

AUTOREFERAT

Opracowanie modeli i próby terapii chorób serca z zastosowaniem biologii komórkowej oraz inżynierii tkankowej z wykorzystaniem komórek macierzystych człowieka i modeli zwierzęcych.

Dr n.med. Tomasz Kolanowski
Zakład Patologii Molekularnej
Instytut Genetyki Człowieka PAN
ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

Poznań, dn. 13.09.2022r.

Spis treści

1. Imię i nazwisko	4
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne.....	4
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	5
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).....	6
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	6
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia.....	6
4.3. Omówienie osiągnięcia naukowego.....	9
4.3.1. Opis problemu badawczego.....	12
4.3.2. Znaczenie i cel badań	15
4.3.3. Omówienie wyników	16
4.3.4. Podsumowanie dzieła	28
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej	29
5.1. Zainteresowania badawcze.....	29
5.2. Współpraca w kraju i zagranicą.....	30
5.2.1. Współprace długoletnie	30
5.2.2. Współprace rozwijane	31
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.....	32
6.1. Działalność dydaktyczna i popularyzatorska.....	32
6.2. Wykłady naukowe na zaproszenie	33
6.3. Opieka nad studentami.....	34
6.4. Popularyzacja nauki / integracja środowiska naukowego / organizacja polityki i administracji naukowej	34
7. Inne informacje, ważne punktu widzenia wnioskodawcy, dotyczące jego kariery zawodowej	37
7.1. Współpraca z przemysłem, oraz projekty naukowe.....	37
7.2. Patenty i wnioski patentowe	38
7.3. Informacja o wdrożonych technologiach	38
7.4. Nagrody, wyróżnienia, szkolenia.....	39
7.5. Informacja o projektach	39
7.6. Członkostwo w organizacjach naukowych	42
7.7. Aktywność recenzencka	42
7.8. Uczestnictwo w programach Europejskich.....	43
7.9. Szkolenia i wczesna działalność dodatkowa.....	43
7.10. Podsumowanie dorobku	44



1. Imię i nazwisko

dr n. med. Tomasz Kolanowski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne

a. Doktor nauk medycznych; 09.2010 – 06.2014

Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań; ukończono z wyróżnieniem

Tytuł pracy doktorskiej: Zmiany architektury jądrowej i transkryptomu podczas różnicowania ludzkich komórek macierzystych pochodzenia miogenne

b. Studia Podyplomowe 09.2012 – 06.2013

Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

Marketing Strategiczny na Rynku Farmaceutycznym

c. Magister Inżynier Biotechnologii; 09.2005 – 06.2010

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu; ukończono z wyróżnieniem

Tytuł pracy dyplomowej: Wpływ egzogennej nadekspersji koneksyny 43 na charakterystykę linii mysich mioblastów mięśni szkieletowych

d. Licencjat Biologii (specjalność Bioinformatyka); 09.2007 – 06.2010

Uniwersytet Adama Mickiewicza, Poznań, ukończono z wyróżnieniem

Tytuł pracy dyplomowej: Indukcja pluripotencji w komórkach somatycznych – nowe możliwości zastosowania w medycynie regeneracyjnej

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- a. Kierownik Samodzielnej Grupy Badawczej Zaawansowanych Modeli Tkankowych
03.2022 – aktualnie
Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań, Polska; umowa o pracę
- b. Adiunkt (inżynieria tkankowa I biologia komórek macierzystych)
11.2018 – 03.2022
Zakład Patologii Molekularnej, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań, Polska; umowa o pracę
- c. Naukowiec – post-doc (zaawansowane modele komórkowe i tkankowe)
03.2016 – 09.2018
Stem Cell Research and Regenerative Pharmacology and Toxicology Group, Institute of Pharmacology and Toxicology, MTZ, University Clinic, TU-Dresden, Niemcy; umowa o pracę
- d. Staż podoktorski (modelowanie chorób rzadkich)
09.2015 – 03.2016
Stem Cell Unit, Cardiology and Pneumology Department; Medical University Gottingen, Niemcy; stypendium
- e. Naukowiec - post-doc, koordynator naukowy projektu
07.2014 – 09.2015
Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań; umowa o pracę
- f. Biolog (biologia komórek macierzystych)
09.2010 – 06.2014
Zakład Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań; umowa o pracę
- g. Staż laboratoryjny w ramach program Erasmus Placement
07.2009 – 10.2009
Academic Unit of Anesthesia, Malignant Hyperthermia Unit, University of Leeds, Wielka Brytania; stypendium

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Opracowanie modeli oraz próby terapii chorób serca z zastosowaniem biologii komórkowej oraz inżynierii tkankowej z wykorzystaniem ludzkich komórek macierzystych oraz modeli zwierzęcych

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia

Osiągnięcie zostało udokumentowane **pięcioma** recenzowanymi pracami, opublikowanymi w latach 2014-2022 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Łączna wartość bibliometryczna przedstawionych publikacji wynosi: *Impact Factor* (IF) **27,263** oraz **80** [2014-2017] + **420** [2020-2022] punktów ministerialnych.

[M1] Kolanowski TJ*, Rozwadowska N*, Malcher A, Szymczyk E, Kasprzak JD, Mietkiewski T, Kurpisz M. *In vitro and in vivo characteristics of connexin 43-modified human skeletal myoblasts as candidates for prospective stem cell therapy for the failing heart*. *Int J Cardiol*. 2014 Apr 15;173(1):55-64. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.02.009.*equal contribution **[IF: 4.036; Pkt Min: 40** (wcześniejszy system punktacji/100pkt – aktualny system)]; praca oryginalna

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: współuczestnictwie w przeprowadzeniu izolacji komórek oraz hodowli komórkowych; klonowaniu konstrukcji genowej, przeprowadzeniu eksperymentów mających na celu potwierdzenie obecności konstrukcji (qPCR i Western Blot), funkcjonalnych w tym *scrape loading assay* oraz *Fusion index*. Ponadto przeprowadzałem analizę danych, przygotowywałem ryciny oraz pierwszą (i kolejne) wersję manuskryptu.

[M2] Kolanowski TJ, Antos CL, Guan K. *Making human cardiomyocytes up to date: Derivation, maturation state and perspectives*. *Int J Cardiol*. 2017 Aug 15;241:379-386. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.03.099. **[IF: 4.034; Pkt Min: 40** (wcześniejszy system punktacji)/100pkt - aktualny system]; praca przeglądowa

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: przygotowaniu manuskryptu, wyselekcjonowaniu literatury oraz odpowiednim pogrupowaniu sekcji w manuskrypcie. Byłem również odpowiedzialny za przygotowanie rycin do manuskryptu (większość przygotowana samodzielnie, jedna

rycina została zlecona). Ponadto aktywnie uczestniczyłem w pracach koncepcyjnych, dyskusji oraz interpretacji przedstawianych wyników i osiągnięć.

[M3] Kolanowski TJ*, Busek M*, Schubert M*, Dmitrieva A, Binnewerg B, Pöche J, Fisher K, Schmieder F, Grünzner S, Hansen S, Richter A, El-Armouche A, Sonntag F, Guan K. *Enhanced structural maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes under a controlled microenvironment in a microfluidic system*. **Acta Biomater.** 2020 Jan 15;102:273-286. doi: 10.1016/j.actbio.2019.11.044.

*equal contribution [IF: 8.947; Pkt Min: 140] ; praca oryginalna

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: przygotowaniu komórek oraz przeprowadzeniu hodowli komórkowych, opracowaniu protokołów hodowli w mikroprzepływie (parametry urządzenia), przygotowanie, wykonanie i analiza danych dla assayów komórkowych zawartych w publikacji w tym barwień mikroskopii konfokalnej oraz przygotowanie i analiza filmów dot. akcji skurczowej kardiomiocytów. Dodatkowo przeprowadziłem bioinformatyczną analizę obrazów (sieci mitochondriów oraz analizę transformaty Fouriera dla długości sarkomerów). Wykonałem również ryciny do manuskryptu oraz przygotowałem pierwszą wersję manuskryptu. Uczestniczyłem w jego końcowej obróbce.

[M4] Kolanowski TJ*, Wargocka-Matuszewska W*, Zimna A, Cheda L, Zypych-Walczak J, Rugowska A, Drabik M, Fiedorowicz M, Krajewski S, Steczek Ł, Kozanecki C, Rogulski Z, Rozwadowska N, Kurpisz M. *Multiparametric Evaluation of Post-MI Small Animal Models Using Metabolic ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$) and Perfusion-Based (SYN1) Heart Viability Tracers*. **Int J Mol Sci.** 2021 Nov 22;22(22):12591. doi: 10.3390/ijms222212591. *equal contribution [IF: 5.923; Pkt Min: 140] ; praca oryginalna

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: współuczestnictwie w opracowaniu protokołu mikrochirurgicznej indukcji zawału mięśnia sercowego u myszy, współ-wykonaniu eksperymentów, analizie danych oraz przygotowaniu koncepcji manuskryptu a także napisaniu manuskryptu oraz przygotowaniu rycin zawartych w manuskrypcie. Dodatkowo uczestniczyłem w rewizji manuskryptu, odpowiadając na pytania recenzentów.

[M5] Kałużna E, Nadel A, Zimna A, Rozwadowska N, Kolanowski T. *Modeling the human heart ex vivo-current possibilities and strive for future applications*. **J Tissue Eng Regen Med.** 2022 Jun 24. doi: 10.1002/term.3335. Epub ahead of print. [IF₂₀₂₁: 4.323; Pkt Min: 140] ; praca przeglądowa

Mój udział w powstanie tej publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji manuskryptu, jego wielokrotnej rewizji oraz dyskusji i wyborze literatury. Ponadto opracowałem koncepcję rycin, a także zarządzałem wysyłką i koncepcją odpowiedzi do recenzentów. Pełniłem funkcję autora

korespondencyjnego. Jest to pierwsza publikacja powstała w Samodzielnej Grupie Badawczej Zaawansowanych Modeli Tkankowych, którą kieruję od 03.2022.

4.3. Omówienie osiągnięcia naukowego

Pracę badawczą związaną z poznawaniem mechanizmów chorób serca oraz sposobów ich leczenia metodami biologii komórkowej rozpocząłem tuż po zakończeniu studiów w 2010 roku. Pracę doktorską (2010-2014) poświęciłem badaniom epigenetycznym kontroli różnicowania komórek mięśniowych, będących wstępem do lepszego poznania biologii komórek macierzystych i progenitorowych oraz sposobów ich integracji z tkanką mięśniową co jest wciąż, po ponad dekadzie badań, jednym z głównych problemów terapeutycznych dla tkanek pozostających w ciągłym ruchu. Rozwiązanie tego problemu proponowaliśmy osiągnąć również w innej pracy badawczej, poprzez modyfikację genetyczną genem koneksyny 43 i stworzenie połączeń szczelinowych z tkanką serca (ang. *gap junctions*), jedynych komórek mięśniowych możliwych w tym czasie do wykorzystania w terapii – mioblastów m. szkieletowych. Powstała w ramach projektu praca jest częścią prezentowanego osiągnięcia [M1], a badania przeszły w fazę kliniczną i skutkowały publikacją w *European Journal of Heart Failure* (IF >10).

Już w trakcie trwania badań nad regulacją epigenetyczną otrzymałem finansowanie projektu naukowego (2011), dotyczącego indukcji pluripotencji w komórkach mięśniowych oraz ich różnicowania w kierunku kardiomiocytów. Projekt rozpoczął się jeszcze przed przyznaniem nagrody Nobla w medycynie (Gurdon, Yamanaka, 2012) za badania nad pluripotencją i był jednym z pierwszych definiujących ten mechanizm w komórkach mięśniowych. Postawiono w nim hipotezę, iż podobieństwo wzoru epigenetycznego komórek tkanek mięśniowych (ten sam listek zarodkowy oraz początkowa ścieżka różnicowania), który prawdopodobnie nie zostanie całkowicie usunięty w drodze odróżnicowywania, może spowodować bardziej efektywne następce różnicowanie powstałych komórek o indukowanej pluripotencji (ang. induced Pluripotent Stem Cells, iPSCs) w kierunku kardiomiocytów. Teza ta została w późniejszym czasie udowodniona przez naszą oraz wiele innych grup naukowych na świecie. Publikacje z tego zakresu nie znajdują się w dziele naukowym, jednak miały znaczący wpływ na dzieło.

W 2014 roku jako współautor i koordynator naukowy ze strony Instytutu, rozpocząłem realizację projektu StrategMed – „EPICELL – niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek dla potrzeb medycyny regeneracyjnej”, stosującego wielkoskalowy *screening* do optymalizacji medium hodowlanego dla różnicowania iPSC w kierunku kardiomiocytów. Był to jeden z projektów wprowadzających automatyzację i autonomię wielkoskalowych hodowli do laboratoriów. Zadanie przekazałem do realizacji po roku odpowiedzialności za projekt, gdyż po otrzymaniu stypendium wyjazdowego udałem się na staż naukowy do Getyngi (Niemcy) we wrześniu 2015 roku.

W Getyndze przebywałem w Stem Cells Unit, kierowanej przez prof. Gerd Hasenfuss, uznanego kardiologa, który brał udział w rozwoju zaawansowanego modelu serca *in vitro* – ang. *Enginnered Heart Muscle/Tissue* (EHM/EHT). Dzięki pomysłowi integracji różnych komponentów (komórek, matrycy zewnątrzkomórkowej, cząsteczek sygnałowych) oraz stworzeniu protokołu treningu mięśniowego, powstałe makroskopowe modele tkanki EHT są porównywalne do dojrzałego mięśnia sercowego. W tym czasie rozpocząłem naukę tworzenia oraz doskonalenie tego typu modeli, którą kontynuowałem podczas mojego ponad 2-letniego pobytu w Dreźnie (2016-2018) w grupie prof. Kaomei Guan i prof. Ali El-Armouche (uznany członek zarządu Niemieckiego Towarzystwa Kardiologicznego). Prace nad tym modelem kontynuuję do dzisiaj w ramach projektów własnych.

W ramach mojego pobytu w Dreźnie miałem okazję współpracować m.in. z Christopher Antos, Amerykaninem i wieloletnim wychowankiem prof. Elly Tanaka, będących jedną z najważniejszych postaci na świecie w badaniach podstawowych nad regeneracją tkanek w modelach zwierzęcych. Publikacja [M2] jest wynikiem prowadzonych w tym czasie dyskusji i teorii naukowych. W ramach współpracy z Fraunhofer Institute For Material and Beam Technology - dr Frank Sonntag oraz dr Mathias Busek opracowałem unikatowy w tym czasie model *heart-on-chip*. Publikacja powstała w tym zakresie opublikowana została w prestiżowym *Acta Biomaterialia* [M3], która uświadomiła mi potrzebę współpracy z inżynierami oraz otwarcia na współpracę z przemysłem (m.in. udział w konferencji 3D Cell Culture organizowanej przez szwajcarski związek Swiss Biotech oraz niemiecki DECHEMA), w celu wdrożenia wyników badań. W tym okresie miałem okazję współpracować również z dr Silvio Weber, który aktualnie rozwija prace własne w ramach współpracy z działem rozwoju Miltenyi Biotech AG.

