

Warszawa, 27.12.2016r.

Dr hab. n. med. Urszula Mackiewicz
Zakład Fizjologii Klinicznej
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

OPINIA

**na temat dorobku naukowo-badawczego, dydaktycznego i popularyzatorskiego
oraz osiągnięcia naukowego pt.
„Charakterystyka molekularna oraz modyfikacja genetyczna mięśniowych komórek
macierzystych w odniesieniu do ich przydatności w terapii regeneracyjnej”**

dr n. biol. Natalii Rozwadowskiej

**w związku z postępowaniem habilitacyjnym w dziedzinie nauk medycznych w
dyscyplinie biologia medyczna.**

Centralna Komisja ds. Stopni Naukowych i Tytułów za pośrednictwem Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk powierzyła mi sporządzenie opinii na temat osiągnięć naukowo-badawczych oraz dorobku dydaktycznego i popularyzującego dr n. biol. Natalii Rozwadowskiej w związku z postępowaniem habilitacyjnym.

Oceny dokonałam w oparciu o przedłożony mi wykaz publikacji, ze szczególnym uwzględnieniem cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe, wykaz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz autoreferat Kandydatki.

Przedstawiona mi do oceny dokumentacja została sporządzona z dużą starannością i rzetelnością, z uwzględnieniem wkładu Kandydatki w powstanie poszczególnych publikacji. Autoreferat zawiera precyzyjny opis osiągnięć naukowych Habilitantki oraz pozwala na ocenę jej aktywności dydaktycznej i organizacyjnej. Jedynym zastrzeżeniem formalnym jest brak wyszczególnienia, które z publikacji ukazały się po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, co utrudnia ocenę dynamiki rozwoju Habilitantki oraz brak informacji w ilu pracach dr N. Rozwadowska była pierwszym autorem.

PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ

Dr Natalia Rozwadowska jest absolwentką Uniwersytetu Przyrodniczego im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu. Studia magisterskie na kierunku biotechnologia ukończyła w roku 2000 przedstawiając pracę pt.: *„Ocena transkrypcji genów systemu interleukiny-1 w gonadzie męskiej.”* wykonaną pod opieką prof. Macieja Kurpisza w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk. Rozpoczęła w ramach pracowni magisterskiej współpracę kontynuowała uzyskując zatrudnienie w Instytucie, początkowo na stanowisku biologa, a następnie adiunkta.

Kontynuacja badań dotyczących immunologii gonady męskiej zaowocowała powstaniem w rok 2005 pracy doktorskiej pt.: *„Analiza molekularna genów systemu interleukiny-1 w gonadzie męskiej”* pod promotorską opieką prof. Macieja Kurpisza. Praca została wyróżniona i uhonorowana nagrodą Prezesa Rady Ministrów. W latach 2013-2015 dr N. Rozwadowska

odbyła staż podoktorski w *Stem Cell Institute, University of Alabama Birmingham*. Po stażu powróciła do Instytutu Genetyki Człowieka gdzie obecnie prowadzi swoje badania.

Podsumowując, można stwierdzić, że dr Natalia Rozwadowska konsekwentnie przechodzi przez kolejne szczeble rozwoju naukowego, rozwijając swoje zainteresowania naukowe i warsztat badawczy.

OCENA DZIAŁALNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ

A. Ocena formalna

Dr Natalia Rozwadowska może poszczycić się imponującym dorobkiem naukowym. Jest współautorką 48 publikacji naukowych w tym 34 oryginalnych, 6 prac poglądowych, 5 rozdziałów w książkach, 2 opisów przypadku oraz 40 doniesień ustnych i 60 plakatowych.

Kandydatka jest pierwszym autorem w 8 publikacjach (w tym w 2 pierwszym autorem równorzędnym) oraz w 2 doniesieniach ustnych i w 14 plakatowych.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania *Impact Factor* (IF) publikacji wg załączonej analizy bibliometrycznej wynosi **98,885**. W tej samej analizie bibliometrycznej wykazano 572 cytowań prac Habilitantki (535 bez autocytowań) oraz Indeks Hirscha – **9**.

