

Agnieszka Ziółkowska, dr hab., prof. UZ
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu
Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego
65-046 Zielona Góra, ul. Zyty 28
tel.0048 68 328 3105
a.ziolkowska@cm.uz.zgora.pl

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ MGR MAURYCEGO JANKOWSKIEGO
pt. „KOMPLEKSOWA ANALIZA PROFILU TRANSKRYPTOMICZNEGO KOMÓREK MACIERZYSTYCH
POCHODZENIA TŁUSZCZOWEGO PODCZAS ICH RÓŻNICOWANIA DO KOMÓREK KOŚCIO- I
CHRZĘSTNOTWÓRCZYCH W WARUNKACH HODOWLI PIERWOTNEJ IN VITRO”
PROMOTOR PRACY: PROF. DR HAB. BARTOSZ KEMPISTY

Zielona Góra, dnia 29.09.2023 r.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pana Mgr Maurycego Jankowskiego opiera się na cyklu publikacji, uzupełnionej autoreferatem, oświadczeniami współautorów oraz oświadczeniem dotyczącym opinii Komisji Bioetycznej. Praca powstała w Zakładzie Anatomii Prawidłowej Instytutu Biostrukturalnych Podstaw Nauk Medycznych, w Kolegium Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Doktorant ukończył studia magisterskie na kierunku Biomedical Sciences w University of Aberdeen w 2019 roku, a jeszcze w ich trakcie zrealizował roczny staż naukowy w Katedrze i Zakładzie Anatomii Prawidłowej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, w grupie badawczej Pana Prof., dr hab. Bartosza Kempistego. W 2021 roku Pan Mgr Jankowski został beneficjentem programu MEiN „Diamentowy Grant VII”, na podstawie projektu „Hodowla pierwotna komórek macierzystych pochodzenia tłuszczowego i ich różnicowanie w celu zastosowań w medycynie regeneracyjnej”. W 2021 roku, otrzymał także „Duży Grant Badawczy” przyznany przez Uniwersytet Medyczny w Poznaniu.

Głównym obszarem zainteresowań badawczych Doktoranta charakterystyka procesów i mechanizmów związanych z różnicowaniem in vitro komórek ADSC w kierunku osteo- i chondroblastów. Tematy te są niezwykle ciekawe z poznawczego punktu widzenia, a ich zastosowanie w medycynie regeneracyjnej i rekonstrukcyjnej ma duże znaczenie praktyczne w obliczu chorób cywilizacyjnych układu szkieletowego.

Z analizy dorobku Doktoranta wynika, iż głównymi metodami badawczymi rozwiniętymi przez Niego są 1) pierwotne hodowle komórkowe oraz analiza ekspresji genów 2) na poziomie mRNA z użyciem metod RNAswq, RT-qPCR i narzędzi bioinformatycznych, oraz 3) na poziomie białka, z użyciem immunocytochemii i cytometrii przepływowej.

Do momentu złożenia pracy doktorskiej, Doktorant wykazał się ponadprzeciętną aktywnością naukową. Pan Mgr Jankowski jest współautorem 64 prac naukowych o sumarycznym IF 160, 171 (MEiN 3939), a Jego indeks Hirscha wynosi 11 (wg Web of Science).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska opiera się na cyklu publikacji, spójnych tematycznie, znajdujących się w nurcie głównych zainteresowań Doktoranta, o łącznym wskaźniku IF: 16.949 oraz MEiN:380:

Maurycy Jankowski, Claudia Dompe, Rafał Sibiak, Grzegorz Wąsiatycz, Paul Mozdziak, Jędrzej M. Jaśkowski, Paweł Antosik, Bartosz Kempisty, Marta Dyszkiewicz-Konwińska: „In Vitro Cultures of Adipose-Derived Stem Cells: An Overview of Methods, Molecular Analyses, and Clinical Applications”, *Cells* 2020, 9, 1783, DOI: 10.3390/cells9081783

Maurycy Jankowski, Mariusz Kaczmarek, Grzegorz Wąsiatycz, Claudia Dompe, Paul Mozdziak, Jędrzej M Jaśkowski, Hanna Piotrowska-Kempisty, Bartosz Kempisty: „Expression Profile of New Marker Genes Involved in Differentiation of Canine Adipose-Derived Stem Cells into Osteoblasts”, *Int J Mol Sci* . 2021, 22, 6663, DOI: 10.3390/ijms22136663