Od 2018 roku jestem kierownikiem projektu własnego „FIBROdrive – definicja roli fibroblastów w różnicowaniu tkanki serca. Ocena mechanizmu wpływu komorowo-specyficznych fibroblastów na specjalizację kardiomiocytów z wykorzystaniem inżynierii tkankowej w modelu serca człowieka” wykorzystującego model EHT do zbadania roli fibroblastów na późnym etapie różnicowania subtypów kardiomiocytów. W tym czasie, w ramach współpracy z ośrodkiem w Dreźnie powstała publikacja, potwierdzająca ekstremalnie ważną rolę fibroblastów w patogenezie migotania przedsionków (Kunzel et al., *Circ Res*, 2021; IF = 17.31; publikacja nie wchodzi w skład dzieła). Jednocześnie, realizowałem prace w ramach projektu PBS pt. „Molekularne obrazowanie (z zastosowaniem nanotechnologii) dla monitorowania implantowanych komórek macierzystych i ich funkcji regeneracyjnych”, w ramach którego powstała publikacja dotycząca modelowania zmian serca pozawałowego z wykorzystaniem nowych znaczników do zaawansowanych systemów obrazowania [M4]. W latach 2019-2020 współtworzyłem dwa konsorcja międzynarodowe wnioskujących o finansowanie z projektów Horizon, rozwijających modele tkankowe (projekty nierozstrzygnięte). W 2021 złożyłem, lub uczestniczyłem z ramienia Instytutu jako koordynator naukowy w złożeniu dwóch projektów infrastrukturalnych dotyczącą rozwoju modeli oraz inżynierii tkankowej, z których oba zostały rozstrzygnięte pozytywnie

i uzyskały rekomendacje do finansowania. W konsekwencji w marcu 2022 utworzono Grupę Badawczą Zaawansowanych Modeli Tkankowych, której jestem kierownikiem. W ramach tej grupy powstała już pierwsza publikacja przeglądowa dotycząca rodzajów i możliwości wykorzystania modeli tkankowych serca, której jestem autorem korespondencyjnym [M5].

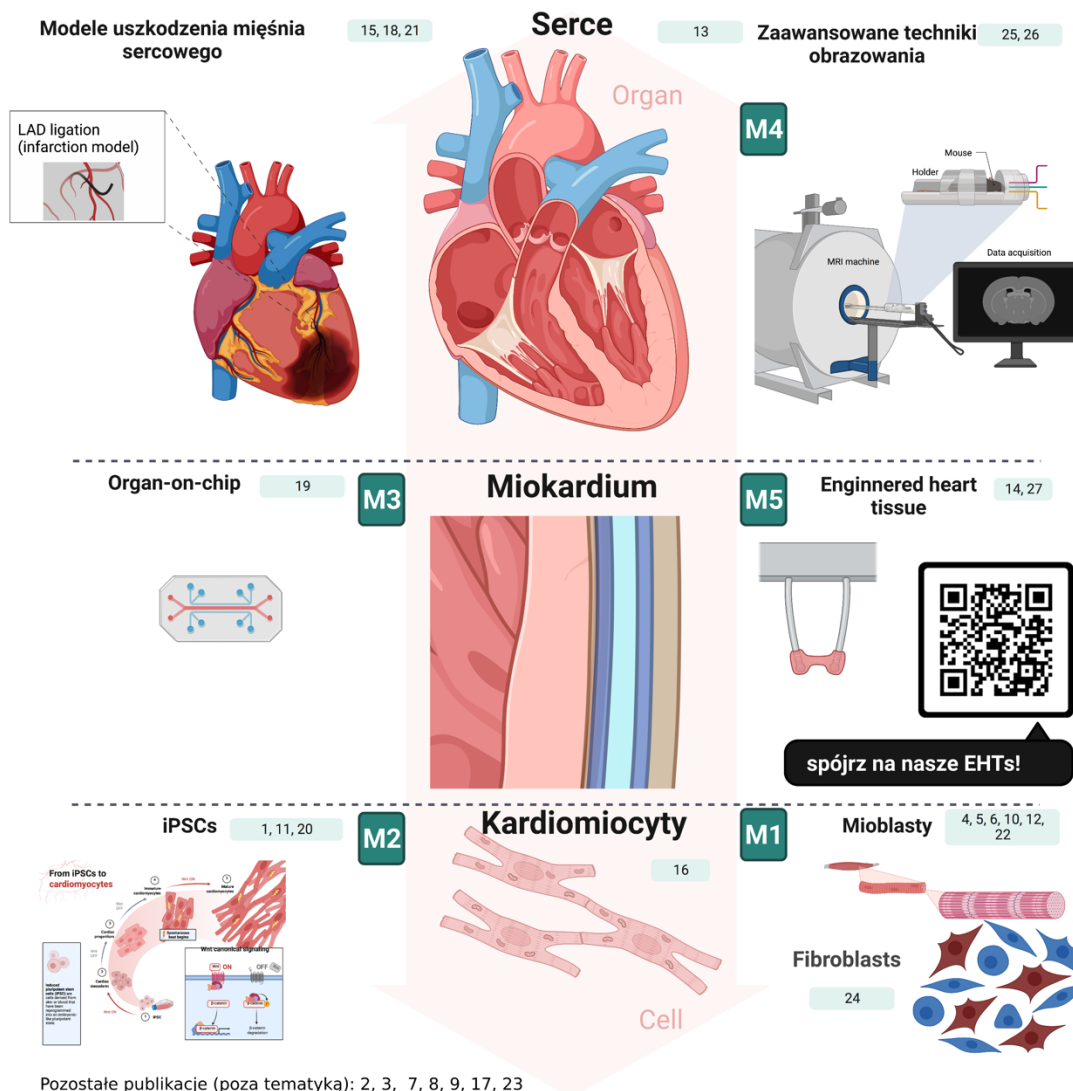
Jednocześnie, mając na uwadze obserwację rynku naukowego w Niemczech, staram się rozwijać część aplikacyjną mojej działalności naukowej. Aktualnie jestem współudziałowcem, członkiem zarządu oraz *Chief Scientific Officer* w spółce start-up rozwijającej i wprowadzającej pierwszą w Europie Środkowej i Wschodniej onkologiczną terapię genową opartą na zmodyfikowanych genetycznie komórkach T (ang. *Chimeric Antigen Receptor-T cells*, CAR-T). W ramach projektu nadzoruję również badania, które prowadzą do publikacji w których jestem autorem korespondencyjnym (w trakcie akceptacji). Jestem również współautorem patentów z dziedziny dotyczących przygotowania i bezpieczeństwa wykorzystania terapii komórkowych.

Przedstawione dzieło habilitacyjne „Opracowanie modeli i próby terapii chorób serca z zastosowaniem biologii komórkowej oraz inżynierii tkankowej z wykorzystaniem komórek macierzystych człowieka i modeli zwierzęcych” składa się z pięciu wybranych publikacji będących elementem mojej działalności z zakresu modelowania procesów rozwojowych oraz chorób serca i jednocześnie podejścia terapeutycznego. Każda z publikacji reprezentuje odrębny etap i część prowadzonej działalności. Prace oryginalne przeprowadzają poprzez metody akceptowalnej klinicznie modyfikacji genetycznej komórek, celem zmiany ich biologii [M1], przez opracowanie systemu kontrolującego hodowlę i umożliwiającego dojrzewanie kardiomiocytów [M2]; do modelowania zmian funkcji serca in vivo poprzez rozwój technologii obrazowania [M4]. Prace przeglądowe [M3 i M5] są natomiast podsumowaniem wiedzy dot. różnicowania kardiomiocytów oraz niezbędnej do tworzenia modeli i przyszłych terapii. Przedstawiają ona wiedzę dotyczącą dojrzewania kardiomiocytów niezbędną do stworzenia modelu [M3], a także technologie, które są obecnie rozwijane w celu modelowania tkankowego chorób i działania leków oraz w celu umożliwienia stworzenia w przyszłości także całego narządu in vitro [M5].

Niniejsze opracowanie ma na celu przedstawienie zwięzłego opisu dorobku naukowego, będącego elementem dzieła. Na początku przedstawiono problem dotyczący chorób serca wraz ze zmieniającym się w kolejnych latach podejściem do rozwiązań terapeutycznych. Następnie opisuję badania składające się na każdy z elementów dzieła, umiejscawiając je w całości przedstawianego własnego dorobku. Szczegółowe opisy przedstawionych badań zawierają się w dołączonych do autoreferatu publikacjach. Rycina 1. przedstawia dorobek publikacyjny na tle schematu rozwoju technologii biomedycznych w celu modelowania i terapii chorób serca.

Modelowanie tkanki serca

Poziomy rozwoju modeli i terapii mięśnia sercowego



Rycina 1. Schemat rozwoju technologii biomedycznych w celu modelowania i terapii chorób serca. Dorobek publikacyjny został umieszczony tematycznie w celu zobrazowania dzieła i powiązań tematycznych wybranych publikacji. Publikacje wchodzące w skład dzieła (M1-M5) umieszczono w ciemnozielonych ramkach, pozostałe publikacje (numery) umieszczono w jasnozielonym obramowaniu.

4.3.1. Opis problemu badawczego

Choroby serca, a szerzej, choroby układu krwionośnego (ang. *cardiovascular diseases*, CVDs) odpowiadały za 17,9 mln zgonów (31%) w 2019 roku i niezmiennie pozostają główną przyczyną zgonów na świecie (<https://www.who.int/data/gho>; z 10.07.2022).

Jest to spowodowane wieloma czynnikami, jednak jednym z nich jest fakt, iż układ krwionośny nie zachowuje swojej elastyczności oraz funkcji kurczliwych i z biegiem czasu staje się mniej wydajny, czemu towarzyszą zdarzenia „szokowe” (m.in. zawał mięśnia sercowego, udary, migotania komór lub

zatrzymania akcji) będące skutkiem procesów, które zachodziły w układzie przez długi czas (np. odkładanie płytek miażdżycowych czy fibroza mięśnia).

Nie wszyscy pacjenci chorują terminalnie – koszty ich leczenia również pozostają ogromne i wciąż rosną. Ocenia się, że na skutek chorób układu sercowo-naczyniowego światowa gospodarka traci ok. 1 biliona dolarów rocznie (863 mld \$ w 2010, do 1044 mld \$ w 2030; Kuehn, B.M., JAMA 310(19), 2029; 2013) co stanowiło ok. 1,2% wartości całej gospodarki światowej w 2020 roku (<https://www.statista.com/statistics/268750/global-gross-domestic-product-gdp/>; z 10.07.2022).

Pomimo ogromnych wydatków, dotychczas nie posiadamy skutecznych terapii dla większości CVDs, które gwarantowałyby pełny powrót do zdrowia pacjentów. Dzieje się tak, gdyż choroby te są często efektem wieloletniego stylu życia, a ich etiologia jest wieloczynnikowa (w tym również genetyczna), co utrudnia zdefiniowanie jasnych przyczyn i ogranicza lekarzy do badań obserwacyjnych, praktyk zapobiegawczych lub też, w ostateczności, do leczenia interwencyjnego. Poznanie mechanizmów rządzących CVDs jest często ograniczone niedoskonałościami modeli, jakie posiadamy, stąd nie zawsze prowadzone badania naukowe znajdują swoje odzwierciedlenie w praktyce klinicznej. W przypadku chorób serca, które są podgrupą CVDs jest podobnie, z tą różnicą, że efekty chorób, wpływając na funkcję serca, często stanowią bezpośrednie zagrożenia dla życia pacjentów.

Mięsień sercowy to jedyny organ w naszym organizmie, który pozostaje w cyklicznym ruchu przez całe nasze życie, w trakcie którego wykonuje ponad 3 mld uderzeń. Mięsień ten składa się z kilkunastu rodzajów komórek oraz matrycy zewnątrz komórkowej, ułożonych w odpowiednie struktury, umożliwiające synchroniczny skurcz każdego z czterech głównych kompartmentów (2 komór i 2 przedsionków). Główna akcja skurczowa serca jest wynikiem działalności kardiomiocytów (ang. *cardiomyocytes*, CMs) – komórek mięśniowych o szczególnych cechach (omówione w publikacji [M3]). Zatrzymanie akcji serca na skutek choroby prowadzi do hipoksji i obumierania CMs oraz aktywacji fibroblastów sercowych, które przekształcając się w miofibroblasty prowadzą do powstania blizny pozawałowej o ograniczonej kurczliwości. Takie uszkodzenie było celem do prób regeneracji mięśnia sercowego, początkowo przy użyciu innych typów komórek mięśniowych (tematyka pracy [M1]), lecz również wymusiło na badaczach konieczność szczegółowego poznania działalności substancji (leków) stosowanych w klinice i ich wpływu na funkcje CMs. W tym celu konieczne było a) pozyskanie źródła ludzkich kardiomiocytów człowieka oraz b) stworzenie modelu *in vitro* do pomiarów farmakologicznych substancji czynnych (tematyka prac [M2] i [M5]). Wciąż jednak tworzone modele nie są w stanie oddać w pełni interakcji między układami w organizmie, stąd konieczność rozwoju metod obrazowania *in vivo* (praca [M4]).

Historycznie, podejście naukowców do choroby niedokrwiennej serca zmieniało się wraz z rozwojem technologii oraz poziomu zrozumienia procesów towarzyszących obumieraniu kardiomiocytów i potencjalnej ich regeneracji. Podejścia te można podzielić na 3 fazy/okresy: 1) etap

zastosowania farmakologii; 2) okres wykorzystania komórek macierzystych; 3) etap inżynierii tkankowej.

Zastosowanie molekuł sygnałowych/ cząsteczek chemicznych było pierwszym (i jedynym dostępnym) podejściem do tematu regeneracji kardiomiocytów pod koniec poprzedniego wieku. Niestety, stymulacja i/lub mobilizacja farmakologiczna nie jest wystarczająco precyzyjna i działa również na inne rodzaje komórek w sercu. Terapie farmakologiczne, wykorzystujące m.in. aktywatory czy czynniki wzrostu, choć zapobiegały nadmiernemu obumieraniu kardiomiocytów (np. aktywatory kanałów cytoprotekcyjnych K_{ATP}) lub też nadmiernemu remodelingowi, nie były w stanie odbudować zniszczonej architektury mięśnia sercowego.