Spośród powyżej wymienionych publikacji zostało wyodrębnione, w myśl *Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym (Art. 16)*, szczególne osiągnięcie naukowe w skład, którego wchodzi 7 prac o łącznym **IF 15.588**. W 4 publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem, w 2 pierwszym autorem równorzędnym, a w jednej - drugim.

Dr N. Rozwadowska brała lub bierze udział jako wykonawca w realizacji 16 dużych projektów badawczych finansowanych przez KBN, NCN i NCBiR, w tym projektów konsorcyjnych. W jednym projekcie finansowanym przez NCN pełniła rolę kierownika.

Za działalność naukową była wielokrotnie wyróżniana prestiżowymi stypendiami i nagrodami, m. in. otrzymała nagrodę Prezesa Rady Ministrów za wyróżnioną pracę doktorską, Nagrodę MNiSW dla Młodych Naukowców oraz Stypendium dla Młodych Pracowników Nauki START ufundowane przez Fundację na rzecz Nauki Polskiej.

Wygłosiła 22 referaty na seminariach i sympozjach naukowych, w tym 4 w języku angielskim.

Podsumowując, dorobek naukowy Habilitantki jest imponujący i doskonale opublikowany. Na szczególną uwagę zasługuje wysoka liczba cytowań opublikowanych prac, co świadczy o ich istotnym wkładzie w rozwój wiedzy oraz o uznaniu jakie zyskały w międzynarodowym środowisku naukowym. Co prawda, dr N. Rozwadowska jest pierwszym autorem tylko w 8 publikacjach, głównie wchodzących w skład wyodrębnionego osiągnięcia naukowego, ale należy podkreślić, że te właśnie publikacje powstały w przeciągu ostatnich 4 lat, co dobitnie świadczy o rozwoju Habilitantki i jej coraz większej samodzielności naukowej. Należy podkreślić, że zdecydowana większość prac powstała na gruncie polskim i była finansowana przez rodzime instytucje. Uważam, że dorobek naukowy dr N. Rozwadowskiej pod względem formalnym w pełni spełnia kryteria stawiane w postępowaniu habilitacyjnym.

B. Ocena merytoryczna

Na dorobek naukowy Dr Natalii Rozwadowskiej składają się prace dotyczące dwóch różnych zagadnień naukowo-klinicznych: zaburzeń spermatogenezy oraz regeneracji uszkodzonych

narządów, w tym głównie mięśnia sercowego, przy użyciu komórek macierzystych mięśni szkieletowych.

Habilitationka rozpoczęła swoją pracę naukową badaniami dotyczącymi genetycznego podłoża zaburzeń spermatogenezy u niepłodnych mężczyzn. Interesowała się głównie genami zaangażowanymi w regulację immunologiczną tego procesu. Początkowo skoncentrowała się na analizie ekspresji genów z rodziny interleukiny-1 (Il-1). Badania te zaowocowały odkryciem, że ocena ekspresji antagonisty receptora dla Il-1 szczególnie w odniesieniu do poziomu izoformy kanalikowej Il-1 α może być wykorzystana w celach diagnostyczno-prognostycznych w procesie leczenia niepłodności męskiej. Wyniki tej pracy zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokim współczynniku oddziaływania i stały się podstawą, uhonorowanej nagrodą prezesa Rady Ministrów, pracy doktorskiej Habilitationki. Po uzyskaniu stopnia doktora dr N. Rozwadowska kontynuowała badania w obszarze immunologii gonady męskiej badając ekspresję genów interleukiny 1, 18, 6 i 10 oraz o TNF- α . Wraz ze wsp. pokazała, że poziom Il-6 i TNF- α był podwyższony u pacjentów z zaburzeniami spermatogenezy w porównaniu do mężczyzn z zachowaną spermatogenezą, a najwyższy w tkankach pochodzących od pacjentów z nowotworem jądra, po raz kolejny udowadniając, że środowisko immunologiczne jest ważne dla zachowania prawidłowej spermatogenezy i że zaburzeniom tego procesu towarzyszą zmiany ekspresji genów zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną. Prace te zostały opublikowane w czasopiśmie o współczynniku IF ok. 2.

