Strapagiel, D., Żądzińska, E., Morling, N. (2021). Cortisol concentration affects fat and muscle mass among Polish children aged 6–13 years. *BMC pediatrics*, *21*(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12887-021-02837-3> (IF=2,083; MNiSW=100)

Karmienie piersią

Celem badania było wyselekcjonowanie czynników istotnie wpływających na decyzję o karmieniu piersią w pierwszym okresie życia wśród dzieci z centralnej Polsce. Analizą objęto 2159 dzieci (1017 dziewczynek i 1142 chłopców) z trzech kohort. Badania wykazały, że czynnikami wpływającymi na decyzję matki o karmieniu piersią niezależnie od badanej kohorty były: wykształcenie rodziców i wiek rodziców, pora roku urodzenia i czas trwania ciąży.

Praca powstała jako efekt współpracy z doktorantką Anną Opoką, nad którą sprawuję opiekę w roli promotora pomocniczego doktoratu.

- Opoka, A., Pruszkowska-Przybylska, P., & Żądzińska, E. (2024). Birth parameters and parental factors influence on breastfeeding incidence in Polish population across three decades. *Anthropologischer Anzeiger; Bericht uber die biologisch-anthropologische Literatur*. <https://doi.org/10.1127/anthranz/2024/1775> (IF= 0,4; MNiSW=70)

Badania epigenetyczne

1. W okresie 05-2020 do 05.2021 byłam zatrudniona w projekcie z zakresu epigenetyki: „Analiza epigenomu w celach dochodzeniowo-śledczych – zwiększenie możliwości identyfikacyjnych i wykrywczych badań DNA” (EPIGENOM) - projekt nr DOB-BIO10/06/01/2019.

Efektom tej współpracy są artykuły wielo-autorskie dotyczące zarówno kwestii metodycznych jak i nowych powiązań zmian epigenetycznych i cech fenotypowych człowieka.

- Pośpiech, E., Pisarek, A., Rudnicka, J., Noroozi, R., Boroń, M., Masny, A., Wysocka, B., Migacz-Gruszka, K., Lisman, D., Pruszkowska-Przybylska, P., Kobus, M., Szargut, M., Dowejko, J., Stanisław, K., Zacharczuk, J., Zieliński, P., Sitek, A., Ossowski, A., Spólnicka, M., & Branicki, W. (2023). Introduction of a multiplex amplicon sequencing assay to quantify DNA methylation in target cytosine markers underlying four selected epigenetic clocks. *Clinical epigenetics*, 15(1), 128. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01545-2> (IF= 7,28; MNiSW=140)
- Noroozi, R., Rudnicka, J., Pisarek, A., Wysocka, B., Masny, A., Boroń, M., Migacz-Gruszka, K., Pruszkowska-Przybylska, P., Kobus, M., Lisman, D., Zielińska, G., Iljin, A., Wiktorska, J. A., Michalczyk, M., Kaczka, P., Krzysztofik, M., Sitek, A., Ossowski, A., Spólnicka, M., Branicki, W., Pośpiech, E. (2024). Analysis of epigenetic clocks links yoga, sleep, education, reduced meat intake, coffee, and a SOCS2 gene variant to slower epigenetic aging. *GeroScience*, 10.1007/s11357-023-01029-4. <https://doi.org/10.1007/s11357-023-01029-4> (IF= 5,7; MNiSW=100)
- Rudnicka, J., Pisarek, A., Noroozi, R., Wysocka, B., Masny, A., Boron, M., Migacz-Gruszka, K., Pruszkowska-Przybylska, P., Kobus, M., Lisman, D., Michalczyk, M., Kaczka, P., Krzysztofik, M., Piniewska-Rog, D., Wojas-Pelc, A., Sitek, A., Ossowski, A., Spolnicka, M., Branicki, W., Pospiech, E. (2024). Epigenetic signatures of smoking, alcohol abuse and BMI. *European Journal of Human Genetics* (vol. 32, pp. 732-732). Campus, 4 Crinan st, London, n1 9xw, England: springer nature. (IF= 3,7; MNiSW=100)
- Pośpiech, E., Rudnicka, J., Noroozi, R., Pisarek-Pacek, A., Wysocka, B., Masny, A., Boroń, M., Migacz-Gruszka, K., Pruszkowska-Przybylska, P., Kobus, M., Lisman, D., Zielińska, G., Cytacka, S., Iljin, A., Wiktorska, J.A., Michalczyk, M., Kaczka, P.,

Krzysztofik, M., Sitek, A., Spólnicka, M., Ossowski, A., Branicki, W. (2024). DNA methylation at AHRH as a master predictor of smoke exposure and a biomarker for sleep and exercise. *Clinical epigenetics*, 16(1), 147. <https://doi.org/10.1186/s13148-024-01757-0> (IF=4,8; MNiSW=140)

2. Poziom ekspresji mikroRNA, a skład ciała i wydolność organizmu

W badaniach przeprowadzonych na siatkarkach wykazano, że ekspresja miR-182, miR-320 i miR-486 jest powiązana ze składem ciała. Dodatkowo w ujęciu longitudinalnym zaobserwowano zmniejszony poziom miR-486.

- Pruszkowska-Przybylska, P., Cichy, I., Ignasiak, Z., Kochan, K., Kociuba, M., Koziół, S., Sebastjan, A., Ściślak, M., Żądzińska, E., Rokita, A. (2024). Association between expression level of the miR-320, miR-182, miR-223 and miR-486 and body composition among young Polish female volleyball players. *Anthropological Review*, 87(2), 147-158. <https://doi.org/10.18778/1898-6773.87.2.08> (IF=0; MNiSW=70)

Badania dotyczące snu

Artykuł opublikowany w JMIR Research Protocols w międzynarodowym zespole jest dobrym prognostykiem na kontynuację dalszych badań dotyczących wskaźnika 2D:4D w innych aspektach tj. problematyka zaburzeń snu. Obecnie trwają prace nad tym zagadnieniem w zespole międzynarodowym.

- Kuczyński, W., Wibowo, E., Hoshino, T., Kudrycka, A., Małolepsza, A., Karwowska, U., Pruszkowska, M., Wasiak, J., Kuczyńska, A., Spałka, J., Pruszkowska-Przybylska, P., Mokros, Ł., Białas, A., Białasiewicz, P., Sasanabe, R., Blagrove, M., & Manning, J. (2021). Understanding the Associations of Prenatal Androgen Exposure on Sleep Physiology, Circadian Proteins, Anthropometric Parameters, Hormonal Factors, Quality of Life, and Sex Among Healthy Young Adults: Protocol for an International, Multicenter Study. *JMIR research protocols*, 10(10), e29199. <https://doi.org/10.2196/29199> (IF=1,25; MNiSW=70)

Stężenie witaminy D, a pigmentacja ciała

We współpracy z dr Mircea Ilescu (Cambridge University), który w ramach projektu IDUB gościł w Katedrze Antropologii w latach 2020-2022 i osobiście sprawowałam nad nim opiekę, przedsięwzięte zostały prace dotyczące pigmentacji skóry w populacji polskiej w korelacji z witaminą D. Wykazaliśmy, że stężenie 25(OH)D i poziom pigmentacji (MI) skóry nie różnią

się znacząco pomiędzy chłopcami i dziewczętami. Ponadto późną jesienią stężenie 25(OH)D jest niższe niż wiosną, natomiast skóra wykazuje więcej pigmentu jesienią. Co najważniejsze, odkryliśmy istotny związek między MI a stężeniem 25(OH)D: wyższy MI jest istotnie powiązany z niższym poziomem 25(OH)D tylko u chłopców w sezonie jesiennym.

- Iliescu, F. M., Pruszkowska-Przybylska, P., Sitek, A., & Żądzińska, E. (2023). The effect of skin color variation on 25 (OH) D concentration in Polish children. *American Journal of Biological Anthropology*, 180(4), 733-744. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24685> (IF= 2,963, MNiSW=140)

Byłam także współautorem pracy przeglądowej o tematyce witaminy D.