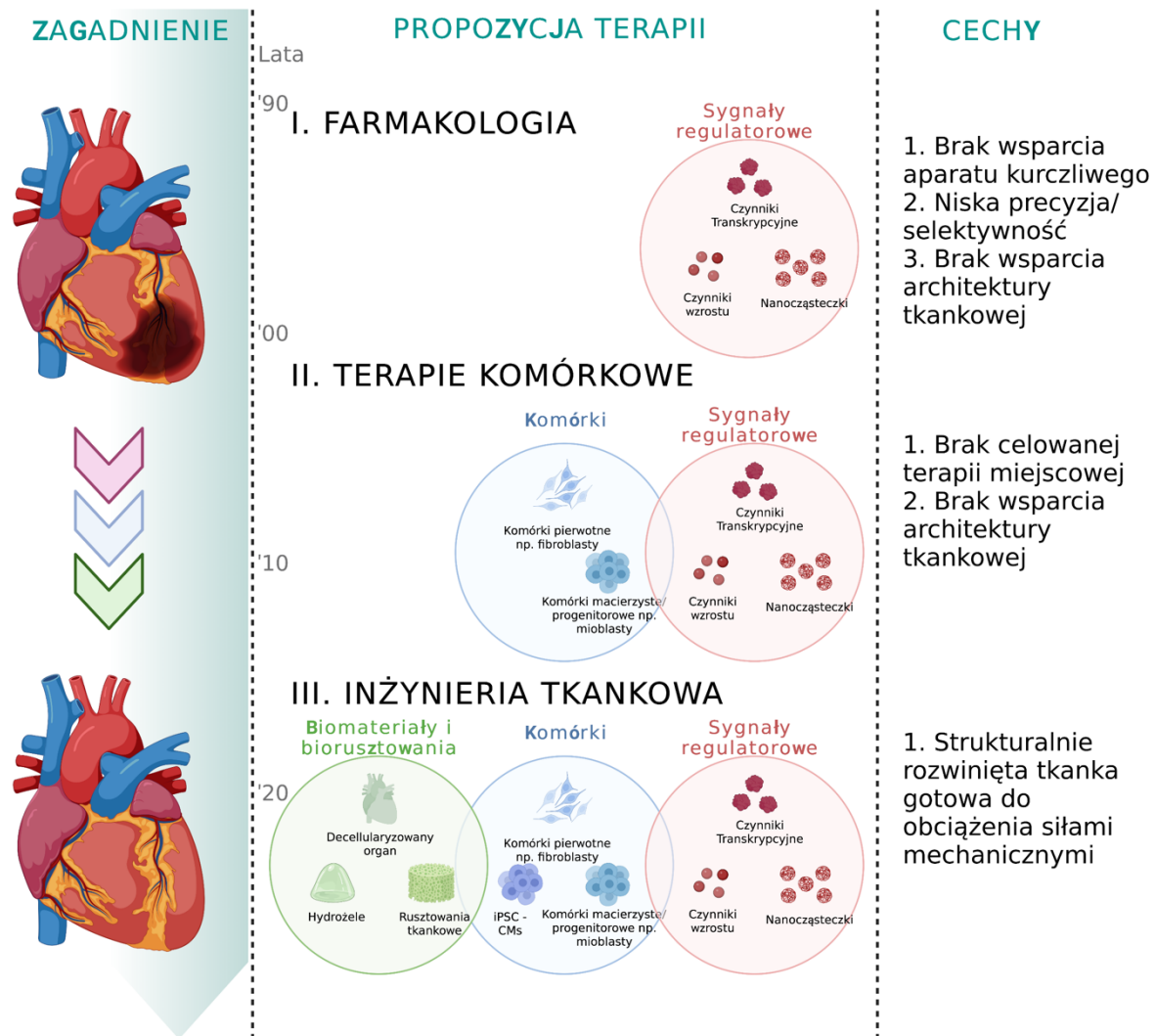
W pierwszej i drugiej dekadzie XXI wieku, wraz z odkryciem właściwości regeneracyjnych komórek progenitorowych i macierzystych nastąpił zdecydowany rozkwit badań klinicznych związanych z ich zastosowaniem. Założeniem badań było wykorzystanie elastyczności biologii komórek, zdolności do adaptacji oraz rozpoznawania miejsc uszkodzonych. Choć w niektórych przypadkach opracowano i wdrożono produkty terapeutyczne złożone z komórek macierzystych, w przypadku mięśnia sercowego nigdy nie udało się uzyskać odpowiednich efektów terapeutycznych. Pomijając fakt początkowego braku odpowiedniego rodzaju komórek (CMs), który od pewnego czasu nie jest już problemem, ze względu na stabilne źródło kardiomiocytów z komórek iPSCs, nie uwzględniono jednak podstawowej różnicy fizjologicznej pomiędzy mięśniem sercowym a innymi tkankami ludzkiego ciała – automatyzmu skurczu. Stałe, cykliczne siły ścierające i zmieniające się ciśnienie wewnątrz tanki działające na komórki po transplantacji w sercu, uniemożliwiały odpowiednią organizację podawanego materiału komórkowego (nawet po bezpośrednim podaniu domięśniowym). Z tego względu, po pewnym czasie, obserwowano jedynie szczątkową obecność komórek w sercu i brak ich odpowiedniego zorganizowania w tkance.

Wraz z rozwojem i zwiększoną dostępnością komórek iPS-CMs, które zapewniają teoretycznie niewyczerpywalne źródło kardiomiocytów dla każdego pacjenta, w ostatnich latach intensywnie rozwijane są modele tkankowe. Zapewniają one organizację strukturalną poprzez połączenie wszystkich poprzednio stosowanych komponentów w ramach zorganizowanej tkanki mięśniowej. Aktualnie modele te są stosowane przede wszystkim *in vitro* do modelowania chorób oraz oceny toksyczności i efektywności terapii niskocząsteczkowych, jednak pierwsze badania kliniczne prowadzone od 2021 m.in. w Niemczech (w Getyndze) zwiastują nadchodzącą, nową erę aplikacji. Podsumowanie podejść do odnowy tkanki serca przedstawione zostało na *Rycinie 2*.

Przedstawione poniżej chronologiczne zestawienie publikacji wchodzących w skład dzieła jest przykładem ewolucji podejścia i zmiany technologii wykorzystywanych do modelowania skutków choroby niedokrwiennej serca oraz próby klinicznej jej leczenia. Przedstawione dzieło jest przykładem

ciągłości opracowywania technologii prowadzącej do nowych standardów badań i podejść terapeutycznych.

Kierunki rozwoju terapii pozawałowego serca



Rycina 2. Przedstawienie zmiany podejść do terapii i modelowania chorób serca. Wraz z rozwojem technologii tworzone modele odznaczają się większą złożonością, a połączenie wszystkich czynników tworzących tkankę serca przy wykorzystaniu metodologii inżynierii tkankowej wydaje się aktualnie najbardziej obiecującą drogą.

4.3.2. Znaczenie i cel badań

Celem badań zebranych w ramach opisywanego dzieła habilitacyjnego jest rozwój nowych technologii opartych na terapiach komórkowych oraz modelach tkankowych prowadzących do poznania mechanizmów chorób oraz ostatecznego opracowywania terapii chorób serca.

Ekspertyza opracowana w ramach badań publikowanych w czasopismach międzynarodowych wchodzących w skład dzieła została zastosowana m.in. w badaniach klinicznych, do stworzenia modelu tkankowego serca z ludzkich kardiomiocytów (i fibroblastów) pochodzących od komórek o indukowanej pluripotencji, a także przyczyniła się do stworzenia grupy badawczej Zaawansowanych Modeli Tkankowych w ramach której, jako pierwsi w Polsce wprowadziliśmy modele makroskopowe serca (przykład makroskopowej tkanki *Engineered Heart Tissue* o średnicy ok 1,5 cm, wykonanej w ramach powstałego laboratorium : <https://www.youtube.com/watch?v=TnIh6bnzLEU>).

Znaczenie poszczególnych doniesień zostało przedstawione w ramach opisu w punkcie 4.3.3.

4.3.3. Omówienie wyników

[M1] Kolanowski TJ*, Rozwadowska N*, Malcher A, Szymczyk E, Kasprzak JD, Mietkiewski T, Kurpisz M. *In vitro and in vivo characteristics of connexin 43-modified human skeletal myoblasts as candidates for prospective stem cell therapy for the failing heart. Int J Cardiol.* 2014 Apr 15;173(1):55-64. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.02.009.*equal contribution [IF: 4.036; Pkt Min: 40 (wcześniejszy system punktacji)]; praca oryginalna

W ramach badań związanych z manuskryptem [M1] nasze zainteresowania dotyczyły przede wszystkim możliwości stworzenia jednego z pierwszych modeli klinicznych zmodyfikowanych genetycznie komórek (mioblastów) możliwych do podania pacjentom. Praca poświęcona jest charakterystyce populacji mioblastów mięśni szkieletowych, których modyfikacja funkcjonalna miała przybliżyć je pod względem fizjologicznym do komórek serca poprzez przejściową transfekcję i ekspresję białka - koneksyny 43 (Cnx43).

Podstawą podjęcia badań były wczesne próby terapii uszkodzonego mięśnia sercowego poprzez domięśniowe wstrzyknięcie mioblastów mięśni szkieletowych (jako druga na świecie dokonała tego grupa kierowana przez prof. Kurpisza, IGCz, Poznań – The POZNAN trial, Am Heart J, 2004 oraz Eur Heart J, 2005). W pierwszej fazie opracowywania terapii komórkowych (Figura 2, pkt II), mioblasty były uznawane za bardzo obiecującą subpopulację komórek, ze względu na podobieństwo pochodzenia oraz funkcji, a także fakt, iż jako jedyna subpopulacja oferowały one możliwość zwiększenia siły skurczu uszkodzonego fragmentu mięśnia sercowego. Jednakże, po pierwszych transplantacjach i prowadzonych obserwacjach zwrócono uwagę na pojawiające się zdecydowanie często arytmie komorowe u pacjentów poddanych zabiegowi. Z przeprowadzonych metaanaliz wynikało przekonanie, iż mimo, że komórki te dostarczają odpowiednich właściwości elastycznych do blizny pozawałowej oraz siły skurczowej, to jednak nie integrują one z resztą syncytium, co prowadziło do niekontrolowanych pobudzeń dodatkowych (tj. arytmii).

Z tego względu podjęto próby zwiększenia interakcji funkcjonalnej mioblastów z kardiomiocytami. Jednym z podstawowych mechanizmów tworzenia syncytium funkcjonalnego w sercu są sparowane ze sobą, zakotwiczone w błonach komórek sąsiadujących koneksyny - połączenia szczelinowe (kanały) zapewniające swobodny przepływ jonów i cząsteczek niskocząsteczkowych (<1 kDa), a co za tym idzie również bezzwłoczny przepływ sygnałów potencjału czynnościowego. Dzięki koneksonom, nawet odległe od siebie kardiomiocyty otrzymują sygnał do skurczu z bardzo niewielkim opóźnieniem, co w połączeniu z fizjologią potencjału czynnościowego (faza plateau związana z m.in. z I_{Ca} oraz I_K) zapewnia jednoczesny skurcz komory serca. Koneksyny są zbudowane z różnych izotypów białka – koneksyny. W lewej komorze serca najczęściej występującym typem koneksyny jest koneksyna 43.

Na etapie wykonywania badań i publikacji wyników istniały już doniesienia, iż silna nadekspresja koneksyny 43 w mioblastach prowadzi do zwiększonej integracji z kardiomiocytami i niwelacji opóźnień w przekazywaniu sygnału, co było główną przyczyną obserwowanych klinicznie pobudzeń dodatkowych. Na ówczesnym etapie wiedzy wektory wirusowe były wykorzystywane wciąż z dużą ostrożnością, a dodatkowo istniały obawy, iż trwała modyfikacja genetyczna polegająca na nadekspresji koneksyny może prowadzić do zmian fizjologicznych komórek i wpłynie na ich terminalne różnicowanie oraz podstawowe funkcje fizjologiczne (dużym obciążeniem aparatu ekspresji komórek mięśniowych jest utrzymanie funkcji i struktur kurczliwych). Z tego względu, zdecydowano się na wykorzystanie niewirusowych wektorów plazmidowych jako środka do przejściowej, nieintegrującej metody modyfikacji.

Podsumowując uzyskane wyniki, po pierwsze, optymalizacja transfekcji doprowadziła do wzrostu wydajności procesu do ok 70% komórek pozytywnych u których potwierdzono obecność RNA i białka koneksyny 43 (Fig. 1, 2 i 3 w [M1]). Jest to ważny element, gdyż populacje pierwotne często wykazują się opornością na procesy modyfikacji genetycznej, a liczba zmodyfikowanych komórek wpływa bezpośrednio na efekt modyfikacji i całej terapii. Interesujące wnioski można wysnuć na bazie wyników analiz wyników funkcjonalnych. W ramach pracy zdecydowano się wykorzystać tzw. *scrape-loading assay*, który wykorzystując monowarstwę komórek w hodowli, jednoznacznie określa zdolność komórek do transferu barwnika przez kolejne warstwy – a zatem funkcjonalność powstałych połączeń szczelinowych. W naszym przypadku obecność funkcjonalnych koneksonów zwiększyła odległość transportu barwnika ponad trzykrotnie, co jest statystycznie istotnym wynikiem (Fig. 4 w [M1]). Dodatkowo, modyfikowane mioblasty (MbCx), różnicowały intensywniej niż komórki niemodyfikowane (MbWt) co obserwowano zarówno na poziomie indeksu fuzyjnego komórek oraz intensywniejszej ekspresji genów – markerów różnicowania (np. MYOG czy MYH2; Fig. 6 i 7 w [M1]), zaś po indukcji apoptozy większa część populacji komórek modyfikowanych ulegała uszkodzeniom (apoptoza/nekroza) niż to miało miejsce dla MbWt (Fig. 5 w [M1]). Przeprowadzono również badania

na modelu mysim, w których wykazano, iż po podaniu MbCx efekt stabilizujący dla tkanki sercowej utrzymuje się znacząco dłużej, niż w przypadku MbWt, czy próby kontrolnej (sham), gdzie następowała stopniowa, postępująca deterioracja funkcji serca (Fig. 8 w [M1]).

Zwiększenie wydajności różnicowania oraz wrażliwości komórek MbCx na uszkodzenia są interpretowane poprzez pryzmat możliwości tworzenia bezpośrednich połączeń szczelinowych między komórkami, co zwiększa możliwości fuzji, a także przeżywalność sygnałów negatywnych, co najprawdopodobniej stoi również za zwiększoną podatnością kardiomiocytów tworzących syncytium na uszkodzenia i szybkie rozprzestrzenianie się sygnałów nekrotycznych w sercu po uszkodzeniu. Pozytywnym zaskoczeniem były również wyniki badań przedklinicznych w których efekt terapeutyczny utrzymywał się znacząco dłużej, co również zinterpretowano w aspekcie zwiększonego homingu i utrzymania komórek w miejscu docelowym (co samo w sobie stanowiło sukces prowadzonych badań).

Konkluzją artykułu jest możliwość wykorzystania opracowanej metody w badaniach klinicznych (co zostało wykonane i opublikowane - publikacja Gwizdała et al., *Eur J Heart Fail* 2017 Jan;19(1):148-157), jednak z perspektywy czasu, wydaje się, że główną wartością pracy była przede wszystkim zmiana sposobu prowadzenia badań, które miały w najbliższym czasie skupić się na elementach funkcjonalnych komórek w sercu i mechanizmów rządzących powstawaniem dojrzałej tkanki sercowej (co jest przedmiotem kolejnych publikacji zawartych w dziele habilitacyjnym).

[M2] Kolanowski TJ, Antos CL, Guan K. *Making human cardiomyocytes up to date: Derivation, maturation state and perspectives. Int J Cardiol.* 2017 Aug 15;241:379-386. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.03.099. [IF: 4.034; Pkt Min: 40 (wcześniejszy system punktacji)]; praca przeglądowa

Drugą omawianą publikacją jest praca przeglądowa dotycząca biologii oraz metod pozyskiwania kardiomiocytów. W 2017 roku w powszechnym użytku wykorzystywano już protokoły pozwalające na różnicowanie kardiomiocytów z ludzkich komórek o indukowanej pluripotencji (iPSCs). Pozwoliło to na znaczące przyspieszenie rozwoju dziedziny modelowania chorób serca oraz rozwoju modeli farmakologicznych (np. ocena toksyczności leków). Rozpowszechnienie tej technologii sprawiło, iż literatura naukowa opiewała w dużą liczbę artykułów dotyczących funkcji oraz aplikacji komórek. Niewiele jednak uwagi poświęcano stopniu dojrzałości kardiomiocytów, przez co często pojawiały się doniesienia prowadzące do odmiennych wniosków. Publikacja [M2] jest ona odpowiedzią na ewidentną potrzebę poddania dyskusji tematyki dojrzałości uzyskiwanych kardiomiocytów i zwrócenia uwagi na daleko idące konsekwencje fizjologiczne, a co za tym idzie

różnych odpowiedzi na stymulacje w zależności od stopnia dojrzałości komórek. O dużej potrzebie dyskusji w temacie świadczy fakt, iż w po opublikowaniu pracy przeglądowej należała ona do 96 percentyla najchętniej czytanych publikacji z dziedziny (Scopus, dane z 08.2021)

W ramach manuskryptu M2 omówiono: (1) dostępne metody pozyskiwania kardiomiocytów *de novo*; (2) problem dojrzewania komórek, a przede wszystkim różne grupy markerów dojrzewania kardiomiocytów – był to główny powód przedstawienia publikacji środowisku naukowemu, gdyż to te markery i ich wartości decydują o jakości modeli które poddawane są dalszej analizie. W ramach pracy przedstawiono również (3) metody do tej pory wykorzystywane do dojrzewania kardiomiocytów oraz (4) przedyskutowano elementy rozwoju technologii w przyszłości.