Maurycy Jankowski, Mariusz Kaczmarek, Grzegorz Wąsiatycz, Aneta Konwerska, Claudia Dompe, Dorota Bukowska, Paweł Antosik, Paul Mozdziak, Bartosz Kempisty: „Expression Profile of New Gene Markers Involved in Differentiation of Canine Adipose-Derived Stem Cells into Chondrocytes”, *Genes*, 2022, 13, 1664, DOI: 10.3390/genes13091664.

Wszystkie prace cyklu zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o wysokim wskaźniku IF, a przed publikacją zostały poddane weryfikacji przez zespół recenzentów. We wstępie oraz dyskusji prac Doktorant nawiązuje do bardzo aktualnych i adekwatnych publikacji dotyczących ADSC.

Pierwsza z prac cyklu stanowi obszerną charakterystykę ADSC. Doktorant dokonał w niej analizy procesu pozyskiwania oraz prowadzenia hodowli, a następnie dokonał szerokiego przeglądu literatury dotyczącej badań nad zastosowania ADSC. Publikacja zawiera przejrzyste schematy dotyczące metodologii badawczej, różnicowania komórek, fotografie komórek w hodowli pierwotnej, oraz tabele z najbardziej istotnymi publikacjami dotyczącymi zastosowania ADSC w badaniach na zwierzętach oraz w badaniach klinicznych. Praca ta stanowi kompendium wiedzy na temat potencjału różnicowania ADSC oraz metod różnicowania ADSC w warunkach hodowli pierwotnej.

W drugiej z prac cyklu Doktorant zawarł wyniki eksperymentów przeprowadzonych na komórkach ADSC poddanych różnicowaniu osteogennemu. Materiał wykorzystany do hodowli pierwotnych został pozyskany w trakcie zabiegów chirurgicznych wykonywanych u młodych osobników płci żeńskiej gatunku *Canis familiaris* (Pies domowy). Badania wykazały zwiększenie ekspresji genów o znanym związku z osteogenezą, co jest potwierdzeniem prawidłowego procesu różnicowania. Ponadto pozwala na wskazanie tych genów jako markerów różnicowania

osteogenicznego. Ciekawą obserwacją jest odkrycie, iż geny HSD11B1, ZBTB16 i DKK2 wykazują najwyższy wzrost ekspresji w procesie różnicowania osteogenicznego, co utwierdza pogląd uznania ich za markery tego procesu. W dalszych badaniach należy się przyjrzeć roli genów CCDC3, GLP1R i COL6A6, i rozstrzygnąć czy poziom ekspresji tych genów ma związek z procesem różnicowania osteogenicznego czy może jest nieswoisty i wynika z warunków hodowli in vitro. Ciekawym wątkiem badań jest dynamika ekspresji genów KIAA1755 i TMEM132C w trakcie różnicowania ADSC w kierunku osteoblastów w warunkach hodowli pierwotnej. Uzyskane wyniki niewątpliwie pogłębiają wiedzę na temat molekularnych mechanizmów związanych z długoterminową hodowlą in vitro i różnicowaniem ADSC. Są także punktem wyjścia do badań in vivo oraz badań nad klinicznym zastosowaniem tych komórek w medycynie regeneracyjnej.