- Skibiński, J., & Pruszkowska-Przybylska, P. (2021). Zależności między poziomem witaminy D a ilością tkanki tłuszczowej człowieka. *Kosmos*, 70(1), 95-102. (IF= 0, MNiSW=20)

Prace wchodzące w skład pracy doktorskiej

Prace składające się na rozprawę doktorską pt. „Znaczenie czynników prenatalnych, środowiskowych oraz parametrów biochemicznych w kształtowaniu się proporcji i składu ciała oraz tempa rozwoju człowieka na różnych etapach ontogenezy progresywnej. The significance of the prenatal, environmental and biochemical factors in the forming of the body proportion and composition, as well as tempo of human development on the various stages of the progressive ontogenesis”

- Pruszkowska-Przybylska, P., Nieczuja-Dwojackska, J., & Żądzińska, E. (2018). Supplementation of vitamin D after birth affects body size and BMI in Polish children during the first 3.5 years of life-an analysis based on two cohorts measured in the years 1993-1997 and 2004-2008. *Anthropologischer Anzeiger*, 74, 413-421. <https://doi.org/10.1127/anthranz/2018/0823> (IF=0.752; MNiSW=20 (70))
- Pruszkowska-Przybylska, P., Rosset, I., Sitek, A., & Żądzińska, E. (2019). Familial factors more importantly modify the age of achieving motor developmental milestones than duration of breastfeeding amongst Polish children. *Homo: HOMO - Journal of Comparative Human Biology* Volume: 70 (4), 297-303. <https://doi.org/10.1127/homo/2019/1121> (IF=0,791; MNiSW=25 (70))
- Pruszkowska-Przybylska, P., Sitek, A., Rosset, I., Sobalska-Kwapis, M., Słomka, M., Strapagiel, D., & Żądzińska, E. (2018). Association of the 2D: 4D digit ratio with body

composition among the Polish children aged 6-13 years. Early human development, 124, 26- 32. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2018.08.001> (IF=2,455; MNiSW=35 (70))

- Pruszkowska-Przybylska, P., Sitek, A., Rosset, I., Żądzińska, E., Sobalska-Kwapis, M., Słomka, M., & Strapagiel, D. (2019). The association between socioeconomic status, duration of breastfeeding, parental age and birth parameters with BMI, body fat and muscle mass among prepubertal children in Poland. *Anthropologischer Anzeiger*, 76(5), 409- 419. (IF=0,752; MNiSW=20 (70))
<https://doi.org/10.1127/anthranz/2019/0955>
- Pruszkowska-Przybylska P., Sitek A., Rosset I., Sobalska-Kwapis M., Słomka M., Strapagiel D., Żądzińska E., Morling N. (2020). Association of saliva 25(OH)D concentration with body composition and proportion among pre-pubertal and pubertal Polish children. *American Journal of Human Biology*.
<https://doi.org/10.1002/ajhb.23397> (IF=1,834; MNiSW=35 (70))

W ramach projektów wchodzących w skład pracy doktorskiej ponownie powróciłam do tematyki zaburzeń proporcji i składu ciała, a także tempa rozwoju motorycznego dzieci. Dokonałam analiz z wykorzystaniem archiwalnych baz danych z lat 1993-2004 (n=1930, wiek 3-54 miesięcy) oraz baz danych stworzonych w oparciu o materiał własny, zbierany w łódzkich szkołach podstawowych (n=640, wiek: 6-13 lat). Praca dotycząca stężenia witaminy D w ślinie i składu ciała powstała w kooperacji z prof. Nielsem Morlingiem z Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen.

W ramach wspomnianych prac będących elementem pracy doktorskiej zbadalam związek suplementacji witaminą D w pierwszych miesiącach po urodzeniu z osiąganymi wartościami wysokości i masy ciała oraz proporcji wagowo-wzrostowych (BMI) w pierwszych 3 latach życia badanych dzieci, uwzględniając inne zmienne towarzyszące tj. parametry urodzeniowe (urodzeniowa masa i długość ciała), sezon urodzenia jako konsekwencja sezonu rozwoju prenatalnego oraz rodzaj karmienia w pierwszych miesiącach życia (karmienie naturalne vs. sztuczne). Wykorzystując bazy archiwalne zbadano także związek wieku i wykształcenia rodziców oraz długości karmienia naturalnego w pierwszym roku życia z wiekiem osiągnięcia przez dzieci kolejnych zdolności psychomotorycznych tj.: samodzielne siadanie, stawanie i chodzenie. W analizach uwzględniono również następujące zmienne niezależne: wiek oraz wykształcenie ojca i matki, palenie tytoniu przez matki, urodzeniową masę ciała. Wyniki opisanych analiz podkreślają znaczenie: suplementacji witaminą D, sezonu urodzenia oraz

urodzeniowej masy i długości ciała w osiągniętych wartościach masy i wysokości ciała oraz BMI w pierwszych 3,5 latach życia. Ponadto wykazano, że wiek i wykształcenie rodziców modyfikują ogólny rozwój motoryczny dzieci, chociaż rozmiary efektów są małe, a kierunki wpływu są różne u ojców i matek. Badanie podkreśla znaczenie czynników rodzinnych dla wieku osiągnięcia tzw. kamieni milowych rozwoju biologicznego człowieka. Bazy danych opracowane w latach 2016-2018 uwzględniające materiał dotyczący dzieci w wieku wczesnoszkolnym (6-13 lat) umożliwiły weryfikację, czy proporcja hormonów płciowych w okresie prenatalnym oszacowana na podstawie wskaźnika długości palca drugiego do palca czwartego (2D:4D) jest związana z proporcjami i składem ciała, uwzględniając poziom wykształcenia matki, przybieranie masy ciała w czasie ciąży oraz długość karmienia naturalnego. Kolejnym poruszonym problemem była ocena związku pomiędzy statusem socjoekonomicznym (SES), długością karmienia naturalnego, wiekiem matki i ojca oraz parametrami urodzeniowymi a BMI i składem ciała. Ostatnim etapem badań była ocena związku stężenia witaminy D (25(OH)D) z proporcjami i składem ciała z uwzględnieniem następujących zmiennych towarzyszących: rodzaj karmienia w pierwszych miesiącach życia (karmienie naturalne vs. sztuczne), poziom wykształcenia matki i ojca oraz sezon przeprowadzanych badań.

Wykazano, że współczynnik palcowy 2D:4D wydaje się być dobrym wskaźnikiem rozwoju masy mięśniowej wśród dziewcząt w wieku 6-13 lat. Dziewczęta charakteryzujące się męskim wskaźnikiem (<1) wykazywały większą zawartość tkanki mięśniowej.

W kolejnych badaniach wykazano, że krótki czas karmienia piersią (<2 miesiące) związany był z podwyższonym BMI i większą masą tkanki tłuszczowej u dzieci w wieku 6–13 lat. Wysoka masa urodzeniowa była związana z niską zawartością tkanki mięśniowej i wysokim BMI, natomiast wysoki status społeczno-ekonomiczny związany był z większą masą tkanki mięśniowej, niższą masą tkanki tłuszczowej i niższym BMI.

Następne badania zweryfikowały, że sezon pobierania próbek śliny i karmienie piersią były silniej związane ze składem ciała, BMI i WHR niż stężenie 25(OH)D.

Inny dorobek przed uzyskaniem stopnia doktora (niewchodzący w skład pracy doktorskiej)

- Pruszkowska-Przybylska P.(2020). Environmental and Genetic Factors Affecting Body Mass and Proportion among Individuals on the Progressive Stages of Ontogenesis in

- Poland (Central Europe). Jyoti Ratan Ghosh, Kaushik Bose [eds]. Contemporary Issues in Childhood Malnutrition. Nova Science Publishers. ISBN: 978-1-53617-348-2
- Pereira, V., Freire-Aradas, A., Ballard, D., Børsting, C., Diez, V., Pruszkowska-Przybylska, P., Ribeiro, J., Achakzai, N. M., Aliferi, A., Bulbul, O., Carceles, M. D. P., Triki-Fendri, S., Rebai, A., Court, D. S., Morling, N., Lareu, M. V., Carracedo, Á., EUROFORGEN-NoE Consortium, & Phillips, C. (2019). Development and validation of the EUROFORGEN NAME (North African and Middle Eastern) ancestry panel. *Forensic science international. Genetics*, 42, 260–267. (IF=5.64; MNiSW =45 (140)) DOI: [10.1016/j.fsigen.2019.06.010](https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.06.010)
 - Pruszkowska-Przybylska, P. (2019). Związek pomiędzy aktywnością fizyczną, stylem życia oraz statusem socjoekonomicznym, a kształtowaniem się masy i składu ciała wśród osób dorosłych. *Choroby XXI wieku - najnowsze doniesienia. Tom 1.* Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.: 91-96.
 - Koziel, S., Scheffler, C., Tutkuviene, J., Jakimaviciene, E.M., Mumm, R., Barbieri, D., Godina, E., El-Shabrawi, M., Elhousseini, M., Musalek, M. Pruszkowska-Przybylska, P., H. El Dash, H., Hassan Safar, H., Lehmann, A., Swanson, J., Bogin, B., Yuk-Chien, L., Groth, D., Kirchengast, S., Siniarska, A., Nieczuja-Dwojicka, J., Králík, M., Satake, T., Hanć, T., Roelants, M., Hermanussen, M. (2018). Meeting Report: Growth and Social Environment. *Proceedings of the 25th Aschauer Soiree, held at Krobielowice, Poland, November 18th, 2017. Pediatric endocrinology reviews: PER*, 15(4), 319-329. (IF=1.89; MNiSW =-(70)) DOI: [10.17458/per.vol15.2018.ksh.mr.GrowthSocialEnvironment](https://doi.org/10.17458/per.vol15.2018.ksh.mr.GrowthSocialEnvironment)
 - Krzyżanowska, A., Tomczyk, P. P., Pruszkowska-Przybylska, P., & Zielińska, K. M. (2018). The spread of alien species along the touristic routes of the Słowiński National Park. *Folia Biologica et Oecologica*, 14(1), 33-46. (IF=0; MNiSW=6) <https://doi.org/10.1515/fobio-2017-0007>
 - Pruszkowska-Przybylska, P. (2017). Witamina D niejedno ma imię - znaczenie witaminy D w kształtowaniu komponentu tłuszczowego składu ciała człowieka. *Związki biologiczne czynne w medycynie i ochronie zdrowia – przegląd zagadnień.* Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. zo.o.: 225-232.
 - Pruszkowska-Przybylska, P., Skowyrza, K., & Sękowski, P. (2016). Development of relative body mass (BMI) of students from Łódź, depending on the selected environmental, psychological and sociological factors. *Anthropological review*, 79(4), 427-438. <https://doi.org/10.1515/anre-2016-0031> (IF=0, MNiSW = (15))
 - Tomczyk, PP, Pruszkowska-Przybylska, P., & Klejps, A. (2016). State symbols as an object of interest in ethnobotany – the occurrence of tree motifs in state symbols of Slavic countries and their meaning. *Etnobiologia Polska*, (6), 117-128. (IF=0; MNiSW=5) <https://journals.ur.edu.pl/ep/article/view/8116>
 - Pruszkowska-Przybylska P., Wróblewski P., (2016). Epigenetyczne spojrzenie na patogenezę cukrzycy typu 1 (Epigenetics in the pathogenesis of type 1 diabetes).