W pierwszej części zwrócono uwagę, iż pomimo znaczącej popularności metody pozyskiwania kardiomiocytów po uprzedniej indukcji pluripotencji i ustalenia linii iPSCs, różnicowanie CMs może mieć bardziej „bezpośredni” charakter (Fig. 1 w [M2]). Raportowano bowiem procesy mówiące o bezpośrednim trans-różnicowaniu komórek z fibroblastów sercowych (w szczególności *in vivo*), a także metody kombinowane, które (zgodnie z istniejącymi założeniami stochastycznymi - diagramy Waddingtona) w założeniu wykorzystują czynniki epigenetyczne do początkowego usunięcia wzorców heterochromatynowych, aby w późniejszym okresie zaindukować ekspresję markerów mezodermy, a następnie kardiomiocytów. Mimo, iż metody te, ze względu na mniejszą wydajność nie zyskały wielu zwolenników, są one kluczowe w procesie poznania mechanizmów kierujących wczesnym różnicowaniem ludzkich kardiomiocytów.

W głównej części manuskryptu przedstawiono markery świadczące o dojrzałości kardiomiocytów. Co ważne, markery te występują na różnym poziomie ekspresji oraz budowy komórki, stąd podzielono je na cztery grupy: (a) molekularne, (b) strukturalne, (c) metaboliczne oraz (d) fizjologiczne (Fig.2 w [M2]). Różnią się one nie tylko swoim charakterem, ale również złożonością, a przez to wpływem na ostateczny stopień odwzorowania dojrzałości kardiomiocytów *in vivo*. Te elementy mogą składać się z pomniejszych markerów np. obecność sarkomerów jest poprzedzona ekspresją białek (oraz RNA) strukturalnego aktyn, miozyn itp.), stąd wzajemna zależność. Wśród cech molekularnych wyróżnia się np. ekspresję genów takich jak *Hand2*, *Nkx2.5*, *Mlc2v*, czynnik transkrypcyjny *Hey1* czy stosunek ekspresji *Myh6/Myh7* a także zmiany epigenetyczne w jądrze komórkowym. Zmiany molekularne, wpływają na powstawanie białek, które organizowane są w nowe struktury, takie jak wspomniane wcześniej sarkomery (o odpowiedniej długości ok. 2,2 μm), kanały T będące elementami błon komórkowych oraz struktury diad – zbliżenia błony siateczki śródplazmatycznej (SR) i sarkolemy mające na celu zminimalizowanie czasu reakcji uwalniania jonów wapnia po przejściu potencjału czynnościowego w pobliżu błony SR. W tej grupie zalicza się również obserwowane zwiększenie liczby mitochondriów czy powstawanie połączeń szczelinowych poprzez organizację w błonie koneksonów (powstałych m.in. z wcześniej omawianej koneksyny 43).

Odpowiednie ułożenie oraz nasycenie elementami strukturalnymi często powiązane jest z obserwowanych zwiększeniem możliwości metabolicznych kardiomiocytów. W tym przypadku zwiększona zostaje pojemność oddechowa (ang. maximal respiratory capacity), która zależy m.in. od funkcji łańcuchów oddechowych w mitochondriach. Zwiększenie pojemności energetycznej powoduje też bardziej oksydacyjny charakter wnętrza komórki *per se*. Wreszcie odpowiednie cechy fizjologiczne, charakterystyczne jedynie dla kardiomiocytów stanowią 4-tą grupę markerów cechującą się największą złożonością. Do tych czynników możemy zaliczyć przewodnictwo potencjału czynnościowego, regulacja stężenia (oraz sama wartość stężenia) jonów wapnia w SR oraz sakroplazmie, czy sposób występowania akcji skurczowej wraz z siłą generowaną przez dany kardiomiocyt. Każda z tych cech jest wypadkową wielu cech o niższym stopniu złożoności i wymaga odpowiedniego ułożenia oraz synchronizacji działania odpowiednich struktur. Z tego względu cechy fizjologiczne są najbardziej wartościowym indykátorem dojrzewania kardiomiocytów.

Aby przyspieszyć dojrzewanie kardiomiocytów testowano wiele ścieżek sygnałowych (Fig.2B i Tab.1 w [M2]). Jednym z elementów była stymulacja biochemiczna przez dostarczanie cząsteczek sygnałowych takich jak np. IGF, FGF itp. Inna grupa to czynniki fizyczne dostarczane celem ukierunkowania rozwoju struktur (np. ułożenie podłoża, obciążenie fizyczne czy stymulacja elektryczna). Niestety żadna z tych metod nie była wystarczająca do osiągnięcia odpowiedniego efektu. Aktualnie istnieje przekonanie, iż jedynie połączenie tych wszystkich metod wraz z substratem hodowli o odpowiedniej elastyczności (podobnym do matrycy zewnątrzkomórkowej tkanki serca) ma szansę doprowadzić do odpowiedniego dojrzewania CMs. Z tego względu powstało wiele zaawansowanych modeli tkankowych, które mają na celu jak najlepsze odwzorowanie warunków panujących w tkance mięśnia sercowego, celem dojrzewania kardiomiocytów – modele te są pokrótce opisane w ramach publikacji. Rozbudowaną dyskusję na temat zaawansowanych modeli tkankowych w inżynierii tkankowej serca przedstawia manuskrypt [M5].

W ramach manuskryptu [M2] autorzy dyskutują oraz przedstawiają swoją wizję najbardziej naglających potrzeb oraz cech/markerów dojrzałości kardiomiocytów na które należy zwrócić uwagę, a które do tej pory były zaniedbywane. Wśród tych elementów wyróżnić można ocenę systemu transportu i buforowania transportu nośników energii. Bezpośrednim nośnikiem energii dla większości czynności odbywających się podczas funkcji fizjologicznej kardiomiocytów jest ATP, jednak jego ilość w komórce jest znikoma w porównaniu z czynnikami buforującymi np. kreatyną, która przenosi energię (w postaci wysokoenergetycznego wiązania fosforanowego) między mitochondriami, a miejscami jej zużycia, gdzie, dzięki obecności kinaz kreatynowych jest ona zamieniana na wiązania w systemie ATP/ADP. Ponadto, wcześniej omawiany rozwój struktur siateczki śródplazmatycznej (Kanaliki T, diady) jest kluczowy dla odpowiedniej synchronizacji skurczu – badania w tym zakresie nie są jednak powszechnie stosowane. Kolejnym elementem, jest zmiana spontanicznych skurczów, jakie wykazują

niedojrzałe kardiomiocyty, na akcje skurczową indukowaną. Jedynie dojrzały CM jest w stanie utrzymać odpowiednie napięcie spoczynkowe, bez dodatkowych „przecieków” (ang. leakage) błony oraz potencjałów świadczących o niedojrzałości jego regulacji. Wreszcie, autorzy zwracają uwagę na rozwój zaawansowanych modeli tkankowych, konieczności połączenia odpowiednich stymulatorów, odpowiednią organizację interakcji wielu typów komórek (w tym fibroblastów), którą można osiągnąć stosując m.in. metody mikro biodruku, a także potrzebę rozwoju systemów nieinwazyjnej analizy funkcji mikrotkanek sercowych – w tym systemów bazujących na analizie obrazów video.

Podsumowując, mimo możliwości pozyskiwania nieograniczonej liczby ludzkich kardiomiocytów, ich fenotyp jest wciąż daleki od dojrzałych komórek obecnych w tkance sercowej. Aby określić odpowiedni fenotyp potrzebny jest szereg kluczowych parametrów, szczególnie takich, które jasno przedstawiają fizjologię kardiomiocytów (np. potencjał czynnościowy czy parametry trwania skurczu komórki). Do tej pory nie udało się osiągnąć pełnego sukcesu w dojrzewaniu kardiomiocytów, jednak wydaje się, że droga do tego celu tkwi poprzez odpowiednią kontrolę interakcji między różnymi typami komórek, kontrolę środowiska hodowli oraz stymulację biochemiczną i fizyczną. Te wszystkie elementy zapewnić mogą zaawansowane modele tkankowe, które są aktualnie w okresie intensywnego rozwoju.

[M3] Kolanowski TJ*, Busek M*, Schubert M*, Dmitrieva A, Binnewerg B, Pöche J, Fisher K, Schmieder F, Grünzner S, Hansen S, Richter A, El-Armouche A, Sonntag F, Guan K. *Enhanced structural maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes under a controlled microenvironment in a microfluidic system. Acta Biomater.* 2020 Jan 15;102:273-286. doi: 10.1016/j.actbio.2019.11.044. *equal contribution [IF: 8.947; Pkt Min: 140] ; praca oryginalna

Trzecim elementem dzieła jest publikacja oryginalna, która przedstawia zaawansowany model tkanki serca – autorski system typu heart-on-chip. Jest ona wypadkową zdefiniowanych w M2 potrzeb i próbą udowodnienia tezy o znaczącej roli kontrolowanego środowiska w dojrzewaniu kardiomiocytów. Choć wcześniej istniały systemy tego typu, to zaproponowany (i opublikowany z prestiżowym czasopiśmie) system mikroprzepływów udowadnia, że podstawowe markery ekspresji, struktury oraz funkcjonalne ulegają zmianom wraz ze strukturą organizacji hodowli prowadzonej w komorze systemu.

Pomysł stworzenia systemu opartego na wielowarstwowej konstrukcji z oddzieloną półprzepuszczalną membraną częścią fluidyczną oraz pneumatyczną (Fig. 1 w [M3]), powstał oryginalnie w laboratorium Instytutu Fraunhofera, który był odpowiedzialny w tej pracy za projekt oraz techniczne dostosowanie systemu w zależności od potrzeb optymalizacji hodowli komórek. Habilitant odpowiedzialny był za optymalizację hodowli i różnicowania komórek, opracowanie protokołów

hodowli, adhezji oraz analizy przyżyciowej, a także analizę obrazową oraz markerów dojrzałości. Opracowany przez nas system pozwala na kontrolowaną hodowlę poprzez wymuszenie mikroprzepływu w komorze hodowlanej medium świeżego lub w trakcie jego recyrkulacji – również po szeregowym połączeniu kilku chipów (np. do badań stymulacji parakrynowej). Pozwala on również na automatyczne zmiany medium hodowlanego. Dzięki obecności wbudowanego w każdy chip modułu kontroli tlenowej, istnieje możliwość hodowli w zamkniętej atmosferze o kontrolowanym środowisku tlenowym (ew. hipoksja). Każdy chip jest montowany do metalowego uchwytu, który dzięki zgodności ze standardami hodowlanymi umożliwia zamontowanie i przyżyciowe obrazowanie komórek przy użyciu dowolnego mikroskopu.

W ramach badań przeprowadzono szereg analiz. Po pierwsze, ewaluacja sił ścinających działających na hodowane komórki wykazała, że dzięki odpowiedniemu zaprojektowaniu systemu i komory hodowlanej siły ścinające są niewielkie i nie działają one znacząco [Fig. 2 w [M3]]. Testy wykazały również, że kształt komory hodowlanej nie miał znaczenia dla zmian fizjologii skurczu, jednak zastosowanie nawet okresowego, przerywanego przepływu miało znaczący wpływ na akcję skurczową oraz szybkość skurczu komórek (Fig. 3 w [M3]). Co więcej, komórki pod wpływem zastosowanego przepływu wykazywały silną samoorganizację i synchronizację skurczów. Jednocześnie kardiomiocyty hodowane w warunkach mikroprzepływu wykazywały znaczące zwiększenie rozmiarów oraz przyjmowały kształt wrzecionowaty, charakterystyczny dla dojrzałych komórek (Fig. 4 w [M3]). Przeprowadzono również badanie sieci mitochondriów w CMs hodowanych w mikroprzepływie oraz w warunkach kontrolnych. Komórki w systemie heart-on-chip wykazywały zwiększoną liczbę mitochondriów oraz znacząco większe ich usieciowanie, co potwierdzone było zmianami ekspresji białek odpowiedzialnych za podział i fuzję mitochondriów (Fig. 5 w [M3]). Mimo, iż warunki mikroprzepływu powodowały zwiększoną ekspresję czynników transkrypcyjnych charakterystycznych dla obu subtypów kardiomiocytów (atrialnych i wentrykulanych), nie wykazano statystycznie istotnej zmiany w kierunku jednego z subtypów (Fig. 6 w [M3]).

System został zaprojektowany w sposób umożliwiający analizę wpływu leków na kardiomiocyty w dowolnych warunkach tlenowych z dużą przepustowością. Jego modułowa budowa zapewnia również wystandaryzowaną kontrolę stężenia tlenu. Ponadto, dzięki precyzyjnej regulacji tlenu, istnieje możliwość nie tylko wywołania i utrzymania warunków hipoksji (obecnych np. podczas zawału), ale również stanów pośrednich, kluczowych w warunkach zwiększonego wysiłku i wczesnych stanów patologicznych. Co interesujące, za pomocą systemu udało się uzyskać nie tylko indukcję ekspresji markerów hipoksji (HIF1A, EGLN2), lecz również kompensacyjny efekt fizjologiczny (zwiększona, kompensacyjna akcja skurczowa przy obniżającej się szybkości/sile skurczu; Fig. 7 w [M3]).

Podsumowując, w ramach publikacji [M3] stworzono system który pozwala na dojrzewanie ludzkich kardiomiocytów pozyskiwanych de novo, poprzez zastosowanie stymulacji z odpowiednią siłą

przepływu (oraz czynnikami biochemicznymi, które były wykorzystywane w ramach hodowli, jednak nie były przedmiotem badań). Wydaje się, że przepływ medium, poprzez zastosowaną architekturę komory hodowlanej, pozwala na oddziaływanie sił hemodynamicznych, naśladując przy tym warunki panujące na wczesnych etapach organogenezy serca – formowaniu cewy sercowej (Fig 8. w [M3]). Teoria ta jest zbieżna z obserwacjami, iż uzyskiwane kardiomiocyty, choć dużo bardziej dojrzałe niż w przypadku standardowej hodowli, wciąż nie odzwierciedlają wszystkich cech elektrofizjologicznych serca dorosłego człowieka. Tym niemniej opracowany system, również dzięki unikatowej możliwości kontroli stężenia tlenu, z powodzeniem może zostać zastosowany do badań funkcji leków oraz ich toksyczności w wysokoprzepustowych badaniach leków. Tym samym spełnia on założenia rozwojowe europejskiej i amerykańskiej agencji leków (EMA oraz FDA) w zakresie opracowywania nowych, ludzkich modeli do badań przedklinicznych. Niemniej istotnym, choć niedyskutowanym powyżej osiągnięciem publikacji jest stworzenie systemu wspomaganej analizy obrazu pozwalającego na przyżyciową ocenę siły, kierunku oraz szybkości skurczu kardiomiocytów. Jest on niezbędnym elementem uzupełniającym system, przydatnym szczególnie w ramach analiz w dużej przepustowości.