W trzeciej pracy cyklu Doktorant zawarł wyniki eksperymentów przeprowadzonych na komórkach ADSC poddanych różnicowaniu chondrogenemu. Również w tej pracy materiał wykorzystany do hodowli pierwotnych pozyskany był w trakcie zabiegów chirurgicznych wykonywanych u młodych osobników płci żeńskiej gatunku *Canis familiaris*. Jednym z najciekawszych wyników płynących z pracy identyfikacja genów MMP12, MPEG1, CHI3L1 i CD36 o silnej ekspresji, które mogą być poważnie rozważane jako nowe markery procesu różnicowania chondrogenicznego ADSC in vitro. Równie ciekawe jest znaczące obniżenie ekspresji genów CLEC3B i RXFP, co typuje je jako „odwrotne” markery procesu chondrogeny in vitro. Wreszcie, różnicowa regulacja kilku genów, które są nadal słabo opisane w literaturze, np. OTOS i FAM180B, sugeruje ich rolę w długoterminowej hodowli in vitro i różnicowaniu chondrogenicznym ADSC. Praca zawiera jeszcze wiele ciekawych wyników w zakresie ekspresji genów, jednak ze względu na ich zróżnicowany poziom ekspresji, potrzebne są dalsze badania, aby wykluczyć możliwość, iż zmiana ich ekspresji nie nastąpiła z powodu czynników niezwiązanych z procesem różnicowania jako takim. Konieczność pogłębiania badań wynika także z konieczności zapewnienia protokołu bezpieczeństwa w kontekście przyszłych badań o charakterze klinicznym. Niemniej, uzyskane wyniki badań potwierdzają użyteczność modelu hodowli in vitro, dostarczając dalszych molekularnych spostrzeżeń dotyczących procesów związanych z hodowlą i różnicowaniem ASC.

Należy podkreślić, iż Doktorant podjął się trudnego zadania zdefiniowania ekspresji genów biorących udział w procesach towarzyszących różnicowaniu dwóch populacji komórek: kościo- i chrząstkotwórczych. Doświadczenia te zostały poprzedzone opracowaniem warunków różnicowania ADSC w hodowli pierwotnej, gdzie zdefiniowanie i powtarzalność warunków jest niezwykle istotna. Spójność wyników uzyskanych w przeprowadzonych eksperymentach wskazuje, iż zarówno optymalizacja metodologii, jak i właściwe doświadczenia zostały przeprowadzone z dużą starannością.

Rozprawa doktorska ma przejrzysty charakter, stanowi zwartą całość a przedstawione wyniki prezentowane są w logicznej kolejności. Język publikacji i całej pracy jest zrozumiały, a wnioski zawarte

w publikacjach są trafne i adekwatne do uzyskanych wyników. Dużą wartość prac stanowi detalicznie opisane procedury badawcze. Należy także podkreślić, iż dużym atutem publikacji są ryciny, fotografie, wykresy i tabele, które w sposób syntetyczny odnoszą się do treści publikacji. W dyskusjach zawartych zarówno w autoreferacie, jak i samych publikacjach, Doktorant prowadzi krytyczną analizę uzyskanych przez siebie wyników odnosząc się do danych przytaczanych przez innych autorów, wykazując przy tym dużą dojrzałość naukową. W ciekawy sposób komentuje rozbieżności wyników otrzymanych z zastosowaniem różnych modeli badawczych. Cechy te sprawiają, iż cykl publikacji jest obszernym kompendium wiedzy zarówno na temat technik hodowli, jak i charakterystyki procesu różnicowania ADSC w kierunku osteo- i chondrocytarnym.

Treść publikacji oraz autoreferatu wskazuje, iż zostały zrealizowane cele pracy doktorskiej, jakimi są:

- „ - Optymalizacja metodologii hodowli i różnicowania komórek ADSC w warunkach in vitro
- Kompleksowa analiza transkryptomyczna komórek przed i po długotrwałej hodowli in vitro oraz ich różnicowaniu do osteoblastów i chondrocytów
- Analiza bioinformatyczna uzyskanych wyników, w celu zidentyfikowania nowych potencjalnych markerów molekularnych procesów, związanych z różnicowaniem komórek macierzystych izolowanych z tkanki tłuszczowej.”

Praca doktorska zawiera podsumowanie, w którym Doktorant przedstawił najważniejsze wyniki publikacji. W pracy tej zabrakło jednak wspólnego podsumowania celów, które, podkreślam, zostały w pełni zrealizowane.

Reasumując, stwierdzam, iż przedstawiona do oceny praca doktorska wnosi znaczący metodologiczny i merytoryczny wkład w wiedzę na temat różnicowania ADSC w kierunku osteo- i chondrogennym. Spełnia wymogi formalne określone w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 30 stycznia 2018 r., poz. 261) stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych. Z związku z powyższym przedkładam wniosek do Rada Kolegium Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie Maurycego Jankowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnoszę także o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Apiełek Zdzisław