Janiszewska M., Bilka S. (red.). Biomedyczny przegląd naukowy. Tom 1.
Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o. o.

- Wróblewski P., Pruszkowska-Przybylska P., (2016). Krążące mikroRNA w cukrzycy typu 1. Janiszewska M., Bilka S. (red.). Biomedyczny przegląd naukowy. Tom 1. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o. o.
- Pruszkowska P., (2014). Czy geny nas tuczą? (Do genes make us fat?) Wydawnictwo UJ
- Pruszkowska P., (2013). Głodując za dwoje - Pregoreksja nowe oblicze anoreksji. Borowska-Strugioska B., Pruszkowska P., Kochel M.(edit), Discover the covered – biology and human's culture, (68-74). Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego.

Najważniejsze konferencje

Po uzyskaniu stopnia doktora

05-08.09.2024 23rd EAA Congress - 16th ISGA Congress - SSHB Congress, Zagreb, Croatia.

- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Anna Opoka, Elżbieta Żądzińska.

Wystąpienie ustne (indywidualnie): „Female finger proportion as an indicator of the higher blood pressure risk”

- Anna Opoka, Paulina Pruszkowska-Przybylska, Elżbieta Żądzińska.

Poster: „Does breastfeeding have an impact on the teething process?”

30.03-01.04.2023 10th International Conference on Nutrition and Growth (N&G 2023) London, UK.

- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Anna Opoka, Elżbieta Żądzińska.

Poster: „Importance of breastfeeding as a regulator of body parameters among individual aged 3-10 years from two cohorts 1993-1997 and 2015-2017 in central Poland”.

10-13.06.2023 56th Annual Conference of the European-Society-of-Human-Genetics (ESHG), Glasgow, SCOTLAND

- Joanna Rudnicka, Aleksandra Pisarek, Rezvan Noroozi, Bożena Wysocka, Aleksander Masny, Michal Boron, Kamila Migacz-Gruszka, Paulina Pruszkowska-Przybylska,

Magdalena Kobus, Dagmara Lisman, Malgorzata Michalczyk, Piotr Kaczka, Michal Krzysztofik, Danuta Piniewska-Rog, Anna Wojas-Pelc, Aneta Sitek, Andrzej Ossowski, Magdalena Spolnicka, Wojciech Branicki, Ewelina Pospiech.

Wystąpienie ustne: "Epigenetic signatures of smoking, alcohol abuse and BMI."

24-27.08.2022

22nd Congress of European Anthropology Association (EAA), 15th Congress of International Society for the Study of Human Growth and Clinical Auxology (ISGA), 5th International Conference of Evolutionary Medicine (ICEM)

- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Aneta Sitek, Magdalena Kobus, Iwona Rosset, Elżbieta Żądzińska.

Poster: „Association between maternal traits during pregnancy and 2D:4D digit ratio in polish children”.

27 - 29.08.2020

The 7th International Conference on Nutrition and Growth (N&G 2020) w (virtual conference).

- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Elżbieta Żądzińska.

Poster: „Association between duration of breastfeeding and BMI among individual aged 4-49 months in Poland”.

Przed uzyskaniem stopnia doktora

11 - 13.09.2019

Konferencja Polskiego Towarzystwa Antropologicznego

- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Iwona Rosset, Aneta Sitek, Marcin Słomka, Marta Sobalska-Kwapis, Dominik Strapagiel, Elżbieta Żądzińska.

Wystąpienie ustne (indywidualnie): „Rola kortyzolu w kształtowaniu komponentu mięśniowego i tłuszczowego u dzieci w wieku przedpokwitaniowym i wczesnopokwitaniowym”.

- Sitek Aneta, Paulina Pruszkowska-Przybylska, Iwona Rosset, Marta Kurek, Joanna Mietlińska, Justyna Karkus, Elżbieta Żądzińska.

- Wystąpienie ustne (indywidualnie): "Prenatalne i postnatalne uwarunkowania zmienności ciśnienia tętniczego u dzieci i młodzieży".
- 22 - 25.08.2018 21st Congress of European Anthropological Association (Odense, Dania)
- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Iwona Rosset, Aneta Sitek, Dominik Strapagiel, Elżbieta Żądzińska.
- Wystąpienie ustne (indywidualnie): „The body composition differences among Polish children aged 6-13 using the decision tree algorithms”.
- 24-26.09.2018 The Conference of Polish Society for Human and Evolution Studies (PTNCE)
- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Justyna Karkus, Joanna Mietlińska.
- Wystąpienie ustne (indywidualnie): „Agenesis of the third molars in the Polish population from the Neolith to modern times”.
- 18.11.2017 International Conference 25th Aschauer Soirée in Wroclaw „Growth and social environment”.
- Paulina Pruszkowska-Przybylska.
- Wystąpienie ustne (indywidualnie): „Changes in the birth weight and length among Polish newborns during 2 decades (90’s-10’s)”.
- 13- 15.09.2017 Konferencja Polskiego Towarzystwa Antropologicznego.
- Paulina Pruszkowska-Przybylska, Elżbieta Żądzińska, Iwona Rosset, Marta Sobalska-Kwapis, Marcin Słomka, Dominik Strapagiel, Aneta Sitek.
- Wystąpienie ustne (indywidualnie): „Wpływ karmienia piersią na proporcje i skład ciała u dzieci polskich w wieku 6-13 lat”.
- 26-29.10.2016 42nd Annual Meeting of the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD).
- Krystyna Wyka, Marcin Bartłomiejczyk, Beata Małachowska, Paulina Pruszkowska, Piotr Wróblewski, Agnieszka Szadkowska, Wojciech Młynarski, Wojciech Fendler.

Poster: „Temporal dynamics of serum let-7 g expression show its involvement in the decline of residual beta cell function”.

Tabela 3. Podsumowanie dorobku (Dane z dnia 21.10.2024 r.).

	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	Razem
Liczba komunikatów na konferencjach krajowych	21	0	21
Liczba komunikatów na konferencjach międzynarodowych	4	6	10
Liczba publikacji z listy JCR	7	15	22
Liczba publikacji spoza listy JCR	10	2	12

Cytacje: 120/85 – bez autocytacji (Web of Sciences), 133/93 – bez autocytacji (Scopus)
Indeks Hirscha: 6 (Web of Sciences), 7 (Scopus)

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

Staże zagraniczne

21.06-16.09.2022 Staż naukowy na Uniwersytecie Kopenhaskim w Zakładzie Genetyki Sądowej. Realizacja projektu: „Epigenetyczne podłoże procesu starzenia wśród osób z nagłym zatrzymaniem krążenia (NZK).” - projekt uzyskał dofinansowanie w ramach konkursu MINIATURA 5 (NCN), nr 2021/05/X/NZ1/01049. Rola w projekcie: kierownik projektu.

Efekt:

Pruszkowska-Przybylska, P., Dupont, M. E., Jacobsen, S. B., Smerup, M., Tfelt-Hansen, J., Morling, N., & Andersen, J. D. (2024). Evaluation of DNAmAge in paired fresh, frozen, and formalin-fixed paraffin-embedded heart tissues. Plos one, 19(5), e0299557. (IF=3,24; MNiSW=100) Praca będąca częścią rozprawy habilitacyjnej.

21.10 - 30.11.2019 Staż naukowy w The Centre for Genetic Origins of Health and Disease (University of Western Australia and Curtin University),

Perth (Australia). Tematyka badań: An epigenetic age acceleration from DNA methylation markers among severe preeclamptic and normotensive women. - projekt uzyskał dofinansowanie w ramach konkursu Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŁ wspierającego krótkoterminowe wyjazdy zagraniczne.

Efekt:

Pruszkowska-Przybylska, P., Brennecke, S., Moses, E. K., & Melton, P. E. (2022). Evaluation of epigenetic age calculators between preeclampsia and normotensive pregnancies in an Australian cohort. *Scientific Reports*, 12(1), 1664. (IF=4,997; MNiSW=140) Praca będąca częścią rozprawy habilitacyjnej.