Następnie, wykorzystując pojawiające się możliwości badań wielkoskalowych na poziomie genomu podjęła się wraz ze współpracownikami oceny globalnej ekspresji genów w gonadzie męskiej o różnym stopniu upośledzenia spermatogenezy. Praca zaowocowała wytypowaniem kilkunastu genów o zmienionej ekspresji, w tym szeregu nowych. Co ważne, zmiany te zostały potwierdzone na poziomie białka, co podkreśla ich znaczenie czynnościowe. Wyniki tej pracy są istotnym wkładem w stworzenie panelu diagnostycznego, umożliwiającego całościową ocenę podłoża zaburzeń spermatogenezy i na tej podstawie wdrożenia spersonalizowanego leczenia najbardziej korzystnego dla danego pacjenta. Badania te stanowiły podstawę pracy doktorskiej, w której Habilitationka pełniła rolę promotora pomocniczego i zaowocowały doskonałą publikacją o wysokim współczynniku oddziaływania (IF = 4.1).

Dr. N. Rozwadowska prowadziła również badania dotyczące spermatogonialnych komórek macierzystych, badając ekspresję genów zaangażowanych w ich różnicowanie. Udowodniła wraz ze współautorami ważną rolę białka, c-kit w tym procesie, porównując jego ekspresję u mężczyzn z zaburzeniami i bez zaburzeń spermatogenezy. Badania te znalazły wyraz w publikacjach o umiarkowanym IF, ale w związku z nimi powstała praca pogładowa autorstwa Habilitationki na temat spermatogonialnych macierzystych komórek potwierdzająca dużą wiedzę Autorki w tym zakresie. Powyższe badania wpisują się już w bieżący nurt zainteresowań Habilitationki, których przedmiotem są badania nad komórkami macierzystymi.

Równolegle z prowadzonymi badaniami dotyczącymi spermatogenezy już na wczesnym etapie swojej kariery naukowej dr N. Rozwadowska brała udział w pracach nad izolacją i hodowlą komórek macierzystych mięśni szkieletowych – mioblastów, z przeznaczeniem wykorzystania ich w celu regeneracji uszkodzonego, w wyniku ostrego incydentu wieńcowego, mięśnia sercowego. Dzięki temu jest współautorką dwóch pionierskich badań klinicznych I fazy, oceniających bezpieczeństwo i możliwość wszczepienia mioblastów do uszkodzonego mięśnia sercowego. Pomimo tego, że w badaniach tych była kolejnym współautorem jej udział od strony biologicznej był bardzo istotny. Badania zakończyły się sukcesem, pokazały, że podanie do mięśnia sercowego w okolicę blizny pozawałowej

mioblastów szkieletowych jest wykonalne i bezpieczne. Badania nie służyły ocenie skuteczności takiej interwencji, ale po przeanalizowaniu danych od kilkunastu pacjentów okazało się, że w 6 miesięcznej obserwacji frakcja wyrzucania lewej komory wzrosła o kilka procent, a stopień nasilenia objawów wg klasyfikacji NYHA zmniejszył się. Obserwowano również lokalną poprawę kurczliwości w badaniu echokardiograficznym. U pacjentów wystąpiły jednak epizody arytmii, co wymagało stosowania leków antyarytmicznych lub zabezpieczenia w postaci wszczepienia kardiowertera-defibrylatora. Wyniki tych pionierskich badań zostały opublikowane w doskonałych czasopismach takich jak *European Heart Journal* i *American Heart Journal*.

Wstępny entuzjazm po przeprowadzeniu pierwszych prób klinicznych został nieco ostudzony wynikami jedynej jak do tej pory badania randomizowanego z próbą kontrolną (MAGIC), które nie wykazało poprawy frakcji wyrzucania w 6 miesięcznej obserwacji u pacjentów otrzymujących terapię komórkową. Jednakże udało się wykazać u tych pacjentów zmniejszenie przebudowy lewej komory w porównaniu z grupą kontrolną. Występowały też częstsze epizody arytmiczne, aczkolwiek liczba niebezpiecznych incydentów komorowych zaburzeń rytmu nie różniła się istotnie statystycznie w grupie badanej i kontrolnej.

