

Kraków, 29.10.2018 r.



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr inż. Urszuli Kozłowskiej
„Właściwości biologiczne mezenchymalnych komórek macierzystych rezydujących
w tkankach człowieka”.

W starzejących się i coraz bardziej wymagających społeczeństwach państw
rozwiniętych możliwości konwencjonalnej medycyny nie wystarczają, aby
zapewnić odpowiednią opiekę medyczną. Dlatego na bazie odkryć naukowych
powstał dział medycyny nazwany medycyną regeneracyjną, która ma za zadanie
wykorzystywać najnowsze odkrycia naukowe do stworzenia nowych schematów
leczenia poprzez regenerację uszkodzonych narządów i tkanek.

Jednym z głównych narzędzi medycyny regeneracyjnej są komórki
macierzyste, które mają zregenerować uszkodzoną tkankę/narząd samodzielnie lub
poprzez aktywację endogennych zdolności regeneracyjnych danej tkanki/narządu.
Najczęściej wykorzystywanym obecnie w medycynie regeneracyjnej rodzajem
komórek macierzystych są mezenchymalne komórki macierzyste, które uznawane
są za komórki multipotencjalne, o szerokim spektrum różnicowania
i właściwościach immunomodulacyjnych.

Przedstawiona do recenzji praca w całości zajmuje się mezenchymalnymi
komórkami macierzystymi. Doktorantka postawiła sobie za cel szczegółowe
porównanie tych komórek pochodzących z różnych źródeł tj. ze szpiku, skóry,
mięśni i tkanki tłuszczowej.

Praca została przygotowana w klasycznym układzie dla prac doktorskich
i składa się ze wstępu, celów pracy, metodyki, wyników, dyskusji, wniosków oraz
spisu literatury. Literatura wykorzystana przy przygotowaniu pracy obejmuje 211
pozycji.

Wstęp został przygotowany bardzo szczegółowo i opisuje historie odkrycia
macierzystych komórek mezenchymalnych, ich biologię oraz poszczególne
markery używane do ich charakterystyki i izolacji. Szczegółowo zostały także
opisane geny mogące świadczyć o pluripotencjalnym/multipotencjalnym
charakterze macierzystych komórek mezenchymalnych. Istotną częścią wstępu jest
opis zdolności mezenchymalnych komórek macierzystych do różnicowania oraz

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl

immunomodulacji. W ostatniej części wstępu doktorantka bardzo szczegółowo opisała także obecne dane na temat możliwości klinicznego wykorzystania komórek macierzystych, w tym macierzystych komórek mezenchymalnych.

Czego zabrakło mi w tej części pracy to schematów i rycin, które graficznie opisywałyby poszczególne omawiane tematy oraz krytycznego podejścia do puripotencjalności czy multipotencjalności macierzystych komórek mezenchymalnych. Większość doniesień na temat zdolności do różnicowania tych komórek np. w kardiomiocyty czy neurony została zakwestionowana lub odnosi się do doświadczeń *in vitro*, w których zastosowano różnego rodzaju inhibitorów, nie wstępujące w warunkach *in vivo*.

Głównym celem jaki postawiła sobie autorka w pracy doktorskiej było zbadanie różnic pomiędzy komórkami o charakterze macierzystych komórek mezenchymalnych izolowanych z czterech wspomnianych wcześniej różnych źródeł. Badania miały dotyczyć oceny fenotypu i dynamiki jego zmian w hodowli długoterminowej, oceny funkcjonalnej, określenia właściwości immunomodulacyjnych oraz oceny pluri/multipotencjalności macierzystych komórek mezenchymalnych.

Rozdział dotyczący materiałów i metod wykorzystanych w pracy został przygotowany prawidłowo. Doktorantka zastosowała w pracy wiele nowoczesnych metod komórkowych jak i molekularnych. Ich dokładny opis świadczy o bardzo dobrej znajomości wykorzystanych w pracy metod przez autorkę. Bardzo przydatne było przedstawienie graficzne przebiegu niektórych analiz np. dotyczących izolacji oraz hodowli komórkowych.

Rozdział wyniki jest mocno rozbudowany. Wyniki z badań zostały opisane na 106 stronach pracy. Składa się na nie 72 ryciny i 42 tabele. Badania zostały prawidłowo zaplanowane przez doktorantkę, co świadczy o dobrym warsztacie badawczym. Doktorantka przedstawiła bardzo rozbudowaną analizę wybranych markerów macierzystych komórek mezenchymalnych oraz markerów związanych z angiogenezą i pluripotencjalnością w zależności od źródła i od pasażu. Za pomocą metody ELISAMultiplex oceniła poziom czynników immunomodulujących wydzielanych przez macierzyste komórki mezenchymalne. Doktorantka, przy pomocy wielokolorowych znakowań i ko-hodowli oceniła zdolność komórek z różnych źródeł do fuzji. Uzyskane wyniki wykazały zarówno podobieństwa jak



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl

i różnice pomiędzy macierzystymi komórkami mezenchymalnymi z różnych źródeł we wszystkich badanych zakresach.

Interesującym badaniem była ocena markerów związanych z pluripotencjalnością. Szkoda, iż w tym przypadku doktorantka poprzestała na ocenie poziomu ich ekspresji za pomocą PCR i wykonała dodatkowej ich oceny na poziomie białka. Nie zawsze ekspresja na poziomie mRNA koreluje z ekspresją na poziomie białka a ten drugi wynik bezpośrednio mówi nam czy dany gen ma wpływ na działanie komórki.

Dyskusja jest zwięzła, przejrzysta i została napisana w sposób, który świadczy o bardzo dobrej znajomości tematu przez doktorantkę, która swobodnie omawia swoje wyniki w kontekście wcześniej publikowanych danych. Jedynym zarzutem, który mam jest to, że dyskusja jest znacząco krótsza niż część dotycząca wyników, wstęp czy materiały i metody. Zarówno w pracach oryginalnych jak i doktoratach jest to tak naprawdę najważniejsza część pracy, gdzie należy umiejscowić swoje nowo uzyskane wyniki w kontekście danych literaturowych. Dyskusja pozwala także na przedstawianie nowych hipotez wynikających z otrzymanych wyników oraz polemikę z wcześniej publikowanymi danymi.

Podsumowaniem pracy jest osiem wniosków, które stanowią wyczerpującą odpowiedź dla postawionych przez doktoranta celów pracy.

Po zapoznaniu się z przedstawioną mi do recenzji pracą stwierdzam, iż spełnia one wszelkie formalne wymogi stawiane przed tego rodzaju pracami i zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu im. Ludwika Hirszfelda o dopuszczenie Pani mgr inż. Urszuli Kozłowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego a także wnioskuję o wyróżnienie niniejszej pracy doktorskiej ze względu na jej walory naukowe oraz na publikacje, które posiada w swoim dorobku doktorantka.

Z poważaniem
Katedra Immunologii Klinicznej
i Transplantologii UJ CM

Prof. dr hab. Marcin Majka



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Wydział Lekarski

Instytut Pediatrii

Katedra Immunologii Klinicznej
i Transplantologii

Zakład Transplantologii

ul. Wielicka 265

PL 30-663 Kraków

tel.: +48(12) 659 15 93

fax: +48(12) 659 15 94

zt@cm-uj.krakow.pl