08.2014- 02.2015

Staż naukowy na Uniwersytecie Kopenhaskim w Zakładzie Genetyki Sądowej. Realizacja części międzynarodowego projektu: „The EUROFORGEN-NoE ancestry informative marker (AIM) set for Middle eastern and European populations”

Efekt:

Praca magisterska oraz praca: Pereira, V., Freire-Aradas, A., Ballard, D., Børsting, C., Diez, V., Pruszkowska-Przybylska, P., Ribeiro, J., Achakzai, N. M., Aliferi, A., Bulbul, O., Carceles, M. D. P., Triki-Fendri, S., Rebai, A., Court, D. S., Morling, N., Lareu, M. V., Carracedo, Á., EUROFORGEN-NoE Consortium, & Phillips, C. (2019). Development and validation of the EUROFORGEN NAME (North African and Middle Eastern) ancestry panel. *Forensic science international. Genetics*, 42, 260–267. IF=5,64; MNiSW=45 (140))

Najważniejsze projekty badawcze

12.2021 - 12.2022

„Epigenetyczne podłoże procesu starzenia wśród osób z nagłym zatrzymaniem krążenia (NZK).” - projekt badawczy realizowany na Uniwersytecie Kopenhaskim, uzyskał dofinansowanie w ramach konkursu MINIATURA 5 (NCN), nr 2021/05/X/NZ1/01049, rola w projekcie: kierownik projektu (Zakres prac: zaprojektowanie badań, przeprowadzenie analiz statystycznych i bioinformatycznych, nadzorowanie prac zespołu, przygotowanie manuskryptu pracy).

05.2020 - 05.2021

„Analiza epigenomu w celach dochodzeniowo-śledczych - zwiększenie możliwości identyfikacyjnych i wykrywczych badań DNA” (numer projektu DOB-BIO10/06/01/2019). Wykonawca w projekcie (Zakres prac: rekrutacja badanych, dokonywanie

pomiarów antropometrycznych, tworzenie bazy danych, analizy statystyczne, pisanie manuskryptów naukowych).

- 03.2019 – 07-2024 Circulating microRNA profile among volleyball and handball players.
 Środki finansowe jednostek: Katedra Antropologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki; Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu; Zakład Antropologii PAN Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu. (Zakres prac: wykonywanie analiz ekspresji microRNA, opis wyników, tworzenie bazy danych, analiza wyników, przygotowanie manuskryptu).
- 09.2016 - 07.2020 Wpływ wybranych czynników prenatalnych, środowiskowych i biochemicznych na kształtowanie się elementów składu ciała człowieka na różnych etapach ontogenezy progresywnej. Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, grant nr 5811/E-345/M/2018. (Zakres prac: rekrutacja badanych, dokonywanie pomiarów antropometrycznych, tworzenie bazy danych, analizy statystyczne, pisanie manuskryptów naukowych).
- Wpływ karmienia piersią oraz sezonowości urodzenia na tempo rozwoju i proporcje ciała dzieci w wieku 1-4 lat. Fundusze Statutowe Katedry Antropologii WBiOŚ UŁ. (Zakres prac: rekrutacja badanych, dokonywanie pomiarów antropometrycznych, tworzenie bazy danych, analizy statystyczne, pisanie manuskryptów naukowych).
- 2013/2014 Wpływ wybranych czynników środowiskowych, psychologicznych, socjologicznych, na wartość wskaźnika BMI wśród łódzkich studentów - Fundusze Katedry Antropologii WBiOŚ UŁ. (Zakres prac: rekrutacja badanych, dokonywanie pomiarów antropometrycznych, tworzenie bazy danych, analizy statystyczne, pisanie manuskryptów naukowych).

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

Działania popularyzatorskie

- Udział w licznych wydarzeniach popularyzatorskich w latach 2011-2015 (Piknik Naukowy UŁ, Noc Biologów, Uniwersytet Łódzki dla dzieci, Festiwal Nauki, Techniki i Sztuki)
- Wywiady w gazetach Gazeta Wyborcza, biotechnologia.pl (marzec 2022).
- Wywiad w Radiu Łódź – epigenetyka (czerwiec 2022).
- Przyznanie nominacji do tytułu Osobowość Roku 2022 w kategorii Nauka za badania prowadzone w Australii przez Kapitułę Redakcji Dziennika Łódzkiego i zajęcie trzeciego miejsca w klasyfikacji końcowej w saski województwa łódzkiego (grudzień 2022).

Osiągnięcia dydaktyczne

- Dołączenie do Zrzeszenia Tutorów UŁ i opracowanie cyklu autorskich szkoleń podnoszących kompetencje dydaktyczne nauczycieli akademickich UŁ. W miesiącach czerwiec-wrzesień 2023 r. przeprowadziłam 191 godzin dydaktycznych szkoleń pt.: „Wykorzystanie narzędzi internetowych do pracy zdalnej oraz jako urozmaicenie zajęć stacjonarnych” oraz „Praca w grupie nie musi być nudna i mało efektywna!”
- Uzyskanie wyróżnienia w plebiscycie na Nauczyciela akademickiego Roku Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska. Wynik ze wszystkich ankiet wyniósł 4,95 semestr letni i 4,91 semestr zimowy
- Nagroda Dziekana III stopnia za osiągnięcia dydaktyczne w IV edycji konkursu o nagrodę dydaktyczną Dziekana Wydziału BiOŚ Uniwersytetu Łódzkiego
- Udział w projekcie Mistrzowie Dydaktyki - nauczanie metodą tutoringu wsparte szkoleniami zagranicznymi (Ghent University – Belgia) i międzynarodowym certyfikatem tutora (2021/2022)
- Trzykrotna praca z uczniami szkół średnich w ramach programu „Zdolny Uczeń - Świetny Student” wg stworzonego indywidualnie programu (w latach 2020-2022)
- Opieka nad studentami w programie Staż na Start (wg indywidualnego programu praktyk) (2018-2019)
- Opieka nad studentami (22 osoby) w programie Students’ Power (wg indywidualnego programu praktyk) (2020-2022)

- Wprowadzanie elementów pracy projektowej oraz metody tutoringu w realizacji zajęć dydaktycznych: Zajęcia fakultatywne (Ochrona środowiska III rok I stopnia) oraz Zrównoważony rozwój miast (Ekomiasto III rok I stopnia) (od roku akademickiego 2020/2021)
- Wypromowanie trzech magistrantów, pięciu licencjuszy

Tabela 4. Lista wypromowanych prac magisterskich.

Tytuł pracy	Magistrant
Związek stężenia tlenków azotu i pyłu zawieszonego PM10 z płodnością Polaków na przykładzie mieszkańców województwa łódzkiego, małopolskiego i podlaskiego The connection between the concentration of nitrogen oxides and particulate matter PM10 on fertility of Poles on the example of residents of the lodzkie, malopolskie and podlaskie voivodeship	Klaudia Sawicka
Znaczenie karmienia piersią w późniejszym kształtowaniu się proporcji ciała wśród dzieci w wieku 2-4 lat Importance of breastfeeding in the later development of body proportions among children aged 2-4 years	Anna Opoka
Związek pomiędzy stosowaniem używek w czasie ciąży, a późniejszym kształtowaniem się składu ciała dzieci i młodzieży The relationship between the use of stimulants during pregnancy and the subsequent formation of the body composition of children and adolescents	Marta Betlejewska

Tabela 5. Lista wypromowanych prac licencjackich.

Tytuł pracy	Licencjusz
Zieleń miejska, a stan zdrowia i jakość życia mieszkańców Impact of urban greenery to health and quality of life of citizens	Jan Ohde-Świętosławski
Wpływ zanieczyszczenia powietrza na parametry urodzeniowe noworodków w Polsce The impact of air pollution on the birth parameters of newborns in Poland	Agata Dryja
Metody molekularne i antropologiczne stosowane w kryminalistyce Molecular and anthropological methods used in forensics	Katarzyna Smyczek
Wpływ smogu na choroby układu oddechowego i układu krążenia w populacji polskiej i na świecie Impact of smog on diseases of the respiratory system and of the circulatory system in Polish and worldwide population	Klaudia Sawicka
Prenatalna ekspozycja na używki a późniejszy rozwój postnatalny człowieka na wczesnych etapach ontogenezy Prenatal exposure to stimulants and subsequent human postnatal development at early stages of ontogeny	Zuzanna Pawełczyk

- Od 10.2022 opieka nad doktorantką (mgr Anna Opoka) w roli promotora pomocniczego (praca pt. „Wpływ sposobu żywienia w pierwszych miesiącach życia na przebieg rozwoju fizycznego dziecka”)
- Prowadzenie zajęć na kierunkach studiów: Biomonitoring, Biologia, Ekomiasto, Ochrona środowiska, Biologia kryminalistyczna, Genetyka, Mikrobiologia.

(ćwiczenia z zakresu biologii i ekologii człowieka, auksologii i genetyki, seminaria dyplomowe).