Wyniki powyższych prac stały się bodźcem do poszukiwania metod zwiększenia skuteczności i bezpieczeństwa arytmicznego terapii regeneracyjnej przy użyciu mioblastów. Co bardzo ważne, dalsze badania dr N. Rozwadowska wpisują się bardzo dobrze w ten właśnie nurt. Pierwszym ich celem było osiągnięcie sprzężenia elektro-mechanicznego między miotubami mięśnia szkieletowego, do których różnicują mioblasty, z kardiomiocytami *in vivo*. Nowopowstałe komórki kurczliwe mięśnia szkieletowego nie tworzą bowiem połączeń elektrycznych z otaczającymi je kardiomiocytami, co jest konsekwencją braku w nich ekspresji białka koneksyny-43 (budującego międzykomórkowe złącza typu *gap junction*). W związku z tym przeszczepione mioblasty stanowią przeszkodę dla rozprzestrzeniającego się potencjału czynnościowego w mięśniu sercowym, co może sprzyjać powstawaniu komorowych zaburzeń rytmu i wymaga leczenia antyarytmicznego u pacjentów poddanych terapii komórkowej. W celu zredukowania tego problemu dr Rozwadowska wraz z Zespołem podjęła badania nad modyfikacją genetyczną mioblastów w celu zwiększenia w tych komórkach ekspresji koneksyny 43. Te prace są ważną częścią wyodrębnionego osiągnięcia habilitacyjnego dr Rozwadowskiej, omówionego w kolejnym rozdziale.

Kolejnym kierunkiem badań, w których Habilitanta uczestniczyła, bardzo ważnym w kontekście polepszenia efektów terapii komórkowej, są próby modyfikacji genetycznej mioblastów nie w celu utworzenia *syncytium* czynnościowego z kardiomiocytami, ale wyposażenia ich w geny kodujące białka zaangażowane w angiogenezę. Idea wyposażenia komórek dostarczanych do serca w dodatkowe właściwości jest niezwykle interesująca i pobudzająca intelektualnie. Dr N. Rozwadowska brała istotny udział w badaniach mających na celu zwiększenie w mioblastach ekspresji czynników proangiogennych takich jak VGF/FGF-4 i syntazy tlenku azotu (eNOS), która poprzez wzmożoną syntezę NO w tkance docelowej może stymulować tworzenie naczyń krwionośnych poprawiając ukrwienie okolicznych tkanek i tym samym kurczliwość mięśnia sercowego. Badania prowadzone na liniach mysich mioblastów i na mioblastach ludzkich pokazały, że mioblasty modyfikowane genami dla czynników proangiogennych miały niezmienną aktywność proliferacyjną i odporność na stres oksydacyjny oraz wykazywały potencjał proangiogeny stymulując tworzenie kapilar *in vitro*.

Istnieje świadomość, że nawet w przypadku podniesienia skuteczności terapeutycznej genetycznie modyfikowanych mioblastów najkorzystniejsze z punktu widzenia funkcjonowania precyzyjnego *syncytium* czynnościowego jakim są kardiomiocyty mięśnia sercowego, jest osiągnięcie różnicowania wszczepianych komórek do kardiomiocytów. Dopiero taki scenariusz zapewni realne zastąpienie utraconych kardiomiocytów.

Obecnie dr N. Rozwadowska wraz Zespołem pracuje w ramach projektu STRATGMED nad odróżnicowaniem mioblastów, uzyskaniem z nich indukowanych komórek pluripotentnych i wymuszenie ich różnicowaniem w kierunku kardiomiocytów, wykorzystując inhibitory i aktywatory ścieżki sygnałowej *Wnt*. Metodę potrzebną do realizacji tego ambitnego zadania Habilitanta zdobyła podczas stażu naukowego na *University of Alabama Birmingham*, gdzie technikę otrzymywania indukowanych komórek pluripotentnych opanowała pracując na fibroblastach pochodzących od pacjentów z uwarunkowaną genetycznie chorobą neurodegeneracyjną i następnie różnicując ją w kierunku komórek nerwowych. Nabyte umiejętności Habilitantka przeniosła na grunt macierzystego Instytutu i próbuje zaimplementować je w swoim modelu badawczym ludzkich mioblastów.

