

Kraków, 14 lipca 2023 r.

dr hab. Małgorzata Grzesiak, prof. UJ  
Zakład Endokrynologii  
Katedra Fizjologii Zwierząt  
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych  
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

## OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. Maurycego Jankowskiego

**pt. "Kompleksowa analiza profilu transkryptomycznego komórek macierzystych pochodzenie tłuszczowego podczas ich różnicowania do komórek kościo- i chrzęstnotwórczych w warunkach hodowli pierwotnej *in vitro*" wykonanej w Instytucie Biostrukturalnych Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Bartosza Kempistego**

Wydział Biologii

Instytut Zoologii

i Badań Biomedycznych

Zakład Endokrynologii

W ostatnich latach komórki macierzyste cieszą się stale rosnącym zainteresowaniem badaczy i naukowców na całym świecie. Ze względu na ogromny potencjał do różnicowania się, duże nadzieje pokłada się w ich wykorzystaniu w terapiach komórkowych, transplantologii czy medycynie regeneracyjnej. Obok zarodkowych komórek macierzystych, które mają nieograniczone zdolności do różnicowania, ale dosyć trudno je pozyskać, coraz częściej wykorzystuje się dorosłe komórki macierzyste. Są one obecne niemal we wszystkich tkankach organizmu, zasiedlając specjalne nisze i wykazując charakter unipotencjalny, bądź multipotencjalny. Doskonałym źródłem dorosłych mezenchymalnych komórek macierzystych jest tkanka tłuszczowa, z której uzyskuje się komórki macierzyste pochodzenia tłuszczowego (ADSC; ang. *adipose-derived stem cells*), posiadające zdolność do różnicowania się w tkankę kostną, nerwową czy mięśniową. Pomimo wzrastającej liczby badań nad plastycznością ADSC w kontekście ich potencjalnego zastosowania klinicznego, wiele aspektów związanych z optymalizacją warunków hodowli ADSC i różnicowania *in vitro* wymaga dalszych badań. Przedłożona do oceny praca doktorska, dotycząca analizy transkryptomicznej ADSC podczas różnicowania się w komórki kościo- i chrzęstnotwórcze, znakomicie wpisuje się w ten nurt badań. Badania Doktoranta skupiają się na określeniu molekularnych markerów specyficznych dla procesów różnicowania się ADSC pochodzących z tkanki tłuszczowej psów w osteoblasty i chondrocyty,

ul. Gronostajowa 9

30-387 Kraków

tel./fax: +48 12 664 50 98

*Grzesiak*

z wykorzystaniem najnowszych narzędzi „omicznych” oraz zaawansowanych analiz bioinformatycznych. W mojej opinii tematyka podjęta przez Doktoranta jest aktualna i oryginalna, a uzyskane rezultaty mają potencjał aplikacyjny i mogą zostać wykorzystane do opracowania nowych terapii w leczeniu choroby zwyrodnieniowej stawów, zarówno u ludzi i psów.

#### OCENA FORMALNA ROZPRAWY

Praca doktorska Pana Maurycego Jankowskiego oparta jest na wynikach badań podstawowych, które wpisują się w tematykę nauk o zdrowiu, przedstawionych jako spójny cykl trzech prac naukowych (jednej przeglądowej i dwóch oryginalnych) opublikowanych w latach 2020-2022 w recenzowanych czasopismach wydawnictwa MDPI z bazy Journal Citation Reports (*Cells*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Genes*) o zasięgu międzynarodowym. Sumaryczny współczynnik wpływu (IF, *imapct factor*) czasopism jest imponujący i wynosi 16.949, natomiast suma punktów MEiN to 380. Publikacje są opracowaniami zbiorowymi liczącymi 8-9 współautorów. W każdym z artykułów Doktorant jest pierwszym autorem, a wiodący udział w ich powstaniu (70% dla każdej publikacji) potwierdzają dołączone oświadczenia współautorów. Wynika z nich, że Pan Maurycy Jankowski brał udział w przeprowadzeniu większości badań laboratoryjnych oraz wykonaniu analiz bioinformatycznych i statystycznych, wizualizacji wyników, przeglądu literatury oraz częściowym przygotowaniu oryginalnych manuskryptów prac.

Do publikacji oraz oświadczeń współautorów dołączono opracowanie w języku polskim. Na 42 stronach znajdują się kolejno słowa kluczowe, spis treści, źródła finansowania, lista skrótów, wykaz publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, opis wysokiej aktywności naukowej Doktoranta, wstęp wprowadzający umiejętnie w tematykę badań i uzasadniający ich podjęcie, założenia i cele rozprawy doktorskiej, komentarze do wszystkich publikacji, podsumowanie, piśmiennictwo w liczbie 152 pozycji oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Na końcu pracy dołączono oświadczenie Promotora dotyczące zgody Komisji Bioetycznej. Pod względem edytorskim i językowym praca została przygotowana poprawnie, starannie i przejrzyście. Uważam, że rozprawa spełnia wszystkie wymagania formalne stawiane pracom doktorskim w rozumieniu zapisu art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Gnela