[M4] Kolanowski TJ*, Wargocka-Matuszewska W*, Zimna A, Cheda L, Zyprych-Walczak J, Rugowska A, Drabik M, Fiedorowicz M, Krajewski S, Steczek Ł, Kozanecki C, Rogulski Z, Rozwadowska N, Kurpisz M. *Multiparametric Evaluation of Post-MI Small Animal Models Using Metabolic ($[^{18}\text{F}]\text{FDG}$) and Perfusion-Based (SYN1) Heart Viability Tracers. Int J Mol Sci.* 2021 Nov 22;22(22):12591. doi: 10.3390/ijms222212591. *equal contribution [IF: 5.923; Pkt Min: 140] ; praca oryginalna

W ramach publikacji [M4], skupiliśmy się na makroskopowych elementach oceny żywotności i funkcjonalności serca in vivo. W przeciwieństwie do pozostałych manuskryptów zawartych w dziele habilitacyjnym, w tym przypadku prezentowane jest podejście nakierowane na zdecydowanie na potrzeby kliniczne w aspekcie uszkodzeń tkanki sercowej. W niniejszej publikacji opracowano i skorelowano z istniejącymi metodami oceny żywotności mięśnia sercowego znacznik na bazie izotopów fluoru, wyznaczający perfuzję mięśnia. Badanie znaczników żywotności mięśnia, pomijając ich oczywiste zastosowanie w aktualnej diagnostyce uszkodzeń serca (co było głównym celem pracy), jest też kluczowe w aspekcie rozwoju terapii uszkodzeń serca. Zdefiniowanie miejsc uszkodzeń będzie w przyszłości niezbędne do przygotowania odpowiednich tkanek zastępczych, zaś znaczniki perfuzyjne mogą posłużyć do oceny adaptacji przeszczepionych tkanek (ang. *patch*). Ze względu na zbyt małe rozmiary istniejących modeli tkankowych oraz brak pełnego odwzorowania krążenia, badania wykonaliśmy przy użyciu klasycznego modelu mysiego, wraz z mikrochirurgiczną indukcją zawału serca przez podwiązanie lewej tętnicy wieńcowej zstępującej (eksperymenty wykonane m.in. przez habilitanta).

Rozwój znacznika perfuzyjnego na bazie izotopu fluoru idzie w parze z najnowszymi trendami obrazowania w kardiologii. Izotopy fluoru [^{18}F] są coraz powszechniej wykorzystywane, nie tylko ze względu na dobrą jakość sygnału, ale również na okres ich półtrwania (ok. 110min) oraz łatwość przygotowania. Izotopy wykorzystywane są jako kontrast w technice pozytonowej tomografii emisyjnej z tomografia komputerową (PET/CT). Alternatywną techniką obrazowania jest rezonans magnetyczny (MRI), jednak szybkość wykonania badania PET/CT (ok. 100x szybsza od MRI) sprawiają, że ma ona dużo większą przepustowość i jest preferowana przez pacjentów („pojedynczy wdech”). Wśród szeroko stosowanych znaczników opartych na fluorze jest [^{18}F]-FDG (2- ^{18}F fluoro-2-dezoksylukoza), który jest znacznikiem typu metabolicznego – znakującego obszary o dużej aktywności metabolicznej. Poza stwierdzeniem intensywności aktywności metabolicznej, klinicznie cenne są również informacje o przepływie krwi w danym obszarze, gdyż jest to czynnik predykcyjny dalszego obumierania kardiomiocytów w danym fragmencie tkanki. Niestety do tej pory nie istniały dopuszczone klinicznie (choć trwają testy kilku związków) znaczniki perfuzyjne oparte na fluorze, które byłyby komplementarne do [^{18}F]-FDG i mogłyby uzupełnić brakujące informacje. Problemem zdaje się również brak korelacji zmian fizjologicznych (obserwowanych dzięki MRI oraz znacznikom izotopowym) ze zmianami molekularnymi, co utrudnia interpretację wyników pod względem biologicznym.

Z tego względu w przedstawianym manuskrypcie skupiliśmy się na (a) korelacji sygnałów z SYN1-PET/CT do dwóch „złotych standardów” - [^{18}F]-FDG-PET/CT oraz MRI w mysich sercach (zdrowe vs po indukcji zawału); (b) profilowaniu ekspresji tkanek i ich korelacji ze zmianami intensywności sygnałów i parametrów technik obrazowych w obu grupach. Dodatkowo (c) przeprowadziliśmy wstępne badania biodystrybucji SYN1 w kluczowych organach, badając możliwość jego zastosowania klinicznego.

Porównanie globalnej intensywności sygnału w serca w grupie kontrolnej (Ctrl) oraz po zawale (MI) nie wykazało istnienia statystycznie istotnych różnic (Fig 1A, w manuskrypcie [M4]), dla żadnego z badanych znaczników. Wnioskowano, iż intensywność sygnału zdrowej tkanki jest na tyle duża, a przebudowa serca po zawale (m.in. kompensacyjny wzrost całkowitej objętości tkanki) na tyle istotna, iż niweluje różnice wynikające z obszarowych jedynie, pozawałowych uszkodzeń tkanki. Z tego względu zdecydowaliśmy się przeprowadzić analizy poprzez cyfrowy podział lewej komory serca na 5 równych segmentów (1 – koniuszek; 5 – podstawa serca). Dodatkowo, uszkodzenia serca różnią się znacząco rozmiarami i oceniane są m.in. poprzez zmianę wielkości frakcji wyrzutowej lewej komory (ang. Ejection Fraction, EF). Z tego względu, przystępując do analizy wyników podzielono osobniki na 4 podgrupy (Ctrl, Small MI - EF>35%; Medium MI - 7%<EF<35%; Large MI - EF<7%). Nasze obserwacje potwierdziły zmiany metaboliczne ([^{18}F]-FDG) oraz perfuzji (SYN1) w najbardziej dotkniętych uszkodzeniem przy koniuszkowych fragmentach tkanki w grupach Medium MI i Large MI (Fig. 1 w

manuskrypcie [M4]). Wykazano również bardzo dobrą korelację sygnałów między znacznikami (szczegóły w manuskrypcie [M4]).

Równocześnie przeprowadzono analizę RNAseq na tkankach serca (Ctrl i MI). Wśród genów o potwierdzonych zmianach ekspresji można było wyróżnić *Serpin1c*, *Nupr1*, *Trem1*, *Tnc* (podwyższenie ekspresji po zawale) oraz *Aldob* (obniżenie ekspresji w tkankach pozawałowych; Fig. 2 w [M4]). Następnie przeprowadzono korelację ekspresji poszczególnych genów dla danych tkanek z siłą sygnału dla SYN1, [¹⁸F]-FDG oraz parametrów pochodzących z MRI (LVEF, LVEDV czy masa LV, Fig. 3 w [M4]). Wykazano istnienie korelacji między ekspresją wybranych genów, a zmianami frakcji wyrzutowej lewej komory obserwowanych w MRI (LVEF). Analizy z wykorzystaniem znaczników PET/CT wykazały podobne trendy jednak przy mniejszej czułości - dla [¹⁸F]-FDG nie zaobserwowano istotności statystycznej dla genu *Trem2*, zaś dla markera perfuzyjnego SYN1 istotność była obserwowana jedynie dla *Trem2* oraz *Aldob*. Oba geny są interesującymi potencjalnymi markerami zmian w pozawałowym sercu (szczegóły w dyskusji w [M4]). Obserwacje korelacji ze zmianami ekspresji, potwierdziły również różnice mechanizmów stojących za sposobem oceny makroskopowej uszkodzeń przez MRI, [¹⁸F]-FDG i SYN1. Być może, w przyszłości, będzie istniała możliwość wnioskowania na temat zmian molekularnych związanych z intensywnością znakowania danym znacznikiem. SYN1 wykazywał też odpowiednią biodystrybucję z silnym sygnałem dla nerek (wydalanie) oraz serca (Fig. 4 w [M4]). Podstawowym ograniczeniem przeprowadzonych badań jest jednak wykorzystywany model. Wielkość grupy oraz rozmiary tkanki (a co za tym idzie rozdzielczość uzyskiwanych sygnałów) są podstawowymi parametrami, które powinny zostać uzupełnione/poprawione w przyszłych badaniach. Również brak bezpośredniej angiografii jest słabą stroną przeprowadzonych badań. Rozwiązaniem byłoby wykorzystanie dużego modelu zwierzęcego (świnia, pies), który pozwalałby na lepsze rozstrzygnięcie specyficzności sygnału. W przyszłości alternatywą powinny zostać jednak odpowiedniej wielkości modele ludzkiego serca de novo, które wykluczałyby ograniczenia międzygatunkowe.

Podsumowując, opracowany przez autorów znacznik perfuzyjny oparty na fluorze [¹⁸F] - SYN1, wykazuje się dobrą specyficznością zaniku sygnału w uszkodzonej tkance serca. Koreluje on dobrze ze znacznikami metabolicznymi oraz MRI, choć ewentualne różnice mogą wynikać z innego mechanizmu działania (oraz podłoża molekularnego). Biodystrybucja znacznika jest prawidłowa, stąd wydaje się, że SYN1 jest bardzo obiecującym kandydatem do przeprowadzenia dalszych badań klinicznych, celem wprowadzenia na rynek medyczny, szczególnie w niszy szybkiej diagnostyki perfuzji mięśnia sercowego. Może być również wykorzystany w przyszłości do opracowywania strategii transplantacji oraz rozwoju in vitro tkanek i fragmentów serca człowieka.

[M5] Kałużna E, Nadel A, Zimna A, Rozwadowska N, **Kolanowski T.** *Modeling the human heart ex vivo-current possibilities and strive for future applications. J Tissue Eng Regen Med.* 2022 Jun 24. doi: 10.1002/term.3335. Epub ahead of print. [IF₂₀₂₁: **4.323**; **Pkt Min: 140**] ; praca przeglądowa

Ostatnią z publikacji będących elementem dzieła jest [M5] - Modeling the human heart ex vivo-current possibilities and strive for future applications. W poprzednich manuskryptach wykazano konieczność zgłębienia mechanizmów regulujących fizjologię serca, opisano najważniejsze elementy i kierunki rozwoju technologii, opracowano nowy model dojrzewania, pozwalający również na wysokoprzeprustowy screening leków i substancji aktywnych oraz opracowano narzędzie diagnostyczne do śledzenia poprawności działania tkanki serca. W aktualnej pracy, przedstawiamy natomiast z perspektywy kilkuletnich doświadczeń z pracy z modelami, porównanie różnych typów modeli serca wraz z propozycją organizacji ich zastosowania w zależności od potrzeb naukowych i klinicznych. Publikacja ta jest napisana dla potrzeb naukowców rozpoczynających badania w temacie, stąd jest próbą podsumowania, a nie wyczerpującą dyskusją na poruszane tematy.

Zgodnie z wcześniejszą dyskusją ([M2]), potrzeba organizacji odpowiednich czynników dojrzewania dla kardiomiocytów spowodowała szybki rozwój zaawansowanych modeli tkankowych serca. Oprócz omawianych wcześniej elementów stymulacji dojrzewania (m.in. biochemicznych i fizycznych), należy zwrócić uwagę na kluczową kwestię obecności innych typów komórek. Serce jako organ składa się z kilkunastu typów komórek, z głównymi populacjami takimi jak komorowe i przedsionkowe kardiomiocyty, fibroblasty, komórki śródbłonna, komórki mięśni gładkich i inne. Ich interakcja jest kluczowa dla powstania odpowiednio dojrzałych struktur tkankowych, stąd idealny model powinien uwzględniać zorganizowaną obecność wielu typów komórek.

Wśród aktualnie rozwijanych modeli tkanki serca można wyróżnić m.in. organoidy, MTFs (ang. *muscular thin films*), mono/wielo-warstwy tkankowe (ang. *cell sheets*), systemy *heart-on-chip*, zaawansowane makro-tkanki (ang. Engineered Heart Tissues, EHT), czy de-/recellularyzowane rusztowania sercowe (ang. *recellularized heart*). Modele te różnią się znacząco podstawowymi cechami, zaawansowaniem oraz zastosowaniem (Tab.1 i 2 oraz Fig 1. w [M5]). Świadomość różnic między modelami jest kluczowa w aspekcie późniejszych dyskusji naukowych nad rezultatami badań, które mogą doprowadzać do innych wniosków, w zależności od użytego modelu (i dojrzałości tkanki). Istnieją bowiem modele o bardzo podstawowych cechach i małym zaawansowaniu (jak np. organoidy), które jednak świetnie nadają się do skalowania (np. hodowle w płytkach 96 i 284-dołkowych), co jest konieczne z punktu widzenia podstawowego screeningu kardiotoxyczności cząsteczek aktywnych. Modele oparte na MTF – czyli cienkich filmach mięśniowych, są skonstruowane z myślą o podstawowym screeningu funkcjonalnym, w którym zmiana siły skurczu kardiomiocytów będzie mogła grupować przeszukiwaną bibliotekę związków pod względem efektu inotropowego. Monowarstwy

tkankowe (ang. *cell sheets*), z uwagi na możliwość połączenia warstw to pomysł szeroko rozwijany w aspekcie przygotowywania „łatek” tkankowych (ang. *tissue patch*). Dzięki stworzeniu wielowarstwowej struktury istnieje możliwość jej transplantacji i chirurgicznego zszycia z uszkodzoną blizną pozawałową. Istotnym problemem jest tu jednak integracja struktury z tkanką serca oraz brak odwzorowania układu naczyń i włókien tkankowych w przeszczepianej tkance, co może rodzić problemy z arytmiami i dysfunkcją „łatki”. Odpowiedzią na problemy z integracją są podejścia holistyczne polegające na pozbyciu się „starej” warstwy funkcjonalnej komórek z organów pobieranych po śmierci (decellularyzacja) i zasiedlanie (recellularyzacja) tych struktur nowymi kardiomiocytami pacjenta oraz innymi komórkami w celu stworzenia serca in vitro. Do tej pory udało się stworzyć tego typu strukturę jedynie z serca myszy (mniejszy rozmiar), które wykazywało jedynie 1-2% aktywności pierwotnej tkanki. Problemem w tym wypadku zdają się być zbyt daleko idące generalizacje m.in. typów komórek, gdyż serce składa się z bardzo różnorodnych subtypów komórek, w tym kardiomiocytów. Co więcej, komórki w sercu są bardzo specyficznie ustrukturyzowane w ramach zorganizowanych włókien mięśniowych wzmacnianych monowarstwami fibroblastów, odżywianych poprzez sieć naczyń wieńcowych i włosowatych. Rozpatrując tego typu modele, należy brać pod uwagę również ograniczoną liczbę ludzkich scaffoldów oraz ich potencjalny patologiczny remodelling, który uniemożliwi późniejsze stworzenie prawidłowej tkanki. Kolejnym z modeli są systemy typu „heart-on-chip” (jeden z nich został opracowany w ramach dzieła – [M3]), skupiające się na ścisłej kontroli środowiska zewnętrznego, zapewniające przepływ adekwatny do obecnego w organizmie. Są one skonstruowane przede wszystkim w celu screeningów późniejszej fazy, gdy oprócz przepustowości systemu (jeden kontroler może nadzorować wiele chipów), ważny jest już efekt fizjologiczny, który pozwala na wybór bardziej obiecującej cząsteczki. Systemy te wykorzystywane są też do badania zjawisk podstawowych takich jak np. hipoksja. Ostatnim z typów modeli wyróżnionych w pracy są zaawansowane makro-tkanki (ang. *Engineered Heart Tissue*, EHT). Modele te łączą w sobie zarówno elementy matrycy zewnątrzkomórkowej (ECM), jak i różne typy komórek (kardiomiocyty, fibroblasty, komórki śródbłonna) i osiągają rozmiary makroskopowe (kilku centymetrów). Modele te poddawane są treningowi mechanicznemu i elektrycznemu, dzięki czemu osiągają wysoki stopień zaawansowania tkankowego. Istnieją modele EHT, których siła skurczu w przeliczeniu na jednostkę powierzchni jest podobna do siły skurczu serca dorosłego człowieka, a ponadto odtwarzają one bardzo zaawansowane mechanizmy makrofizjologiczne (np. mechanizm odpowiedzi na obciążenie Franka-Starlinga, czy odpowiedzi na wapń, lub zależności siły skurczu od tempa skurczów). Niewątpliwie jest to jeden z najbardziej zaawansowanych modeli tkankowych, jakie do tej pory stworzono. Również nasza grupa Zaawansowanych Modeli Tkankowych od kilku już lat rozwija model EHT, który dodatkowo oprócz odtworzenia specyficzności subtypów tkankowych (tkanka wentrykularna i atrialna), pozwala na

śledzenie interakcji między fibroblastami sercowymi, a kardiomiocytami. Podsumowanie wszystkich modeli można znaleźć w ramach Fig. 1 i 2 w [M5].