Równie interesujące i potrzebne są badania w ramach kolejnego projektu, w którym uczestniczy obecnie Habilitantka, mającego na celu opracowanie metod obrazowania molekularnego, w celu precyzyjnego śledzenia, nadal bliżej nieokreślonego losu, komórek wszczepianych do mięśnia sercowego i innych tkanek.

Reasumując, dorobek naukowo-badawczy Habilitantki, obejmujący dwa niezależne obszary badawcze, uważam za istotny i ważny. Wysoka cytowalność prac świadczy o tym, że jest on znany szerokiemu gronu badaczy, a jego oddziaływanie na środowisko naukowe jest istotne. Udział Habilitantki w większości tych badań jest znaczący. Dr Rozwadowska nie boi się nowych wyzwań, rozwija wiedzę i umiejętności. Doświadczenia zdobyte na jednym polu naukowym umie przenieść na kolejne. Dzięki tym licznym wielokierunkowym badaniom uzyskała wiedzę i znajomość zaawansowanych technik badawczych, co umożliwiło powstanie prac, stanowiących jej szczególne osiągnięcie naukowego, którego jest wiodącym autorem.

OCENA PRAC STANOWIACYCH SZCZEGÓLNE OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE

Dr Natalia Rozwadowska przedłożyła do oceny szczególne osiągnięcie naukowe, uzyskane po otrzymaniu stopnia doktora, które w myśl art., 16 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym powinno stanowić znaczny wkład autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej.

A. Ocena formalna

W skład wyodrębnionego osiągnięcia naukowego pod zbiorczym tytułem „*Charakterystyka molekularna oraz modyfikacja genetyczna mięśniowych komórek macierzystych w odniesieniu do ich przydatności w terapii regeneracyjnej*” wchodzi 6 prac oryginalnych, w tym 5 opublikowanych w czasopiśmie z listy A MNiSW posiadających IF i 1 z listy B (bez IF). Cykl uzupełnia praca poglądowa.

W 4 pracach Habilitanta jest pierwszym autorem, w dwóch równorzędnym pierwszym autorem i w 1 drugim autorem. Łączny IF cyklu prac wynosi **15.588**. Prace powstały w latach 2012-2016.

Publikacje te stanowią w myśl Art. 16 pkt.1 Ustawy o stopniach i tytule naukowym powiązane tematyczne dzieło, dotyczące badań nad komórkami macierzystymi mięśni szkieletowych w

celu zwiększenia ich przydatności w medycynie regeneracyjnej. Wszystkie prace powstały w macierzystym Instytucie Habilitantki, w ciągu ostatnich 4 lat bez współpracy ośrodków zagranicznych, co świadczy o dużej samodzielności Dr N. Rozwadowskiej i jej dynamicznym rozwoju naukowym.

B. Ocena merytoryczna

Głównym celem prac stanowiących osiągnięcie naukowe dr. Natalii Rozwadowskiej było uzyskanie populacji macierzystych komórek mięśni szkieletowych optymalnej dla celów regeneracji narządów z uwzględnieniem uszkodzonego mięśnia sercowego i mięśnia zwieracza odbytu.

Dr N. Rozwadowska opracowała metodę izolacji i hodowli ludzkich mioblastów w celu wykorzystania tych komórek w dwóch badaniach klinicznych I fazy u pacjentów po zawale mięśnia sercowego. Opracowała protokół oceny jakościowej mioblastów uwzględniający ekspresję antygenu CD56, desminy, ciężkiego łańcucha miozyny i czynników transkrypcyjnych z rodziny MEF.