7. Inne informacje dotyczące kariery zawodowej.

Najważniejsze nagrody, wyróżnienia

2023	Nagroda Dziekana III stopnia za osiągnięcia dydaktyczne
2023	Uzyskanie wyróżnienia w plebiscycie na Nauczyciela akademickiego Roku Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŁ
2023	Przyznanie nominacji do tytułu Osobowość Roku 2022 w kategorii Nauka przez Kapitułę Redakcji Dziennika Łódzkiego i zajęcie trzeciego miejsca w klasyfikacji końcowej w sakli województwa łódzkiego
2020	Nagroda Rektora za osiągnięcia zespołowe
2020	Wyróżnienie pracy doktorskiej pt. „Znaczenie czynników prenatalnych, środowiskowych oraz parametrów biochemicznych w kształtowaniu się proporcji i składu ciała oraz tempa rozwoju człowieka na różnych etapach ontogenezy progresywnej”
2016	Medal za chlubne studia - wręczany najlepszemu absolwentowi kierunku
2015	Wyróżnienie w Ogólnopolskim konkursie Studencki Nobel
2014	Stypendium Ministra Szkolnictwa Wyższego dla najlepszych studentów za wybitne osiągnięcia
2014	Wyróżnienie Polskiego Towarzystwa Antropologicznego za przeprowadzenie badań „Wpływ wybranych czynników środowiskowych, psychologicznych, socjologicznych na wartość wskaźnika BMI wśród łódzkich studentów”

Inna aktywność, dodatkowe uprawnienia, szkolenia

- szkolenie “Zarządzanie projektami na uczelni” 7-8.12.2022 w Warszawie (Organizowane przez MNiSW)
- szkoła letnia z dziedziny auksologii w Niemczech International Summer School “Child and Adolescent Growth and Nutrition” Potsdam – Gülpe, Germany (03-08.07.2017 oraz 02-07.2018)
- szkolenie z pisania publikacji naukowych organizowane przez FNP (21- 22.07.2015)
- szkolenie z zakresu epigenetyki "Ensuring ChIP-seq Success" and "Toolbox for studying non coding RNAs" (12.06.2015)

- staż w redakcji portalu biotechnologia.pl (01-31.07.2014)
- uprawnienia pedagogiczne (2013)

Osiągnięcia pozanaukowe

- zdobycie odznaki Zdobywcy Korony Gór Polski (styczeń 2024)
- nagrody w amatorskich zawodach biegowych (m in. 1 miejsce w biegu UŁ czerwiec 2024 (5 km), 1 miejsce w Biegu Mikołajkowym grudzień 2022 (5 km), 1 miejsce w biegu Dzika Dyszka (10 km) wrzesień 2022 (Kategorie Open – Kobiet).
- licencja ratownika WOPR (2009)
- patent żeglarski (2007)

Dalsze plany naukowe

Plany na najbliższy lata koncentrują się wokół dwóch zagadnień badawczych: wskaźnika palcowego 2D:4D oraz wieku epigenetycznego jako kontynuacja zagadnień habilitacyjnych. Zamierzam prowadzić dalsze badania dotyczące wskaźnika 2D:4D i jego powiązań z nowymi fenotypami na nowych populacjach na szerszą skalę.

Ponadto planuję przyjrzenie się zagadnieniu dobierania się w pary, a podobieństwem/różnicą w 2D:4D u par. Badania zostałyby przeprowadzone w kooperacji z psychologami, którzy opracowaliby kwestionariusz psychologiczny oraz dodatkowo ocenie poddane zostałyby inne parametry związane z atrakcyjnością człowieka. Ponieważ widzę także potencjał aplikacyjny tego zagadnienia nawiązałam już współpracę z informatykami, którzy mogliby stworzyć aplikację umożliwiającą znalezienie partnera na podstawie przebadanych parametrów. W 2022 składałam wniosek grantowy w konkursie LIDER XIII (projekt pt: „Zastosowanie wskaźnika 2D:4D jako narzędzia dobierania w pary” nr: 0090/L-13/2022), niestety projekt nie uzyskał finansowania, ale został stosunkowo wysoko oceniony. Dlatego na pewno powrócę do zagadnienia starając się o ponowne finansowanie.

Ponadto dzięki nawiązanej współpracy z Zakładem Medycyny Snu i Zaburzeń Metabolicznych Międzywydziałowej Katedry Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, gdzie od marca 2020 roku rozpoczęły się prace nad projektem „Ocena wybranych czynników antropometrycznych, hormonalnych, poziomu białek regulatorowych rytmu okołodobowego oraz jakości życia i snu wśród studentów”. Dzięki przeprowadzonym badaniom możliwy będzie do określenia zestaw czynników w tym jakości życia i snu powiązanych ze składem ciała i wskaźnikiem palcowy 2D:4D.

Ponadto chciałabym bliżej przyjrzeć się powiązaniu wskaźnika 2D:4D i wieku epigenetycznego. Rozszerzając badania na większej populacji, uwzględniając w analizach dodatkowe zmienne.

Bibliografia

Abdel-Dayem, M. M. & Elgendy, M. S. (2009). Effects of chronic estradiol treatment on the thyroid gland structure and function of ovariectomized rats. *BMC Res. Notes* 2(1), 1–7.

Al-Dujaili, E. A., Munir, N. & Iniesta, R. R. (2016). Effect of vitamin D supplementation on cardiovascular disease risk factors and exercise performance in healthy participants: A randomized placebo-controlled preliminary study. *Ther. Adv. Endocrinol. Metab.* 7(4), 153–165.

Arduc, A., Aycicek Dogan, B., Bilmez, S., Imga Nasiroglu, N., Tuna, M. M., Isik, S., Berker, D., & Guler, S. (2015). High prevalence of Hashimoto's thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome: does the imbalance between estradiol and progesterone play a role?. *Endocrine research*, 40(4), 204–210.

Aubert, G., P. M. Lansdorp. 2008. „Telomeres and Aging.” *Physiological Reviews* 88, no. 2: 557–579

Bazaes, R. A., Alegría, A., Pittaluga, E., Ávila, A., Íñiguez, G., & Mericq, V. (2004). Determinants of insulin sensitivity and secretion in very-low-birth-weight children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(3), 1267-1272.

Bagepally, B. S., Majumder, J., & Kotadiya, S. (2020). Association between the 2d: 4d and cardiovascular risk factors: Body mass index, blood pressure and body fat. *Early Human Development*, 151, 105193.

Barut, C., Tan, Ü., & Dogan, A. (2008). Association of height and weight with second to fourth digit ratio (2D: 4D) and sex differences. *Perceptual and Motor Skills*, 106(2), 627-632.

Bell, C. G., Lowe, R., Adams, P. D., Baccarelli, A. A., Beck, S., Bell, J. T., Christensen, B. C., Gladyshev, V. N., Heijmans, B. T., Horvath, S., Ideker, T., Issa, J. J., Kelsey, K. T., Marioni, R. E., Reik, W., Relton, C. L., Schalkwyk, L. C., Teschendorff, A. E., Wagner, W., Zhang, K., ... Rakyan, V. K. (2019). DNA methylation aging clocks: challenges and recommendations. *Genome biology*, 20(1), 249.

Benvenga, S., Tuccari, G., Ieni, A., & Vita, R. (2018). Thyroid gland: anatomy and physiology. *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 4, 382-390.

Bulla, A., De Witt, B., Ammerlaan, W., Betsou, F., & Lescuyer, P. (2016). Blood DNA yield but not integrity or methylation is impacted after long-term storage. *Biopreservation and biobanking*, 14(1), 29-38.

Catalano, R., Bruckner, T. 2006. „Secondary Sex Ratios and Male Lifespan: Damaged or Culled Cohorts.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, no. 5: 1639–1643

Chen, B. H., Marioni, R. E., Colicino, E., Peters, M. J., Ward-Caviness, C. K., Tsai, P. C., ... & Horvath, S. (2016). DNA methylation-based measures of biological age: meta-analysis predicting time to death. *Aging (Albany NY)*, 8(9), 1844.

Crimmins, E. M., B. Thyagarajan, M. E. Levine, D. R. Weir, J. Faul. (2021) „Associations of Age, Sex, Race/Ethnicity, and Education With 13 Epigenetic Clocks in a Nationally Representative US Sample: The Health and Retirement Study.” *Journals of Gerontology: Series A* 76, no. 6: 1117–1123

Çetin, R., Can, M., & Özcan, E. (2016). The relationship between testosterone and oestrogen level of the cord blood and length of fingers of newborns 2D: 4D. *Balıkesir Health Sciences Journal*, 5(2), 75-82.