W przyszłości wydaje się, że ze względu na różnorodność potrzeb, utrwali się w użyciu co najmniej kilka typów zaawansowanych modeli tkankowych serca, służąc zarówno do badań przesiewowych, funkcjonalnych, badań patologii czy badań podstawowych mechanizmów rozwoju serca człowieka. Jednocześnie, przy wykorzystaniu technik takich jak biodruk, klarować się będą coraz bardziej odważne modele makroskopowe, które w przyszłości posłużą do odtworzenia serca in vitro.

4.3.4. Podsumowanie dzieła

Dzieło „Opracowanie modeli oraz próby terapii chorób serca z zastosowaniem biologii komórkowej oraz inżynierii tkankowej z wykorzystaniem ludzkich komórek macierzystych oraz modeli zwierzęcych” składa się z pięciu połączonych tematycznie i wynikających z siebie publikacji, które ilustrują rozwój technologiczny mechanistycznych podejść do odtworzenia uszkodzonego mięśnia sercowego. W ramach dzieła:

1. Opracowano propozycję terapii zmodyfikowanymi genetycznie (Cx43) komórkami mięśni poprzecznie prążkowanych, która następnie doczekała się realizacji w badaniach klinicznych [M1].
2. Zdefiniowano główne możliwości pozyskiwania i podstawowe cechy świadczące o dojrzewaniu kardiomiocytów. Zwrócono uwagę na brak możliwości porównywania efektów fizjologicznych CMs na różnym etapie rozwoju [M2].
3. Opracowano system „heart-on-chip” i jego zastosowanie w hodowli bardziej dojrzałych kardiomiocytów oraz badaniach patofizjologii komórek serca [M3].
4. Wykorzystując modele przedkliniczne, opracowano znacznik perfuzyjny do zastosowania klinicznego w ramach techniki PET/CT, który oprócz diagnostyki bieżącej może zostać wykorzystany do ewaluacji integracji przyszłych konstruktów tkankowych serca [M4].
5. Zdefiniowano istniejące modele tkankowe oraz podsumowano ich wykorzystanie, łącznie z modelami istniejącymi w ramach grupy Zaawansowanych Modeli Tkankowych [M5].

Prezentowane powyżej publikacje, powstawały w ramach prac badawczych różnych laboratoriów i grup badawczych, jednak stanowią jasny, powiązany tematycznie cykl publikacji których celem było wieloczynnikowy rozwój technologii prowadzących do skutecznej terapii uszkodzeń mięśnia sercowego przy wykorzystaniu inżynierii tkankowej.

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

5.1. Zainteresowania badawcze

Tematyka aktualnie prowadzonych przeze mnie badań naukowych skupia się wokół modelowania rozwoju organów człowieka *ex vivo*. Uwzględnia ona zarówno modele komórkowe pozyskiwane z komórek pluripotencjalnych (iPSC), mikrosystemy przepływowe do kontrolowanego dojrzewania tychże, jak i makroskopowe modele tkankowe, które jako jedyne do tej pory na świecie odwzorowują skomplikowane mechanizmy fizjologiczne dojrzalego serca (modele typu *Engineered Heart Tissue*, EHT; w tym m.in. Franka-Starlinga, odpowiedź na stymulacją Ca^{2+} czy β -adrenergiczną).

Aktualnie zajmujemy się rozwojem modelu EHT w którym wykorzystujemy ludzkie fibroblasty sercowe pozyskiwane z komórek i przedsionków do wykazania ich wpływu na terminalną dyferencjację kardiomiocytów (w ramach projektu autorskiego FIBROdrive). Przy aktualnie istniejącej wiedzy, będzie to najbardziej zaawansowany model tkankowy, jednocześnie potwierdzający przełomowe odkrycie o daleko idącym wpływie fibroblastów na różnicowanie serca. Grupa planuje publikację kolejnej pracy przeglądowej w tym roku, tym razem próbując zwrócić uwagę społeczności naukowej na mechanizmy, które mogą być kontrolowane przez fibroblasty, choć do tej pory temat ten pozostaje wciąż niszą. Aktywność uzupełnia opracowywani nowych technologii obrazowania oraz biodruku wraz z pozyskanym w 2021 roku wsparciem sprzętowym (ok. 5 mln PLN) na rozwój platformy obrazowania PANAKEIA, która przyczynia się do rozwoju tematyki badawczej grupy.

Grupa, którą zorganizowałem w ramach Zakładu Patologii Molekularnej IGC jest pierwszym i do tej pory jedynym ośrodkiem w Polsce, posiadającym aktywnie kurczące się, stworzone *de novo* w laboratorium, tkanki serca człowieka o makroskopowej wielkości i wysokim zaawansowaniu funkcjonalnym. Naszym celem jest poznanie mechanizmów dojrzewania i rozwoju tkanki sercowej, aby możliwe było formowanie i hodowla autologicznych dojrzałych narządów człowieka (np. do przeszczepów). Prowadzone badania uwzględniają również badania aplikacyjne, w tym rozwój mikrosystemów do oceny kardiotoxyczności leków.

Wartość prowadzonych badań potwierdziłem we współpracy wdrożeniowej z firmami z zakresu przygotowania terapii genowych. Rozwój terapii klinicznych wykorzystujących modyfikowane genetycznie limfocyty T jest drugą, równoległą ścieżką mojej działalności badawczej. W ramach tej

działalności od 2020 roku prowadzę grupę badaczy (kilkanaście do kilkudziesięciu osób) w ramach której prowadzone są badania przemysłowe (oraz prace rozwojowe) mające na celu wdrożenie pierwszej opracowanej i w pełni produkowanej w Polsce cząsteczki CAR (ang. *Chimeric antigen receptor*). Badania te obejmują zarówno naukową działalność (jak optymalizacje sekwencji oraz prace prowadzone w dziale badawczo-rozwojowym) oraz w dużym stopniu prowadzą do rozwoju niefunkcjonującego do tej pory w Polsce aplikacyjnego know-how produkcji oraz zaawansowanej kontroli jakości produktów komórkowej terapii genowej. Druga część badań odbywa się w ramach dostępnych laboratoriów klasy czystości „A” w „B” oraz według międzynarodowych procedur wytwarzania GMP. Celem naszych działań jest wprowadzenie innowacyjnego produktu typu CAR T (anty-CD19) na rynek leków w Europie (i w Polsce). Aktualnie otrzymaliśmy pozwolenia większości organów regulatorowych i jesteśmy uprawnieni do samodzielnej produkcji produktów tej terapii. Po otrzymaniu ostatniej zgody (w 2022 roku) rozpoczęte zostanie pierwsze badanie kliniczne produktu. Szczegóły mojej działalności biznesowej połączonej z działalnością merytoryczną opisaną powyżej zawarte są w rozdziale 7.1

5.2. Współpraca w kraju i zagranicą

5.2.1. Współprace długoletnie

- 1) Zakład Fizjologii Klinicznej Centrum Kształcenia Podyplomowego - Prof. Urszula Mackiewicz/ prof. Michał Mączewski – współpraca (od 2014) obejmuje badania nad zwierzętami (modele pozawałowe), współpraca przy projektach naukowych (w tym FIBROdrive)
- 2) Institute of Pharmacology and Toxicology, (TU Dresden) – prof. Kaomei Guan oraz prof. Ali El-Armouche (od 2018) – współpraca obejmuje wspólne publikacje i szkolenia w tematyce zaawansowanych modeli hodowli kardiomiocytów.
- 3) Środowiskowe Laboratorium Rezonansu Magnetycznego Małych Zwierząt; Centrum Medycyny Doświadczalnej, Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii; Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa - dr Michał Fiedorowicz współpraca obejmuje wspólne badania i publikacje w tym publikacje włączoną w dzieło (M4 - *Multiparametric Evaluation of Post-MI Small Animal Models Using Metabolic ($[^{18}F]$ FDG) and Perfusion-Based (SYN1) Heart Viability Tracers. Int J Mol Sci. 2021 Nov 22;22(22):12591.*)

- 4) Grupa Badawcza Radiochemia dla Medycyny i Przemysłu, Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii; Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa – prof. Zbigniew Rogulski – wieloletnia współpraca obejmuje eksperymenty na modelu zwierzęcym z wykorzystaniem transplantacji komórek oraz radio-znaczników, publikacje (w tym publikacja M4)
- 5) Centrum NanoBioMedyczne, Wydział Fizyki, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza – dr Tomasz Zalewski (od 2015) – współpraca obejmuje badania wydolności serca na modelu mysim z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego (MRI)
- 6) University of Oslo, Faculty of Medicine, Institute of Basic Medical Sciences, Centre of Excellence-Hybrid Technology Hub - dr Mathias Busek (od 2016) – współpraca obejmuje wymianę doświadczeń i rozwój technologii organ-on-chip; wspólne warsztaty

5.2.2. Współprace rozwijane

- 1) Institute of Experimental Medicine, (*BIOCEV, Prague*) - dr Yuriy Petrenko (od 2022) – współpraca w ramach sieci V4RM (*Visegrad 4 for regenerative medicine*). Spotkania i dyskusje naukowe – planowana organizacja wspólnej konferencji grupy V4RM.
- 2) *Center for Research and Interdisciplinarity (CRI Paris); Interaction Data Laboratory* - dr Marc Santolini (2019/2020) – współpraca obejmuje analizy dotyczące regulacji sieci powiązań ekspresji w komórkach o indukowanej pluripotencji. Wspólne przygotowanie raportu.
- 3) *BioTalentum Ltd.* Węgry – prof. András Dinnyés (od 2022) – publikacja obejmuje działalność w ramach akcji COST, plany dot. wspólnych projektów
- 4) Uniwersytet Medyczny w Poznaniu – dr hab. Adrian Gwizdała (2014-2017) – współpraca obejmowała badania kliniczne modyfikowanych mioblastów, wspólne publikacje (w tym M1)
- 5) Uniwersytet Medyczny Białystok – prof. Karol Kamiński (2009-2011) – współpraca obejmowała transfer technologii i przekazanie mysiego modelu zawału poprzez mikrochirurgiczne podwiązanie tętnicy wieńcowej zstępującej.

- 6) *Université de Namur (Unamur)* – prof. Jean-Michelle Vandeweerd (2019/2020) – współpraca obejmowała sformowanie międzynarodowego konsorcjum oraz wspólne przygotowanie wniosku o finansowanie (*StemMoveControl*; SC1-BHC-07-2019) z projektu *Horizon 2020*

- 7) *Forschungsinstitut Leder und Kunststoffbahnen (FILK)* – dr Ina Prade (2019/2020) – współpraca obejmowała sformowanie międzynarodowego konsorcjum oraz wspólne przygotowanie wniosku o finansowanie (*StemMoveControl*; SC1-BHC-07-2019) z projektu *Horizon 2020*

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

6.1. Działalność dydaktyczna i popularyzatorska

1. 27.04.2022 – wykład dla studentów w ramach przedmiotu „*Stem Cells in Biomedical Research*”, kierunek Biotechnology (ang.) Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pt. „*Disease modeling with stem cells - in vitro models Advanced systems for ex vivo development of the cardiac tissue*”

2. 21.04.2022 – wykład dla studentów Chemii Jądrowej i Radiofarmaceutyków, pt. „*Chimeric Antigen Receptor technology*”, Uniwersytet Warszawski

3. 06.09.2021 – Genetics Training week, IGC PAN, wykład w ramach międzynarodowej szkoły - sesji treningowej dla doktorantów „*Cardiac Tissue engineering – general overview and working examples*”

4. 13.05.2021 – wykład dla studentów, w ramach przedmiotu „Komórki Macierzyste w Medycynie Weterynaryjnej” kierunek Weterynaria, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu „*Advanced systems for ex vivo development of the cardiac tissue*”

6.2. Wykłady naukowe na zaproszenie

1. *BIOCEV Regeneration II*, 06-08.06.2022 Praga, Czechy – „*Engineered Heart Tissue models and iPS-derived cardiomyocytes*” – wykład na zaproszenie
2. XXV Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej, Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, 21-22.10.2021 Kazimierz Dolny - "Zaawansowane modele tkankowe serca - podsumowanie i przykłady badań" T.Kolanowski - wykład na zaproszenie
3. XXV Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego; 23-25.09.2021; online; "Zaawansowane systemy hodowli tkankowej serca - modele ewaluacji interakcji komórkowych" T. Kolanowski - wykład na zaproszenie
4. Next Level - Genetics Training Week, 06.09.2021 Poznań, "*Cardiac Tissue Engineering - general overview and working examples*" T. Kolanowski - wykład na zaproszenie
5. Seminarium Polskiego Towarzystwa Genetycznego, oddział Poznań; 21.01.2020, Poznań; "Definicja mechanizmów różnicowania mięśnia sercowego. Zaawansowane systemy hodowli tkankowej ludzkiego serca in vitro z wykorzystaniem kardiomiocytów pozyskiwanych z komórek pluripotencjalnych (iPS-CMs)" T.Kolanowski - wykład na zaproszenie
6. *International Conference on Biomedical and Bioengineering*; 27-28.09.2019; Poznań; "*Advanced systems for human cardiac cell and tissue engineering. A microfluidic platform for enhanced maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes*" T.Kolanowski - wykład na zaproszenie
7. Seminarium Centrum NanoBioMedyczne, Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu; 30.05.2019; "*Maturation of human cardiomyocytes using advanced systems for in vitro heart tissue culture*" T.Kolanowski - wykład na zaproszenie
8. Seminarium *Jagiellonian Centre for Experimental Therapies (JCET)*; Kraków 25.04.2019; "*Maturation of human cardiomyocytes using advanced systems for in vitro heart tissue culture*" T.Kolanowski - wykład na zaproszenie
9. Seminarium Wielkopolskiego Centrum Zaawansowanych Technologii; Poznań 29.11.2018; "*Advanced Systems for heart Tissue Engineering*", T.Kolanowski - wykład na zaproszenie
10. XXIII Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej, Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, 15-17.11.2018; Łódź; "*Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (iPS-CMs) show enhanced maturation and response to low-oxygen conditions in microflow conditions*" T.Kolanowski – wykład na zaproszenie