Następnie przystąpiła do optymalizacji hodowli mioblastów mając na uwadze, że w przypadku stosowania mioblastów na większą skalę w medycynie regeneracyjnej kwestia sposobu hodowli z uwzględnieniem ilości miejsca i ilości stosowanych pożywek ma duże znaczenie praktyczne. Porównywała rezultaty hodowli na standardowym podłożu i przy użyciu nośników dekstranowych Cytodex 3. Okazało się, że nowe podłoże przyczynia się do szybszego starzenia się mioblastów i zmniejsza ich potencjał proliferacyjny. Badania nie rozwiązały problemu optymalizacji hodowli ale dostarczyły ważnych informacji na temat jej warunków i zostały opublikowane w pracy o umiarkowanym współczynniku oddziaływania (IF=1.06).

Kolejna ważna praca w dorobku dr N. Rozwadowskiej pozwala na lepsze zrozumienie mechanizmu różnicowania ludzkich mioblastów na poziomie architektury wewnątrzjądrowej. Przy pomocy analizy obrazów uzyskanych w mikroskopie konfokalnym i ich korelacji z wynikami uzyskanymi w badaniach mikromacierzowych, dr Rozwadowska pokazała, że wyciszeniu genów towarzyszy przemieszczanie się chromosomów, na których się znajdują, na peryferie jądra. Chromosom, na którym znajdowały się geny nie ulegające wyciszeniu w procesie różnicowania nie ulegał translokacji. Ta ciekawa obserwacja, o ważnym znaczeniu poznawczym, uzyskana przy użyciu zaawansowanych technik badawczych, spotkała się z uznaniem recenzentów czasopisma o wysokim współczynniku oddziaływania (IF=3.5).

Naturalną konsekwencją uzyskania odpowiednio scharakteryzowanej puli mioblastów była praca, w której ludzkie mioblasty zostały podane do tkanki mięśnia sercowego immunokompromisowych myszy, u których dokonano indukcji eksperymentalnego zawału serca. Praca ta wpisuje się w nurt badań przedklinicznych, prowadzonych w celu zbadania mechanizmów potencjalnie korzystnego działania w sercu mioblastów, które w swej natywnej formie nie tworzą połączeń z kardiomiocytami i same w sobie nie mogą stać się integralną częścią *syncytium* czynnościowego jakim jest mięsień sercowy. Pomimo to, że wszczepione do pozawałowego mięśnia sercowego mioblasty nie zwiększały frakcji wyrzucania lewej komory, powodowały zmianę ekspresji genów ważnych dla patologicznej przebudowy pozawałowego serca, między innymi genu GATA-4. Aktywacji tego genu towarzyszy wzrost ekspresji genu NPPB kodującego mózgowy peptyd natiuretyczny (BNP), którego białkowy produkt pojawiający się we krwi jest markerem zaawansowania niewydolności serca. Aktywacja GATA-4 wiąże się również ze spadkiem ekspresji genu, kodującego ATP-azę wapniową siateczki sarkoplazmatycznej SERCA2a, która jest bardzo ważnym regulatorem

aktywności skurczowej kardiomiocytów. Po podaniu mioblastów do zawałowego serca w porównaniu z grupą kontrolną odnotowano spadek ekspresji genu GATA-4, spadek poziomu genu NPPB, spadek krążącego we krwi NT-proBNP oraz zmniejszenie stosunku ekspresji genu inhibitora SERCA2a - fosfolambanu do ekspresji genu SERCA2a. Zmiana ta może zaowocować zwiększonym wychwytem Ca^{2+} do siateczki sarkoplazmatycznej i poprawą kurczliwości kardiomiocytów. To ważny wynik, ponieważ zwiększenie funkcji SERCA2a jest powszechnie uznanym markerem odwrócenia patologicznej przebudowy i markerem skuteczności leczenia niewydolności serca, co pokazano przy stosowaniu beta-blokerów, terapii resynchronizującej, mechanicznego wspomaganie lewej komory (LVAD), czy elektrycznej modulacji kurczliwości mięśnia sercowego (CCM). Uważam, że to bardzo wartościowa praca o dużym znaczeniu poznawczym. Bardzo dobrym dopełnieniem tej pracy byłyby badania czynnościowe na izolowanych kardiomiocytach potwierdzające większą aktywność SERCA2a.