- Danborn, B., Adebisi, S. S., Adelaiye, A. B., & Ojo, S. A. (2010). Relationship between digit ratio (2D: 4D) and birth weight in Nigerians. *The Anthropologist*, 12(2), 127-130.
- de Lima Camillo, L. P., Lapierre, L. R., & Singh, R. (2022). A pan-tissue DNA-methylation epigenetic clock based on deep learning. *npj Aging*, 8(1), 4.
- Eghbali, E. (2016). The relationship between digit ratio (2D: 4D) and physical fitness in boys 7 to 13 years. *Physical Activity Review*, (4), 154-162.
- Eichler, A., Heinrich, H., Moll, G. H., Beckmann, M. W., Goecke, T. W., Fasching, P. A., ... & Kornhuber, J. (2018). Digit ratio (2D: 4D) and behavioral symptoms in primary-school aged boys. *Early human development*, 119, 1-7.
- Freire-Aradas, A., Phillips, C., & Lareu, M. V. (2017). Forensic individual age estimation with DNA: from initial approaches to methylation tests. *Forensic Sci Rev*, 29(2), 121-144.
- Fitzgerald, J. S., Orysiak, J., Wilson, P. B., Mazur-Różycka, J., & Obminski, Z. (2018). Association between vitamin D status and testosterone and cortisol in ice hockey players. *Biology of sport*, 35(3), 207.
- Garn, S. M., Burdi, A. R., Babler, W. J., & Stinson, S. (1975). Early prenatal attainment of adult metacarpal-phalangeal rankings and proportions. *American journal of physical anthropology*, 43(3), 327-332.
- Hahnen, C., Freeman, C. G., Haldar, N., Hamati, J. N., Bard, D. M., Murali, V., ... & van Helmond, N. (2020). Accuracy of vital signs measurements by a smartwatch and a portable health device: validation study. *JMIR mHealth and uHealth*, 8(2), e16811.
- Harman, D. (2006). Free radical theory of aging: an update: increasing the functional life span. *Annals of the New York academy of sciences*, 1067(1), 10-21.
- Hales, C. N., & Barker, D. J. (1992). Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, 35, 595-601.
- Heijboer, A. C., Oosterwerff, M., Schrotten, N. F., Eekhoff, E. M., Chel, V. G., de Boer, R. A., ... & Lips, P. (2015). Vitamin D supplementation and testosterone concentrations in male human subjects. *Clinical endocrinology*, 83(1), 105-110.
- Hannum, G., Guinney, J., Zhao, L., Zhang, L., Hughes, G., Sada, S., Klotzle, B., Bibikova, M., Fan, J. B., Gao, Y., Deconde, R., Chen, M., Rajapakse, I., Friend, S., Ideker, T., & Zhang, K. (2013). Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Molecular cell*, 49(2), 359-367.
- Hell, B., & Päßler, K. (2011). Are occupational interests hormonally influenced? The 2D: 4D-interest nexus. *Personality and Individual Differences*, 51(4), 376-380.
- Herbert, M., Kalleas, D., Cooney, D., Lamb, M., & Lister, L. (2015). Meiosis and maternal aging: insights from aneuploid oocytes and trisomy births. *Cold Spring*
- Hewitt, S. M., Lewis, F. A., Cao, Y., Conrad, R. C., Cronin, M., Danenberg, K. D., ... & Warrington, J. A. (2008). Tissue handling and specimen preparation in surgical pathology: issues concerning the recovery of nucleic acids from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 132(12), 1929-1935.
- Hickey, M., Doherty, D. A., Hart, R., Norman, R. J., Mattes, E., Atkinson, H. C., & Sloboda, D. M. (2010). Maternal and umbilical cord androgen concentrations do not predict digit ratio (2D: 4D) in girls: a prospective cohort study. *Psychoneuroendocrinology*, 35(8), 1235-1244.

- Hönekopp, J., Bartholdt, L., Beier, L., & Liebert, A. (2007). Second to fourth digit length ratio (2D: 4D) and adult sex hormone levels: new data and a meta-analytic review. *Psychoneuroendocrinology*, 32(4), 313-321.
- Hönekopp, J., & Watson, S. (2010). Meta-analysis of digit ratio 2D: 4D shows greater sex difference in the right hand. *American Journal of Human Biology*, 22(5), 619-630.
- Hönekopp, J. (2012). Digit Ratio 2 D: 4 D in Relation to Autism Spectrum Disorders, Empathizing, and Systemizing: A Quantitative Review. *Autism Research*, 5(4), 221-230.
- Hollier, L. P., Keelan, J. A., Jamnadass, E. S., Maybery, M. T., Hickey, M., & Whitehouse, A. J. (2015). Adult digit ratio (2D: 4D) is not related to umbilical cord androgen or estrogen concentrations, their ratios or net bioactivity. *Early human development*, 91(2), 111-117.
- Horvath S. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome biology*, 14(10), R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>
- Horvath, S., Oshima, J., Martin, G. M., Lu, A. T., Quach, A., Cohen, H., ... & Raj, K. (2018). Epigenetic clock for skin and blood cells applied to Hutchinson Gilford Progeria Syndrome and ex vivo studies. *Aging (Albany NY)*, 10(7), 1758.
- Huber, S. E., Lenz, B., Kornhuber, J., & Müller, C. P. (2017). Prenatal androgen-receptor activity has organizational morphological effects in mice. *PLoS one*, 12(11), e0188752.
- Illumina. *GenomeStudio Methylation Module v1.8 User Guide (11319130)*. 2010;
- Jägetoft, Z., Unenge Hallerbäck, M., Julin, M., Bornehag, C. G., & Wikström, S. (2022). Anthropometric measures do not explain the 2D: 4D ratio sexual dimorphism in 7-year-old children. *American Journal of Human Biology*, 34(9), e23776.
- Kalichman, L., Batsevich, V., & Kobylansky, E. (2019). Finger length ratio in longevity populations. *Am J Hum Biol*, 32(2), e23325. doi:10.1002/ajhb.23325
- Kerrigan, S. (2013). Sampling, storage and stability. *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*, 2, 335-347.
- Kobus, M., Sitek, A., Antoszewski, B., Roźniński, J., Pełka, J., & Żądzińska, E. (2021). Prenatal oestrogen-testosterone balance as a risk factor of migraine in adults. *The journal of headache and pain*, 22, 1-8.
- Kokkat, T. J., Patel, M. S., McGarvey, D., LiVolsi, V. A., & Baloch, Z. W. (2013). Archived formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) blocks: A valuable underexploited resource for extraction of DNA, RNA, and protein. *Biopreservation and biobanking*, 11(2), 101-106.
- Koop, B. E., Reckert, A., Becker, J., Han, Y., Wagner, W., & Ritz-Timme, S. (2020). Epigenetic clocks may come out of rhythm-implications for the estimation of chronological age in forensic casework. *International journal of legal medicine*, 134(6), 2215-2228.
- Kowal, M., Sorokowski, P., Żelaźniewicz, A., Nowak, J., Orzechowski, S., Żurek, G., Żurek, A., Juskiewicz, A., Wojtycka, L., Sieniuc, W., Poniatowska, M., Tarnowska, K., Kowalska, K., Drabik, K., Łukaszek, P., Krawczyk, K., Stefaniak, T., & Danek, N. (2020). No relationship between the digit ratios (2D:4D) and salivary testosterone change: Study on men under an acute exercise. *Scientific reports*, 10(1), 10068. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66915-9>
- Koziel, S., Kociuba Mail, M., Chakraborty, R., & Ignasiak, Z. (2017). Physical Fitness And Digit Ratio (2D:4D) In Male Students From Wrocław, Poland. *Collegium antropologicum*, 41(1), 31-37.

- Kozieł, S., Kociuba, M., Chakraborty, R., Sitek, A., & Ignasiak, Z. (2018). Further evidence of an association between low second-to-fourth digit ratio (2d: 4d) and selection for the uniformed services: a study among police personnel in Wrocław, Poland. *Journal of Biosocial Science*, 50(4), 527-539.
- Körner, L. M., Schaper, M. L., Pause, B. M., & Heil, M. (2020). Parent-reports of sex-typed play preference in preschool children: Relationships to 2D: 4D digit ratio and older siblings' sex. *Archives of Sexual Behavior*, 49, 2715-2724.
- Kyriakidis, I. (2021). Data regarding 2D:4D and other digit ratios in Greek population. *Data in brief* 34:106724.
- Lamminpää, R., Vehviläinen-Julkunen, K., Gissler, M., & Heinonen, S. (2012). Preeclampsia complicated by advanced maternal age: a registry-based study on primiparous women in Finland 1997-2008. *BMC pregnancy and childbirth*, 12, 47. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-12-47> Harbor perspectives in biology, 7(4), a017970.
- Lenz, B., Bouna-Pyrrou, P., Mühle, C., & Kornhuber, J. (2018). Low digit ratio (2D: 4D) and late pubertal onset indicate prenatal hyperandrogenization in alcohol binge drinking. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 86, 370-378.
- Lerchbaum, E., Pilz, S., Trummer, C., Schwetz, V., Pachernegg, O., Heijboer, A. C., & Obermayer-Pietsch, B. (2017). Vitamin D and testosterone in healthy men: a randomized controlled trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(11), 4292-4302.
- Levine, M. E., Lu, A. T., Quach, A., Chen, B. H., Assimes, T. L., Bandinelli, S., ... & Horvath, S. (2018). An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (alban NY)*, 10(4), 573.
- Li, S., Washburn, K. A., Moore, R., Uno, T., Teng, C., Newbold, R. R., ... & Negishi, M. (1997). Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer research*, 57(19), 4356-4359.
- Li, W., Changsheng, C., Jiangfang, F., Bin, G., Nanyan, Z., Xiaomiao, L., ... & Qiuhe, J. (2010). Effects of sex steroid hormones, thyroid hormone levels, and insulin regulation on thyrotoxic periodic paralysis in Chinese men. *Endocrine*, 38, 386-390.
- Li, Y., Pan, X., Roberts, M. L., Liu, P., Kotchen, T. A., Cowley Jr, A. W., ... & Kidambi, S. (2018). Stability of global methylation profiles of whole blood and extracted DNA under different storage durations and conditions. *Epigenomics*, 10(6), 797-811.
- Li A., Koch Z., & Ideker T. (2022a). Epigenetic aging: Biological age prediction and informing a mechanistic theory of aging. *Journal of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1111/joim.13533> PMID: 35726002
- Li A., Kane A. E., Mueller A., English B., Arena A., Vera D., et al. (2022b). Novel feature selection methods for construction of accurate epigenetic clocks. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009938> PMID: 35984867
- Li, M., Usui, N., & Shimada, S. (2023). Prenatal sex hormone exposure is associated with the development of autism spectrum disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2203.
- Liu Z, Kuo P-L, Horvath S, Crimmins E, Ferrucci L, Levine M (2019) Correction: A new aging measure captures morbidity and mortality risk across diverse subpopulations from NHANES IV: A cohort study. *PLoS Med* 16(2): e1002760.
- Lippa, R. A. (2003). Are 2D: 4D finger-length ratios related to sexual orientation? Yes for men, no for women. *Journal of personality and social psychology*, 85(1), 179.
- Lippa, R. A. (2006). Finger lengths, 2D: 4D ratios, and their relation to gender-related personality traits and the Big Five. *Biological Psychology*, 71(1), 116-121.