6.3. Opieka nad studentami

Jestem opiekunem naukowym doktorantów (studia doktoranckie):

1. Mgr Agnieszka Nadel – 2019 - trwa (praca doktorska przygotowywana w ramach projektu SONATA, którego jestem kierownikiem)
2. Mgr Katarzyna Kapturska – 2019 - trwa (praca doktorska realizowana w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” MEiN, w którym jestem opiekunem; DWD/3/27/2019)

Sprawowałem opiekę nad następującymi osobami, będącymi w trakcie przygotowywania swoich prac dyplomowych:

1. Adrian Chachuła, studia magisterskie, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska – 2014-2015
2. Friederike Kuhl, studia doktoranckie, Technische Universität Dresden, Niemcy – 2016-2017
3. Katarzyna Hubert, studia magisterskie, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska – 2021

Byłem promotorem prac licencjackich:

1. Halyna Romashko, 2022, studia licencjackie, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska; tytuł: “Current development of approaches toward cardiomyocytes rescue in cardiovascular diseases by K_{ATP} channels activity modulators”

6.4. Popularyzacja nauki / integracja środowiska naukowego / organizacja polityki i administracji naukowej

1. Uczestnictwo w akcjach COST:
 - a. Członek komitetu (MC):
 - i. CA21151 – *Generation of Human Induced Pluripotent Stem Cells from Haplo-Selected Cord Blood Samples (Haplo-iPS)*
 - b. Członek stowarzyszony/gość (członek laboratorium uczestnika):
 - i. CA16225 – *Realising the therapeutic potential of novel cardioprotective therapies (EU-Cardioprotection)*

2. Organizacja wykładów popularno-naukowych:
 - a. W ramach działalności Komisji Biotechnologii PAN o/Poznań brałem udział w organizacji wykładów otwartych z cyklu „Sukcesy Biotechnologii” organizowanych przez Komisję Biotechnologii PAN o/Poznań oraz „Nauka i Społeczeństwo”, współorganizowanego z oddziałem PAN w Poznaniu:
 - i. 20.02.2020 - prof. dr hab. Józef Dulak, Uniwersytet Jagielloński, który wygłosił wykład pt. „Komórki macierzyste w medycynie”, w sesji uczestniczyło ok. 100 osób
 - ii. 09.12.2021 - prof. dr hab. Ryszard Słomski; Instytut Genetyki Człowieka PAN; Reprezentant Polski na posiedzeniach Konwencji i Zakazie Stosowania Broni Biologicznej, który wygłosił wykład „Nowe technologie. Pomoc czy zagrożenie”. Na wykładzie obecnych było kilkadziesiąt osób, w tym przedstawiciele duchowieństwa i naukowców
 - iii. 19.01.2022 prof. Marek Figlerowicz, członek korespondent PAN, dyrektor Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN; wykład pt. „Nauka i społeczeństwo wobec COVID-19” Wykład odbył się w formie hybrydowej i wzbudził duże zainteresowanie.
3. organizowano spotkania otwarte Komisji, która za każdym razem gromadzą po kilkudziesięciu członków komisji, integrując środowisko naukowe w Poznaniu i
4. uzyskano dotację celową z budżetu DUN PAN na wydanie książki „Biotechnologia 2020. O co najczęściej pytamy” (03.08.2020). Redakcją książki zajmuje się dr. hab. Marlena Szalata – członek Komisji. Habilitant jest współautorem monografii.
5. W ramach działalności Komisji Biotechnologii PAN o/Poznań rozwijano współpracę z kołami naukowymi związanymi z działalnością Komisji działającymi na terenie Poznania, w tym:
 - a. KNSB Operon UP
 - b. SKN Biotechnologii Medycznej
 - c. SKN Genetyki Medycznej
 - d. Sekcja Biologii Sadowej – UAM
 - e. DoScience/Poznań
 - f. SKN Biochemii i Biologii Molekularnej
 - g. SKN Biosfera UMP
 - h. Antropologia – UAM

Współpraca obejmowała głównie aktywność upowszechniającą informacje naukowe oraz dot. wydarzeń naukowych oraz popularno-naukowych. Ponadto, Komisja zbliża do tej pory odrębne

środowiska w aspekcie zainteresowań naukowych i rozwoju kariery młodych naukowców. Poprzez kanał informacyjny Komisji do studentów trafiły 4 ogłoszenia o pracę w laboratoriach instytutów PAN oddziału poznańskiego, co stanowi obopólne korzyści dla ogłaszających oraz poszukujących.

6. W ramach działania Komisji, czynnie przyczyniamy się do propagowania i upubliczniania (poprzez platformę internetową Komisji) informacji dotyczących stanowisk oficjalnych instytucji związanych z dziedziną biotechnologii w tym m.in.:
 - a. Opublikowano stanowisko *Committee for Advanced Therapies*, Europejskiej Agencji Leków dotyczące jakości niektórych terapii zaawansowanych dostępnych na rynku (08.05.2020)
 - b. Opublikowano komunikat Interdyscyplinarnego Zespołu Doradczego ds. Kryzysu Klimatycznego przy Prezesie Polskiej Akademii Nauk na temat zmiany klimatu i gospodarki wodnej w Polsce (22.07.2020)
 - c. Opublikowano oświadczenie *European Sustainable Agriculture Through Genome Editing*, dotyczące propozycji rządu Francji o zmianie legislacji dot. obecności i kontroli roślin GMO na wewnętrznym rynku UE (23.07.2020)
 - d. Promowano konkurs organizowany przez Komitet Biotechnologii PAN – AgroBioTop mający na celu wybór naukowców, których uznane osiągnięcia z zakresu biotechnologii przyczyniły się do rozwoju nauk rolniczych i wnoszą wybitny wkład w rozwój rolnictwa (13.08.2020)
7. Działalność jako osoba reprezentująca Instytut na forum *POLsca* – wpływ na definiowanie tematyki konkursów *ERC (Horizon 2027)*
8. Działalność w ramach przedstawicielstwa grupy R2 (pracownicy po doktoracie) w Instytucie Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu (od 2020) – organizacja szkoleń dla R2; przedstawicielstwo na kolegiach Instytutowych
9. Członek Rady Młodych Pracowników Naukowych Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu (od 2020 roku)
10. Szkolenie "Cytometria Przepływowa w badaniach komórek ssaczych" 12.2014 - Centrum Edukacji Biomedycznej, Poznań, Polska – trener
11. Sympozjum Sekcji Kardiologii Eksperymentalnej 2010 – Instytut Genetyki Człowieka PAN, Poznań, Polska - udział w Komitecie organizacyjnym

7. Inne informacje, ważne punktu widzenia wnioskodawcy, dotyczące jego kariery zawodowej

7.1. Współpraca z przemysłem, oraz projekty naukowe

Od początku działalności naukowej, a w szczególności po zakończeniu doktoratu, jasne była dla mnie konieczność współpracy z przemysłem w celu wprowadzenia do użytku klinicznego efektów badań naukowych - nowych terapii komórkowych i/lub genowych. Z tego względu, moje studia na kierunku biotechnologia były studiami inżynierskimi, a już w trakcie doktoratu z dziedziny nauk medycznych odbywałem szkolenie w ramach programu „Wielkopolski Inżynier w Europejskiej Przestrzeni Badawczej”, a także odbyłem studia podyplomowe na Uniwersytecie Ekonomicznym „Marketing Strategiczny na Rynku Farmaceutycznym”.

Moja współpraca z przemysłem rozpoczęła się jednak po doktoracie, podczas mojego pobytu w Dreźnie w którym współpracowaliśmy z Fraunhofer Institute for Material and Beam Technologies w ramach dalszego rozwoju opatentowanej i komercjalizowanej technologii typu „organ-on-chip”.

Po powrocie do Polski w 2018 rozpocząłem współpracę wraz z firmą Sygnis S.A. w celu realizacji projektu infrastrukturalnego w ramach konsorcjum POLOPENSSCREEN. W 2020 roku złożyliśmy grant europejski z firmą Femtika (Wilno, Litwa), rozwijającą metody biodruku. Od 2018 roku współpracuję (w różnych formach) z działem badawczo-rozwojowym firmy Polski Bank Komórek Macierzystych S.A. w ramach której byłem odpowiedzialny m.in. za **ustanowienie i zarządzanie laboratorium** biologii molekularnej, laboratorium inżynierii genetycznej oraz laboratorium terapii genowych i komórkowych w dziale B+R firmy. W ramach tej współpracy jestem współautorem jednego patentu UP RP oraz jednego wniosku patentowego (urząd europejski, EPO).

Od 03.2022 roku jestem, członkiem zarządu, Chief Scientific Officer oraz współudziałowcem firmy typu spin-off FamiCordTx, powołanej do opracowania i wdrożenia pierwszej w Polsce terapii genowej komórkami CAR T dla pacjentów onkologicznych nowotworów B-komórkowych. W ramach mojej działalności jestem odpowiedzialny za opracowanie wdrożenia **wytwarzania wektorów wirusowych oraz terapii genowej CAR T**, zaś pierwszego podania klinicznego spodziewamy się w 2022 roku. Prowadzę też bezpośredni nadzór na **21 pracownikami badawczo-rozwojowymi** (w tym **7 typu post-doc**, pracującymi i kształcącymi się uprzednio m.in. w USA, Francji, Australii, Wielkiej Brytanii, Niemczech, Szwecji) oraz dwoma pracownikami administracyjnymi. Zarządzam i planuję wydatki budżetowe działu badawczo-rozwojowego oraz odpowiadam za przygotowanie prezentacji inwestorskich (oraz rozmowy z inwestorami), w celu pozyskania środków na działalność firmy. Jestem również odpowiedzialny za realizację 2 projektów z finansowaniem wewnętrznym i zewnętrznym (inwestorskim). Jestem kierownikiem naukowym/głównym badaczem wniosków projektowych przygotowywanych przez FamiCordTx S.A. w ramach konkursów ABM (wcześniej również NCBiR)

dotyczących zastosowania produktów komórkowych i tkankowych w onkologii i ortopedii; wraz z opracowaniem protokołów badań klinicznych.

Od 2022 roku działam również jako doradca naukowy zarządu międzynarodowej grupy Vita34 AG w inwestycjach i przejęciach strategicznych na rynku europejskim dotyczących nowych działalności w dziedzinie biotechnologii medycznych (do tej pory doradzałem w dwóch transakcjach – strona merytoryczno-kadrowa procesu „due diligence”).

7.2. Patenty i wnioski patentowe

Jestem współautorem patentu Urzędu Patentowego RP oraz wniosku patentowego złożonego do European Patent Office (EPO)

1. Zastosowanie panelu genów do określania potencjału teratogennego komórek mezenchymalnych i pochodzenia perinatalnego; z dnia 27.03.2020; Numer Urzędu Patentowego RP P.433374 (znak wewnętrzny: 42078/19)
2. Analiza ekspresji określonej puli genów do stwierdzenia czy wybrana do aplikacji klinicznej populacja komórek mezenchymalnych wyprowadzonych z tkanki tłuszczowej (AT-MSC) może ulec transformacji w komórki nowotworowe; zgłoszenie do EPO z dnia 30.09.2021 (PCT/IB2021/058990) – w trakcie rozpatrywania i uwag.

7.3. Informacja o wdrożonych technologiach

Technologie, które pomagałem opracować i których jestem współautorem znalazły swoje działanie w aktywności przemysłowej w następujących aplikacjach:

1. Opracowanie panelu molekularnego testowania bezpieczeństwa populacji komórek MSC – przedmiot patentu, panel wykorzystywany w działalności firmy PBKM. S.A. – opisywany panel jest zestawem zwalidowanych analiz opartych na metodzie qPCR mających na celu wykluczenie podwyższonej ekspresji białek charakterystycznych dla komórek nowotworowych różnych linii. Jest to jednak z metod wzmacniająca charakterystykę profilu bezpieczeństwa stosowanych w terapii komórek.
2. Wdrożenie ponad 30 testów opartych na qPCR/ELISA/WB/Hodowla czynników patologicznych; w celu oceny końcowej produktów terapii genowej w zastosowaniu klinicznym – rozwój know-how – technologia licencjonowana przez FamiCordTx S.A. – testy te są elementem kontroli jakości linii komórkowych używanych jako tzw. *Master Cell Bank*, przed ich dopuszczeniem jako linii komórkowe produkujące produkty biotechnologiczne dopuszczone do użytkowania w klinice, konieczna jest ocena ich bezpieczeństwa ze względu na ew. zakażenia wirusami i

czynnikami patologicznymi (również odzwierzęcymi). Panel jest jednym z elementów takiej oceny.