## OCENA WARTOŚCI MERYTORYCZNEJ ROZPRAWY

Pierwsza praca wchodząca w skład cyklu stanowiącego podstawę rozprawy doktorskiej to praca przeglądowa, opisująca najnowsze doniesienia w zakresie metod izolacji ADSC oraz hodowli *in vitro*, analiz molekularnych, a także zastosowań klinicznych. Doktorant zaprezentował szeroki przegląd najnowszych doniesień naukowych w zakresie realizowanego tematu badawczego, podkreślając tym samym swoje dobre przygotowanie merytoryczne. Publikacja ta stanowi bardzo dobry wstęp do dysertacji, a przedstawiona w niej argumentacja wystarczająco uzasadnia podjęte cele badawcze dotyczące poznania molekularnych podstaw różnicowania ADSC do osteoblastów i chondrocytów. W dwóch kolejnych oryginalnych publikacjach Doktorant przedstawia wyniki przeprowadzonych z sukcesem analiz transkryptomicznych. Należy podkreślić, że postawione zadania zostały zrealizowane w sposób konsekwentny i kompleksowy, za pomocą dobrze dobranych metod badawczych. Pan mgr Maurycy Jankowski wykazał się znajomością wielu wymagających technik laboratoryjnych, zaczynając od hodowli *in vitro* ADCS, w tym hodowli trójwymiarowej, poprzez analizy morfologiczne i cytometryczne potwierdzające ich różnicowanie, aż do zaawansowanego wyskoprzepustowego sekwencjonowania RNA wraz z analizą bioinformatyczną oraz walidacją wyników za pomocą reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Dobór metod badawczych jest prawidłowy i nie budzi zastrzeżeń.

Do najważniejszych osiągnięć pracy Pana mgr. Maurycego Jankowskiego zaliczam:

1. Optymalizację procesu izolacji ADSC z tkanki tłuszczowej psa, ich długotrwałej hodowli *in vitro* oraz różnicowania w kierunku osteoblastów i chondrocytów. Można sądzić, że opracowana procedura będzie miała szerokie zastosowanie w medycynie regeneracyjnej.
2. Wykazanie zwiększonej ekspresji genów zaangażowanych w proces osteogenezy (np. *HSD11B1*, *ZBTB16* i *DKK2*) w zróżnicowanych osteoblastach w porównaniu do ADSC w 14-tym dniu hodowli *in vitro*, co potwierdza prawidłowy przebieg ich różnicowania.
3. Wskazanie nowych potencjalnych markerów procesu różnicowania ADSC w osteoblasty podczas długoterminowej hodowli *in vitro* (np. *CCDC3*, *GLP1R*, *COL6A6*, *KIAA1755* i *TMEM132C*), co dostarcza tym samym nowych informacji na temat molekularnych podstaw przebiegu tego procesu.

4. Przedstawienie nowych potencjalnych markerów procesu chondrogenazy (*MMP12*, *MPEG1*, *CHI3L1* i *CD36*), dając tym samym nowe spojrzenie na molekularny mechanizm różnicowania ADSC w chondrocyty *in vitro*.

Przedłożone prace stanowią logiczny i spójny układ, są napisane zrozumiale, z jasno postawionymi celami, szczegółowym opisem metod analitycznych oraz wyników, a także prawidłowo przeprowadzoną dyskusją. Uzyskane rezultaty mają charakter nowatorski, a wartość poznawczą wyników otrzymanych przez Doktoranta oceniam wysoko, potwierdzając tym samym Jego zdolność do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

#### UWAGI I KOMENTARZE

Lektura powyższych publikacji była dla mnie satysfakcjonująca i nie znalazłam w nich elementów problematycznych. W przypadku pracy doktorskiej składającej się z cyklu publikacji, recenzent ma ułatwione zadanie, gdyż każdy z artykułów przeszedł wnikliwą ocenę, która zaowocowała ich publikacją. Mam jednak kilka komentarzy i pytań, odnośnie zarówno cyklu publikacji, jak i opracowania polskojęzycznego, które stanowią jedynie przyczynek do dyskusji naukowej.

1. Doktorant przedstawił założenia i szczegółowe cele pracy, jednak zabrakło mi wyraźnej hipotezy badawczej. Bardzo proszę o jej uwzględnienie podczas przygotowywania prezentacji.
2. ADSCs izolowano z tkanki tłuszczowej pozyskiwanej podczas zabiegów owariorhizektomii. Czy była to gonadalna tkanka tłuszczowa? Czy Doktorant posiada wiedzę na temat ewentualnych różnic w charakterystyce ADSC izolowanych z różnych typów tkanki tłuszczowej (gonadalnej, podskórnej, trzewnej)?
3. W opracowaniu polskojęzycznym nie uniknięto drobnych błędów edytorskich i gramatycznych: str. 13 „jakosteoblasty”, str. 17 „szeregu chorobach i zaburzeniach”, str. 20 „Komórki poddane 14 dniom hodowli”, str. 26 „Ponadto zidentyfikowano markery”, str. 39 „Większość prowadzonych badań nad dotyczy możliwości”.

#### WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr. Maurycego Jankowskiego pt. *„Kompleksowa analiza profilu transkryptomycznego komórek macierzystych pochodzenie tłuszczowego podczas ich różnicowania do komórek kościo- i chrzęstnotwórczych w warunkach hodowli pierwotnej in*

Czech

*vitro*” stanowi wartościowe i oryginalne dzieło naukowe o znaczącym wkładzie w poszerzenie dotychczasowego stanu wiedzy na temat procesów związanych z różnicowaniem ADSC do osteoblastów i chondrocytów. Uzyskane wyniki są nowatorskie i kompleksowe, a także mają potencjał aplikacyjny w zakresie wykorzystania ADSC w medycynie regeneracyjnej. Uwagi zawarte w niniejszej recenzji nie umniejszają wartości merytorycznej pracy. *Przedłożona dysertacja wnosi istotne elementy do nauki i spełnia wszystkie wymagania określone w artykule 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2016 r. poz. 882 z późn. zm.) stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym zwracam się do Kapituły Kolegium Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie mgr. Maurycego Jankowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki o zdrowiu. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą, co uzasadniam w osobnym wniosku.*

Z wyrazami szacunku,

  
dr hab. Małgorzata Grzesiak, prof. UJ