- Lu, A. T., Quach, A., Wilson, J. G., Reiner, A. P., Aviv, A., Raj, K., ... & Horvath, S. (2019a). DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging (alban NY)*, 11(2), 303.
- Lu, A. T., Seeboth, A., Tsai, P. C., Sun, D., Quach, A., Reiner, A. P., ... & Horvath, S. (2019b). DNA methylation-based estimator of telomere length. *Aging (Albany NY)*, 11(16), 5895.
- Lutchmaya, S., Baron-Cohen, S., Raggatt, P., Knickmeyer, R., & Manning, J. T. (2004). 2nd to 4th digit ratios, fetal testosterone and estradiol. *Early human development*, 77(1-2), 23-28.
- Lydecker, J. A., Pisetsky, E. M., Mitchell, K. S., Thornton, L. M., Kendler, K. S., Reichborn-Kjennerud, T., ... & Mazzeo, S. E. (2012). Association between co-twin sex and eating disorders in opposite sex twin pairs: evaluations in North American, Norwegian, and Swedish samples. *Journal of psychosomatic research*, 72(1), 73-77.
- Manning, J. T., Scutt, D., Wilson, J., & Lewis-Jones, D. I. (1998a). The ratio of 2nd to 4th digit length: a predictor of sperm numbers and concentrations of testosterone, luteinizing hormone and oestrogen. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 13(11), 3000-3004.
- Manning, J. T., & Wood, D. (1998b). Fluctuating asymmetry and aggression in boys. *Human Nature*, 9, 53-65.
- Manning, J. T., Bundred, P. E., & Mather, F. M. (2004). Second to fourth digit ratio, sexual selection, and skin colour. *Evolution and Human Behavior*, 25(1), 38-50.
- Manning, J. T., & Fink, B. (2008). Digit ratio (2D: 4D), dominance, reproductive success, asymmetry, and sociosexuality in the BBC Internet Study. *American Journal of Human Biology*, 20(4), 451-461.
- Manning, J. T., & Fink, B. (2011a). Is low digit ratio linked with late menarche? Evidence from the BBC internet study. *American Journal of Human Biology*, 23(4), 527-533.
- Manning, J. T., & Fink, B. (2011b). Digit ratio (2D: 4D) and aggregate personality scores across nations: Data from the BBC internetstudy. *Personality and Individual Differences*, 51(4), 387-391
- Manning, J. T., & Fink, B. (2018). Sexual dimorphism in the ontogeny of second (2D) and fourth (4D) digit lengths, and digit ratio (2D: 4D). *American Journal of Human Biology*, 30(4), e23138.
- Manning, J. T., Parpa, K., Kobus, M., Mason, L., & Michaelides, M. (2024). Is digit ratio (2D: 4D) a biomarker for lactate? Evidence from a cardiopulmonary test on professional male footballers. *Early Human Development*, 192, 105994.
- Manning, J. T., Fink, B., & Trivers, R. (2024). Digit ratio (2D: 4D; Right-left 2D: 4D) and multiple phenotypes for same-sex attraction: The BBC Internet study revisited. *Archives of Sexual Behavior*, 53(1), 213-222.
- Malas, M. A., Dogan, S., Evcil, E. H., & Desdicioglu, K. (2006). Fetal development of the hand, digits and digit ratio (2D: 4D). *Early human development*, 82(7), 469-475.
- Massoomi, M. R., & Handberg, E. M. (2019). Increasing and evolving role of smart devices in modern medicine. *European Cardiology Review*, 14(3), 181.
- Malinowski, A., & Bożiłow, W. (1997). *Podstawy antropometrii: metody, techniki, normy*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Matchock, R. L. (2008). Low digit ratio (2D: 4D) is associated with delayed menarche. *American Journal of Human Biology*, 20(4), 487-489.
- McEwen L. M., O'Donnell K. J., McGill M. G., Edgar R. D., Jones M. J., MacIsaac J. L., et al. (2020). The PedBE clock accurately estimates DNA methylation age in pediatric buccal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(38), 23329-23335

- McIntyre, M. H. (2006). The use of digit ratios as markers for perinatal androgen action. *Reproductive biology and endocrinology*, 4, 1-9.
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23-38.
- Moran, S., Vizoso, M., Martínez-Cardús, A., Gomez, A., Matías-Guiu, X., Chiavenna, S. M., ... & Esteller, M. (2014). Validation of DNA methylation profiling in formalin-fixed paraffin-embedded samples using the Infinium HumanMethylation450 Microarray. *epigenetics*, 9(6), 829-833.
- Mortlock, D. P., & Innis, J. W. (1997). Mutation of HOXA13 in hand-foot-genital syndrome. *Nature genetics*, 15(2), 179-180.
- Moreira, R. M., Curty, F. H., Lisboa, P. C., Amaral, D., Ortiga-Carvalho, T. M., & Pazos-Moura, C. C. (2003). Estrogen modulates neuromedin B effects on thyrotropin and prolactin release in vitro. *Life sciences*, 72(8), 917-923.
- Muller, D. C., Manning, J. T., Hopper, J. L., English, D. R., Giles, G. G., & Severi, G. (2013). No strong association between second to fourth digit ratio (2D:4D) and adult anthropometric measures with emphasis on adiposity. *Annals of Human Biology*, 40(2), 201–204.
- Neel J. V. (1962). Diabetes mellitus: a „thrifty” genotype rendered detrimental by „progress”?. *American journal of human genetics*, 14(4), 353–362.
- Noroozi, R., Ghafouri-Fard, S., Pisarek, A., Rudnicka, J., Spolnicka, M., Branicki, W., ... & Pośpiech, E. (2021). DNA methylation-based age clocks: From age prediction to age reversion. *Ageing Research Reviews*, 68, 101314.
- Noroozi, R., Rudnicka, J., Pisarek, A., Wysocka, B., Masny, A., Boroń, M., Migacz-Gruszka, K., Pruszkowska-Przybylska, P., Kobus, M., Lisman, D., Zielińska, G., Iljin, A., Wiktorska, J. A., Michalczyk, M., Kaczka, P., Krzysztofik, M., Sitek, A., Ossowski, A., Spólnicka, M., Branicki, W., ... Pośpiech, E. (2023). Analysis of epigenetic clocks links yoga, sleep, education, reduced meat intake, coffee, and a SOCS2 gene variant to slower epigenetic aging. *GeroScience*, 10.1007/s11357-023-01029-4. Advance online publication.
- Pavanello, S., Campisi, M., Fabozzo, A., Cibir, G., Tarzia, V., Toscano, G., & Gerosa, G. (2020). The biological age of the heart is consistently younger than chronological age. *Scientific Reports*, 10(1), 10752.
- Pearce, E. E., Alsaggaf, R., Katta, S., Dagnall, C., Aubert, G., Hicks, B. D., ... & Gadalla, S. M. (2022). Telomere length and epigenetic clocks as markers of cellular aging: a comparative study. *Geroscience*, 44(3), 1861-1869.
- Peeters, M. W., Van Aken, K., & Claessens, A. L. (2013). The left hand second to fourth digit ratio (2D:4D) is not related to any physical fitness component in adolescent girls. *PloS one*, 8(4), e59766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059766>
- Pilz, S. et al. Effect of vitamin D supplementation on testosterone levels in men. *Horm. Metab. Res.* 43(03), 223–225 (2011).
- Ponholzer, A., Plas, E., Schatzl, G., Jungwirth, A., & Madersbacher, S. (2002). Association of DHEA-S and estradiol serum levels to symptoms of aging men. *The Aging Male*, 5(4), 233-238.
- Pruszkowska-Przybylska, P., Sitek, A., Rosset, I., Sobalska-Kwapis, M., Słomka, M., Strapagiel, D., & Żądzińska, E. (2018). Association of the 2D: 4D digit ratio with body composition among the Polish children aged 6-13 years. *Early human development*, 124, 26- 32. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2018.08.001>
- Prins, G. S., Birch, L., Tang, W. Y., & Ho, S. M. (2007). Developmental estrogen exposures predispose to prostate carcinogenesis with aging. *Reproductive toxicology*, 23(3), 374-382.