Kolejnym etapem badań zainicjowanych wynikami badań klinicznych wskazujących na zwiększoną arytmogenność serc poddanych terapii mioblastami, była modyfikacja genetyczna mioblastów w celu zwiększenia w nich ekspresji genu GJA1 kodującego białko połączeń szczelinowych koneksynę-43. W pierwszym etapie modyfikację zastosowano w mioblastach mysiej linii komórkowej. Wykazano, że ta modyfikacja nie zmienia właściwości mioblastów, a nawet podnosi istotnie ich przeżywalność w warunkach niedotlenienia. Wyniki tego badania zostały opublikowane w czasopiśmie bez IF, ale były wstępem do przeprowadzenia takiej samej manipulacji genetycznej w ludzkich mioblastach z nadrzędnym celem wykorzystania ich w badaniach przedklinicznych i klinicznych. Dr Rozwadowska pokazała, że zmodyfikowane mioblasty wykazują nadekspresję koneksyny 43 na poziomie mRNA i białka i potwierdziła powstawanie nowych międzykomórkowych funkcjonalnych połączeń *in vitro*. Zmodyfikowane mioblasty zostały następnie wykorzystano w bardzo dobrze opublikowanej pracy (IF=4.03), polegającej na wszczepieniu modyfikowanych mioblastów do serca myszy po indukcji zawału serca. Obecność modyfikowanych mioblastów spowolniła proces spadku funkcji mięśnia sercowego po zawale i efekt terapii utrzymywał się dłużej niż po wszczepieniu mioblastów natywnych. W tej bardzo ciekawej pracy zabrakło jednak badania jak wpływa taka interwencja na skłonność pozawałowego serca do arytmii, ale jak wspomina Habilitanta w Autoreferacie takie badania są obecnie prowadzone w modelu szczurzym. Tę i poprzednią pracę o charakterze badań przedklinicznych uważam za bardzo ważną część osiągnięcia naukowego Habilitantki poszarzająca wiedzę o mechanizmach działania mioblastów natywnych i modyfikowanych w tkance docelowej.

Cykl prac wchodzących w skład osiągnięcia Habilitantki zamyka praca będąca pilotażowym badaniem klinicznym, w którym dr. Rozwadowska była odpowiedzialna za przygotowanie mioblastów wszczepionych pacjentom z niewydolnością mięśnia zwieracza odbytu. Do badania zakwalifikowano 10 pacjentów. Atrakcyjność tej interwencji leczniczej polega na tym, że współczesna medycyna nadal nie oferuje skutecznego wyleczenia pacjentom z tym niezmiernie degradującym społecznie schorzeniem. Dodatkowo skuteczność terapii może być większa niż w przypadku mięśnia sercowego, ponieważ mioblasty różnicują *in vivo* do komórek mięśni szkieletowych zbudowanych i działających tak jak mięśnie zwieracza. W badaniu stwierdzono krótkoterminową poprawę zarówno subiektywną, jak i potwierdzoną obiektywnymi testami elektromiograficznymi u ponad połowy chorych. Długoterminowa poprawa w obserwacji 12 miesięcznej odnotowano u ok. 40% chorych. Praca ta jest ważnym głosem wśród nielicznych badań tego typu opisanych w literaturze przedmiotu. Jej ograniczenia to nieliczna grupa pacjentów i brak grupy kontrolnej. Należy podkreślić, że ta praca udowadnia charakter translacyjny osiągnięcia naukowego Habilitantki.

Dodatkowo, Habilitantka wspomina w Autoreferacie, że zostało zakończone badanie kliniczne I fazy, w którym do uszkodzonego mięśnia sercowego zostały wszczepione modyfikowane mioblasty z nadekspresją koneksyny 43. Praca ta stanowiłaby doskonałe dopełnienie osiągnięcia naukowego Habilitantki. Jednak sam fakt, że badania Dr N. Rozwadowskiej znalazły finał w kolejnym badaniu klinicznym jest bardzo ważny i podnosi wartość osiągnięcia.