Rafl, J., Bachman, T. E., Rafl-Huttova, V., Walzel, S., & Rozanek, M. (2022). Commercial smartwatch with pulse oximeter detects short-time hypoxemia as well as standard medical-grade device: Validation study. *Digital health*, 8, 20552076221132127.

R: The R Project for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>.

Raeuori, A., Linna, M. S., & Keski-Rahkonen, A. (2014). Prenatal and perinatal factors in eating disorders: a descriptive review. *International Journal of Eating Disorders*, 47(7), 676-685. Rayan, 2021

Rich-Edwards, J. W., Kleinman, K., Michels, K. B., Stampfer, M. J., Manson, J. E., Rexrode, K. M., ... & Willett, W. C. (2005). Longitudinal study of birth weight and adult body mass index in predicting risk of coronary heart disease and stroke in women. *Bmj*, 330(7500), 1115.

Richards, G., Browne, W. V., & Constantinescu, M. (2021). Digit ratio (2D: 4D) and amniotic testosterone and estradiol: An attempted replication of Lutchmaya et al.(2004). *Journal of developmental Origins of Health and Disease*, 12(6), 859-864.

Richards, G., Browne, W. V., Aydin, E., Constantinescu, M., Nave, G., Kim, M. S., & Watson, S. J. (2020). Digit ratio (2D: 4D) and congenital adrenal hyperplasia (CAH): Systematic literature review and meta-analysis. *Hormones and Behavior*, 126, 104867.

Ranson, R., Stratton, G., & Taylor, S. R. (2015). Digit ratio (2D: 4D) and physical fitness (Eurofit test battery) in school children. *Early human development*, 91(5), 327-331.

Ronalds, G., Phillips, D. I. W., Godfrey, K. M., & Manning, J. T. (2002). The ratio of second to fourth digit lengths: a marker of impaired fetal growth?. *Early Human Development*, 68(1), 21-26.

Ross, K. M., Carroll, J. E., Horvath, S., Hobel, C. J., Coussons-Read, M. E., & Dunkel Schetter, C. (2020). Epigenetic age and pregnancy outcomes: GrimAge acceleration is associated with shorter gestational length and lower birthweight. *Clinical epigenetics*, 12(1), 120.

Shammas M. A. (2011). Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 14(1), 28–34. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32834121b1>

Schmidt, J., Brännström, M., Landin-Wilhelmsen, K., & Dahlgren, E. (2011). Reproductive hormone levels and anthropometry in postmenopausal women with polycystic ovary syndrome (PCOS): a 21-year follow-up study of women diagnosed with PCOS around 50 years ago and their age-matched controls. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(7), 2178-2185.

Schmidt, J., Dahlgren, E., Bryman, I., Berntorp, K., Trimpou, P., Wilhelmsen, L., & Landin-Wilhelmsen, K. (2017). High androgen levels protect against hypothyroidism. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 96(1), 39–46. <https://doi.org/10.1111/aogs.13054>

Sheen, J. J., Huang, Y., Andrikopoulou, M., Wright, J. D., Goffman, D., D'Alton, M. E., & Friedman, A. M. (2020). Maternal Age and Preeclampsia Outcomes during Delivery Hospitalizations. *American journal of perinatology*, 37(1), 44–52. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1694794>

Sitek, A., Kozieł, S., Kasielska-Trojan, A., & Antoszewski, B. (2018). Do skin and hair pigmentation in prepubertal and early pubertal stages correlate with 2D: 4D?. *American Journal of Human Biology*, 30(6), e12631.

Tabachnik, M., Sheiner, E., & Wainstock, T. (2020). The association between second to fourth digit ratio, reproductive and general health among women: findings from an Israeli pregnancy cohort. *Scientific reports*, 10(1), 6341.

- Tomkinson, J. M., & Tomkinson, G. R. (2017). Digit ratio (2D: 4D) and muscular strength in adolescent boys. *Early Human Development*, 113, 7-9.
- Traxler, L., Lagerwall, J., Eichhorner, S., Stefanoni, D., D'Alessandro, A., & Mertens, J. (2021). Metabolism navigates neural cell fate in development, aging and neurodegeneration. *Disease Models & Mechanisms*, 14(8), dmm048993.
- Trivers, R., Manning, J., & Jacobson, A. (2006). A longitudinal study of digit ratio (2D: 4D) and other finger ratios in Jamaican children. *Hormones and behavior*, 49(2), 150-156.
- Torche, F., & Kleinhaus, K. (2012). Prenatal stress, gestational age and secondary sex ratio: the sex-specific effects of exposure to a natural disaster in early pregnancy. *Human reproduction*, 27(2), 558-567.
- Ullah, R. A., Ali, A., Hussain, N., & Malik, A. (2021). APPLICATIONS OF EPIGENETICS IN FORENSIC INVESTIGATIONS: A BRIEF REVIEW. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2021(1).
- Vaught, J.B., & Henderson, M.K. (2011). Biological sample collection, processing, storage and information management. IARC scientific publications, 163, 23-42.
- Vandenput, L., & Ohlsson, C. (2009). Estrogens as regulators of bone health in men. *Nature Reviews Endocrinology*, 5(8), 437-443.
- Vásquez-Alvarez, S., Bustamante-Villagomez, S. K., Vazquez-Marroquin, G., Porchia, L. M., Pérez-Fuentes, R., Torres-Rasgado, E., ... & Gonzalez-Mejia, M. E. (2021). Metabolic age, an index based on basal metabolic rate, can predict individuals that are high risk of developing metabolic syndrome. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 28, 263-270.
- Vidaki, A., & Kayser, M. (2018). Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics. *Forensic Science International: Genetics*, 37, 180-195.
- Wang, K., Liu, H., Hu, Q., Wang, L., Liu, J., Zheng, Z., Zhang, W., Ren, J., Zhu, F., & Liu, G. H. (2022). Epigenetic regulation of aging: implications for interventions of aging and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 374.
- Wang, X., Liu, X., Xiao, R., Fang, Y., Zhou, F., Gu, M., ... & Zhao, Y. (2024). Histone lactylation dynamics: Unlocking the triad of metabolism, epigenetics, and immune regulation in metastatic cascade of pancreatic cancer. *Cancer Letters*, 598, 217117.
- Wilcoxon, J. S., & Redei, E. E. (2004). Prenatal programming of adult thyroid function by alcohol and thyroid hormones. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 287(2), E318-E326. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00022.2004>
- Wu, X., Chen, W., Lin, F., Huang, Q., Zhong, J., Gao, H., ... & Liang, H. (2019). DNA methylation profile is a quantitative measure of biological aging in children. *Aging (Albany NY)*, 11(22), 10031.
- Yogev, Y., Melamed, N., Bardin, R., Tenenbaum-Gavish, K., Ben-Shitrit, G., & Ben-Haroush, A. (2010). Pregnancy outcome at extremely advanced maternal age. *American journal of obstetrics and gynecology*, 203(6), 558-e1.
- Ziadeh S. M. (2002). Maternal and perinatal outcome in nulliparous women aged 35 and older. *Gynecologic and obstetric investigation*, 54(1), 6-10. <https://doi.org/10.1159/000064689>
- Weisburger, J. H., Yamamoto, R. S., Korzis, J., & Weisburger, E. K. (1966). Liver cancer: neonatal estrogen enhances induction by a carcinogen. *Science*, 154(3749), 673-674.

Xiao F-H, Chen X-Q, He Y-H, Kong Q-P (2018) Accelerated DNA methylation changes in middle-aged men define sexual dimorphism in human lifespans. *Clin Epigenetics* 10:133.

Xu, K., K. Zhang, Y. Wang, and Y. Gu. (2024) „Comprehensive Review of Histone Lactylation: Structure, Function, and Therapeutic Targets.” *Biochemical Pharmacology* 225: 116331.

Zhang Q., Vallerga C. L., Walker R. M., Lin T., Henders A. K., Montgomery G. W., et al. (2019). Improved precision of epigenetic clock estimates across tissues and its implication for biological ageing. *Genome medicine*, 11(1), 1–11.

Zhang, K., Yang, X., Zhang, M., Wang, C., Fang, P., Xue, M., ... & Gong, P. (2020). Revisiting the relationships of 2D: 4D with androgen receptor (AR) gene and current testosterone levels: Replication study and meta-analyses. *Journal of neuroscience research*, 98(2), 353-370.

Yu, X., Yang, J., Xu, J., Pan, H., Wang, W., Yu, X., & Shi, S. (2024). Histone lactylation: from tumor lactate metabolism to epigenetic regulation. *International journal of biological sciences*, 20(5), 1833–1854. <https://doi.org/10.7150/ijbs.9149>

Zheng, Z., & Cohn, M. J. (2011). Developmental basis of sexually dimorphic digit ratios. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(39), 16289-16294.

Zhu, T., Liu, J., Beck, S., Pan, S., Capper, D., Lechner, M., ... & Teschendorff, A. E. (2022). A pan-tissue DNA methylation atlas enables in silico decomposition of human tissue methylomes at cell-type resolution. *Nature methods*, 19(3), 296-306.