Podsumowując, na szczególne podkreślenie zasługuje w mojej ocenie fakt, że prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego dr N. Rozwadowskiej mają charakter translacyjny. W bardzo krótkim czasie 4 lat Habilitantce udało się przeprowadzić badania przygotowawcze, dotyczące sposobu hodowli mioblastów, następnie badania poznawcze mechanizmów różnicowania mioblastów, otrzymać genetycznie zmodyfikowane mioblasty, przeprowadzić badania przedkliniczne przy użyciu myszy immunokompromisowych oraz zastosować mioblasty w badaniach klinicznych I fazy. Jestem przekonana, że przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe stanowi istotny wkład dr Natalii Rozwadowskiej w rozwój dyscypliny naukowej: biologia medyczna, a szczególnie w rozwój medycyny regeneracyjnej z zastosowaniem komórek macierzystych mięśni szkieletowych.

OCENA OSIĄGNIĘĆ DYDAKTYCZNYCH I ORGANIZACYJNYCH

Dr. Natalia Rozwadowska prowadzi od kilku lat wykłady i ćwiczenia dla studentów II i III roku Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu na kierunku biotechnologia w ramach przedmiotu obieralnego.

Na szczególne podkreślenie w mojej opinii zasługuje jednak jej bardzo duże zaangażowanie w opiekę nad magistrantami i doktorantami. Była opiekunem aż 13 prac magisterskich oraz, dwukrotnie sprawowała funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim (obie prace zostały wyróżnione). Obecnie sprawuje opiekę naukową nad kolejnymi trzema doktorantami.

Habilitanta od kilku lat prowadzi warsztaty dotyczące genetyki człowieka dla dzieci w różnych grupach wiekowych (przedszkolnych i wczesnoszkolnych) oraz młodzieży gimnazjalnej i licealnej. Jest odpowiedzialna za prezentację programu dydaktycznego macierzystego Instytutu na Festiwalach Nauki i dniach otwartych. Aktywnie uczestniczy w pozyskiwaniu funduszy na te ważne cele dydaktyczne, a w roku 2016 roku objęła funkcję Koordynatora ds. Popularyzacji Nauki w Instytucie Genetyki Człowieka.

Jest współautorką 6 prac poglądowych i 5 rozdziałów w podręcznikach. Jedna z prac, w której jest pierwszym autorem i szeroko omawia możliwość genetycznej modyfikacji komórek macierzystych w celu podniesienie ich potencjału regeneracyjnego, została włączona do osiągnięcia habilitacyjnego

Ma już pewne doświadczenie w recenzowaniu projektów naukowych zgłaszanych do konkursów lokalnych i krajowych.

Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, brała udział w pracy komitetów organizujących sympozja naukowe.

Reasumując, uważam, że aktywność dydaktyczna i popularyzatorska dr. N. Rozwadowskiej zatrudnionej w Instytucie Naukowym, w którym duża aktywność dydaktyczna jest trudniejsza do zrealizowania niż na Uczelniach, zasługuje na wyróżnienie. Szczególną uwagę należy zwrócić na działalność dydaktyczną wśród dzieci i młodzieży, a także studentów i

doktorantów. Mówienie o rzeczach trudnych w sposób zrozumiały do młodego odbiorcy to duża umiejętność, a cel i znaczenie takich działań bardzo ważne społecznie.

PODSUMOWANIE I OCENA KOŃCOWA

W oparciu o przeprowadzoną analizę dorobku naukowego, dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego, uzyskane nagrody i wyróżnienia oraz aktywność na arenie krajowej i międzynarodowej, a także analizę osiągnięcia naukowego stwierdzam, że dr n. med. Natalia Rozwadowska spełnia wszystkie warunki konieczne do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego ujęte w *Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz.U. Nr 196, poz. 1165).*

Stąd też, z pełnym przekonaniem, wnioskuję do Przewodniczącego Komisji Habilitacyjnej oraz Wysokiej Rady Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie dr n. med. Natalii Rozwadowskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Dr hab. n. med. Urszula Mackiewicz



CENTRUM MEDYCZNE
KSZTAŁCENIA PODYPLOMOWEGO
ZAKŁAD FIZJOLOGII KLINICZNEJ
01-813 Warszawa, ul. Marymoncka 99/103
tel. 22 56 93 810, fax 22 5693 849
www.cmkp.edu.pl