7.4. Nagrody, wyróżnienia, szkolenia

We wczesnych latach kariery, zdobywałem szereg nagród i wyróżnień. Wymieniono najważniejsze:

1. Nagroda za najlepszą prezentację ustną podczas XXIII Sympozjum Kardiologii Eksperymentalnej, Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego 2018
2. Stypendium START dla młodych naukowców; FNP 2015
3. Nagroda PAN dla doktorantów za najlepszą publikację z dziedziny nauk medycznych 2015
4. Stypendysta projektu UE "Stypendia dla doktorantów w dziedzinach strategicznych dla rozwoju województwa Wielkopolskiego" 2012 - 2013
5. Udział w programie szkoleniowo-stypendialnym "Wielkopolski Inżynier w Europejskiej Przestrzeni Badawczej"; SPIWIN Poznań, Polska 2012
6. Stypendium konferencyjne - *Ascona Workshop on Cardiomyocyte Biology*, Szwajcaria 2012
7. Stypendium za osiągnięcia w nauce – Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (3x) 2008 - 2011
8. Stypendium Fundacji Rodziny Kulczyków za osiągnięcia w nauce 2009 - 2010
9. Nagrodzony w konkursie "Studencki Nobel" dla wyróżniających się studentów w Polsce 2009

7.5. Informacja o projektach

Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów

- Udział w projektach naukowych:
 - Kierownik projektu
 - FIBROdrive – definicja roli fibroblastów w różnicowaniu tkanki serca. Ocena mechanizmu wpływu komorowo-specyficznych fibroblastów na specjalizację kardiomiocytów z wykorzystaniem inżynierii tkankowej w modelu serca człowieka (2018/31/D/NZ3/01719) 2019-obecnie; budżet 1 294 200PLN

- Indukcja i badania przedkliniczne komórek pluripotencjalnych pozyskiwanych z ludzkich komórek macierzystych pochodzenia miogenego (himPS) w modelu zawału mięśnia sercowego (2011/01/N/NZ1/04454) 2012-2016; budżet 275 600 PLN
- Grant infrastrukturalny PANAKEIA 2021; budżet 5 000 000 PLN Grant Inwestycyjny Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; ID wniosku: 489232; Na rok: 2021; Wnioskodawca: Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk; Nr rejestracyjny: IA/SP/489232/2021; Data złożenia 2020-07-31; Wartość projektu: 4 998 057,03 PLN (całość IGC); Status – projekt uzyskał finansowanie; koordynator ze strony Instytutu (powołanie do życia Laboratorium Obrazowania Modeli Tkankowych w ramach Samodzielnej Grupy Badawczej Zaawansowanych Modeli Tkankowych)
- Koordynator projektu
 - Niskocząsteczkowe modulatory epigenetyczne jako aktywatory pluripotencji komórek do zastosowań w medycynie regeneracyjnej – EPI-CELL; (NCBiR STRATEGMED1/233624/5/NCBR/2014) 2015-2019; budżet > 20 mln PLN
- Główny wykonawca projektu
 - Architektura jądrowa w różnicowaniu ludzkich komórek macierzystych pochodzenia miogenego (NN 401 097 937) 2009-2012
- Wykonawca:
 - 2009 – 2010 projekt rozwojowy N R13 0065 06 „Mioblasty i ich funkcja w medycynie regeneracyjnej; badania kliniczne i przedkliniczne” – współwykonawca projektu
 - 2009 – 2012 projekt rozwojowy N R13 0066 06 „Niepłodność małżeńska – identyfikacja przyczyn na podłożu molekularnym, jako bazy do utworzenia algorytmów, w celu jej efektywnego przeciwdziałania” – w ramach wolontariatu
 - 2008 – 2009 program statutowy Instytutu: „Mechanizm stresu tlenowego jako przyczyna niepłodności męskiej” – w ramach wolontariatu
 - 2007 – 2009 Projekt badawczy N403 065 31/3011 „Transplantacja mioblastów szkieletowych w leczeniu kardiomiopatii o podłożu innym niż niedokrwienna” – pomoc w wykonywaniu projektu
 - 2007 – 2008 Projekt badawczy PBZ-KBN-119/P05/2005 Opracowanie, doskonalenie i wdrożenie wysokospecjalistycznych procedur w diagnostyce o podłożu immunologicznym - w ramach wolontariatu

- 2007 program zamawiany (PBZ-KBN-099/P05/2003): „Terapia genowa choroby niedokrwiennej serca” – w ramach wolontariatu
 - 2007 – 2008 projekt badawczy Fundacji na Rzecz Wspierania Rozwoju Polskiej Farmacji i Medycyny POLPHARMA nr III/11/2004: „Możliwości leczenia pozawałowej niewydolności krążenia przy pomocy komórek macierzystych genetycznie modyfikowanych” – w ramach wolontariatu
 - 2007 – 2008 program statutowy Instytutu: „Komórki macierzyste w Galarecie Whartona” („*Stem cells in Wharton jelly*”) – w ramach wolontariatu
 - 2007 – 2008 projekt badawczy KBN nr 2P05C 061 28: „Komórki macierzyste a upośledzenie słuchu” – w ramach wolontariatu
- Realizacja innych projektów:
 - Doktorat wdrożeniowy (DWD/3/27/2019) – opiekun naukowy doktoranta
 - Doktorat wdrożeniowy (przyznano 2 projekty: DWD/6/0417/2022 oraz DWD/6/0418/2022) – w obu przypadkach będę pełnił funkcję promotora pomocniczego
 - Uczestnictwo we wnioskach projektowych projektów konsorcjów (głównie międzynarodowych):
 - *Horizon 2020 RIA-LS action; Call: H2020-NMBP-TR-IND-2020-twostage; Numer projektu: 953247-1; Tytuł projektu: SynthOrg; Proposal title: Nano-manufacturing of 4D organ-on-chip devices and synthetic organs for advanced medical applications; Activity: DT-NMBP-23-2020; Leader: UAB Femtika (LT); Other consortium members: Idryma Technologias Kai Erevnas (EL); Fraunhofer Gesellschaft Zur Foerderung Der Angewandten Forschung E.V. (DE); UAB Civitta (LT); Robeaute (Fr); Institute Of Human Genetics Polish Academy Of Sciences (PL); Vilniaus Universitetas (LT); Latvijas Biomedicinas Petijumu Un Studiju Centrs (LV);* Wartość projektu: 5 600 000,00 EUR (ok. 25 427 136,00 PLN, w tym 8-12% przeznaczone IGCZ); Status – projekt nie uzyskał finansowania – kierownik ze strony Instytutu
 - Projekt w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój, Priorytet IV: Zwiększenie potencjału naukowo-badawczego, Działanie 4.2: Rozwój nowoczesnej infrastruktury badawczej sektora nauki; Numer wniosku o dofinansowanie: POIR.04.02.00-00-D004/20; Tytuł projektu: POL-OPENSREEN – Polska Platforma Infrastruktury Skriningowej dla Chemii Biologicznej; Data pierwszego złożenia: 15.07.2020; Lider: Instytut Biologii Medycznej PAN; Wartość projektu: 99 926 191,95 PLN (w tym dla IGC: 33 573 804,80 PLN); Status projektu: wstrzymany - finansowanie uzyskane w trakcie procedury odwoławczej - koordynator ze strony Instytutu

- *H2020-SC1-2019-Single-Stage-RTD (SC1-BHC-07-2019) “StemMoveControl - The evaluation of the safety and primary efficacy of new superior biomimetic cartilage construct (scaffold) on the regeneration of hyaline cartilage in patients with knee osteoarthritis”, Budżet – projekt nie został sklasyfikowany (ok 5mln Eur); konsorcjum kierowane przez Polski Bank komórek Macierzystych S.A. (PL) FILK Institut (DE), Univesity of Namur (BE), Dept. of Mol. Pathology, IHG, PAS, Poznan (PL); – członek konsorcjum,; Status: projekt nie uzyskał finansowania - główny wykonawca ze strony IGC*
- *ERA-CVD Joint Transnational Call 2019 Transnational Cardiovascular Research Projects driven by Early Career Scientists – projekt “TUNICA - Towards UNravelling Inflammatory Cascades in the Aorta”, wartość projektu ok. 900 000 Eur; konsorcjum kierowane przez prof. Rolanda Van Kimmenade, RadboudUMC, Nijmegen, the Netherlands, Pozostali konsorcjanci: Center of Medical Genetics, University of Antwerp/Antwerp University Hospital (NL); Institute for Cardiovascular Prevention and Walther Straub Institute for Pharmacology and Toxicology, LMU Munich (DE); Dept. of Mol. Pathology, IHG, PAS, Poznan (PL); Status: projekt zakwalifikowany w pierwszej fazie, nie otrzymał finansowania - główny badacz ze strony Instytutu.*

7.6. Członkostwo w organizacjach naukowych

- Zarząd:
 - Sekcja Kardiologii Eksperymentalnej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego - członek komisji rewizyjnej (od 09.2021, członek od 2013)
 - Komisja Biotechnologii PAN oddział w Poznaniu - członek zarządu (sekretarz), członek I kadencji – od 03. 2019
- Udział regularny
 - *International Society of Stem Cell Research* (od 2019)
 - Polskie Towarzystwo Kardiologiczne (od 2018)
 - *European Society of Cardiology* (od 2018)
 - Polskie Towarzystwo Genetyczne, oddział Poznań (od 2020)
 - *V4RM – Visegrad4 Regenerative Medicine Group* (od 2022)

7.7. Aktywność recenzencka

- Recenzje konkursowe/grantowe
 - Recenzje dla Diamentowy Grant - MNiSW
- Recenzje dla czasopism
 - *International Journal of Cardiolgoy*
 - *British Journal of Pharmacology*
 - *Journal of Cancer Stem Cell Research*

7.8. Uczestnictwo w programach Europejskich

- NEXTLEVEL - szkolenie „IPR in research institutions” 02.2022
- Wielkopolski inżynier w Europejskiej Przestrzeni badawczej - program dla doktorantów 2013-2014

7.9. Szkolenia i wczesna działalność dodatkowa

- 2013 Seminarium z zakresu hodowli komórkowych i analizy komórek organizowane przez firmę Merck Milipore, Poznań, Polska
- 2013 Szkolenie z zakresu eutanazji zwierząt laboratoryjnych oraz klatek metabolicznych firmy AnimaLab oraz Uno, Poznań, Polska.
- 2012 I Warsztaty Ultrasonografii Doświadczalnej – Obrazowanie w kardiologii doświadczalnej, Gliwice, Polska.
- 2011 Szkolenie ICH Good Clinical Practice. Course for CRA and candidates for CRA; Kraków, Polska.
- 2011 Szkolenie Monitoring of the clinical research. Course for CRA and candidates for CRA; Kraków, Polska
- 2010 Szkolenie z zakresu technik telemetrycznych u zwierząt laboratoryjnych, Warszawa, Polska.
- 2010 Szkolenie z zakresu hodowli fibroblastów płodowych oraz otrzymywania linii komórek ES, Warszawa, Polska.
- 2008 Szkolenie firmy Beckman Coulter z zakresu obsługi cytometru Cell Lab Quanta SC MPL, Poznań, Polska.
- 2008 Kurs dla opiekunów zwierząt laboratoryjnych, Kraków, Polska.
- 2006-2010 Koło Naukowe Studentów Biotechnologii „OPERON” przy Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu – członek Koła, udział w wykładach prowadzonych przez gości Koła oraz w wewnętrznych seminariach prowadzonych przez członków
- 2006-2009 Uczestnik 9 studenckich konferencji naukowych i popularnonaukowych w ramach wymiany wiedzy między studentami biotechnologii w Polsce oraz szerzenia świadomości społecznej związanej z biotechnologią (uczestnictwo obejmowało zarówno pomoc w organizacji, udział w dyskusjach, wykłady oraz przewodniczenie sesji w j. angielskim)

7.10. Podsumowanie dorobku

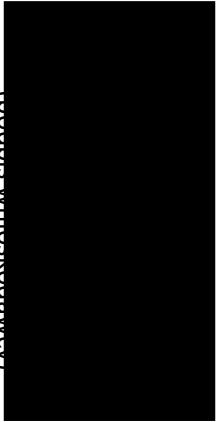
LP.	Title	Authors	Citation	IF	Publicati on Year	Create Date	DOI;
27	[M5] Modeling the human heart ex vivo-current possibilities and strive for future applications	Kaluźna E, Nadel A, Zimna A, Rozwadowska N, Kolanowski T.	J Tissue Eng Regen Med. 2022 Jun 24. doi: 10.1002/term.3335. Online ahead of print.	4,323	2022	24.06.2022	10.1002/term.3335
26	[M4] Multiparametric Evaluation of Post-MI Small Animal Models Using Metabolic (¹⁸ F]FDG) and Perfusion-Based (SYN1) Heart Viability Tracers	Tomasz Jan Kolanowski#, Weronika Wargocka-Matuszewska#, Agnieszka Zimna, Łukasz Cheda, Joanna Zyprych-Walczak, Anna Rugowska, Monika Drabik, Michał Fiedorowicz, Seweryn Krajewski, Łukasz Steczek, Cezary Kozanecki, Zbigniew Roguński, Natalia Rozwadowska and Maciej Kurpisz.*	Int J Mol Sci. 2021 Nov 22;22(22):12591. doi: 10.3390/jims22212591.	6,208	2021	22.11.2021	10.3390/jims22212591
25	Molecular imaging of human skeletal myoblasts (Huskm) in mouse post-infarction myocardium	Katarzyna Fiedorowicz, Weronika Wargocka-Matuszewska, Karolina A. Ambrożkiewicz, Anna Rugowska, Łukasz Cheda, Michał Fiedorowicz, Agnieszka Zimna, Monika Drabik, Szymon Borkowski, Maciej Świątkiewicz, Piotr Bogorodzki, Paweł Grieb, Paulina Hamankiewicz, Tomasz J. Kolanowski, Natalia Rozwadowska, Urszula Kozłowska, Aleksandra Klimczak, Jerzy Kolasinski, Zbigniew Roguński and Maciej Kurpisz	Int J Mol Sci. 2021 Oct 8;22(19):10885. doi: 10.3390/jims221910885.	6,208	2021	08.10.2021	10.3390/jims221910885
24	Diminished PLK2 Induces Cardiac Fibrosis and Promotes Atrial Fibrillation	Künzel SR, Hoffmann M, Weber S, Künzel K, Kämmerer S, Günscht M, Klapproth E, Rausch JSE, Sadek MS, Kolanowski T, Meyer-Roxlau S, Piorowski C, Tugtekin SM, Rose-John S, Yin X, Mayr M, Kuhlmann JD, Wimberger P, Grützmann K, Herzog N, Küpper JH, O'Reilly M, Kabir SN, Sommerfeld LC, Guan K, Wielockx B, Fabritz L, Nattel S, Ravens U, Dobrev D, Wagner M, El-Armouche A.	Circ Res. 2021 Oct;129(8):804-820. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319425. Epub 2021 Aug 26.	17,367	2021	26.08.2021	10.1161/CIRCRESAHA.121.319425
23	Mesenchymal Stromal Cells from Different Parts of Umbilical Cord: Approach to Comparison & Characteristics	Semenova E, Grudniak MP, Machaj EK, Bocian K, Chroscinska-Krawczyk M, Trochonowicz M, Stepaniec IM, Murzyn M, Zagorska KE, Boruckowski D, Kolanowski TJ, Oldak T, Rozwadowska N.	Stem Cell Rev Rep. 2021 Apr 15. doi: 10.1007/s12015-021-10157-3. Online ahead of print.	6,692	2021	16.04.2021	10.1007/s12015-021-10157-3;
22	Chromatin and transcriptome changes in human myoblasts show spatio-temporal correlations and demonstrate DPP4 inhibition in differentiated myotubes	Kolanowski TJ, Rozwadowska N, Zimna A, Nowaczek M, Siatkowski M, Łabędź W, Wiłand E, Gapiński J, Jurga S, Kurpisz M.	Sci Rep. 2020 Aug 31;10(1):14336. doi: 10.1038/s41598-020-70756-x.	4,379	2020	02.09.2020	10.1038/s41598-020-70756-x

21	Human skeletal muscle-derived stem/progenitor cells modified with connexin-43 prevent arrhythmia in rat post-infarction hearts and influence gene expression in the myocardium	Rugowska A, Wiernicki B, Maczewski M, Mackiewicz U, Chojnacka K, Bednarek-Rajewska K, Kluk A, Majewski P, Kolanowski T, Malcher A, Rozwadowska N, Kurpisz M.	J Physiol Pharmacol. 2019 Dec;70(6). doi: 10.26402/jpp.2019.6.10. Epub 2020 Mar 20.	2,644	2019	24.03.2020	10.26402/jpp.2019.6.10
20	Tissue-specific promoter-based reporter system for monitoring cell differentiation from iPSCs to cardiomyocytes	Fiedorowicz K, Rozwadowska N, Zimna A, Malcher A, Tutak K, Szczerbal J, Nowicka-Bauer K, Nowaczyk M, Kolanowski TJ, tabeǳ W, Kubaszewski Ł, Kurpisz M.	Sci Rep. 2020 Feb 5;10(1):1895. doi: 10.1038/s41598-020-58050-2.	4,379	2020	07.02.2020	10.1038/s41598-020-58050-2
19	[M3] Enhanced structural maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes under a controlled microenvironment in a microfluidic system	Kolanowski TJ, Busek M, Schubert M, Dmitrieva A, Binnewerg B, Pöche J, Fisher K, Schmieder F, Grünzner S, Hansen S, Richter A, El-Armouche A, Sonntag F, Guan K.	Acta Biomater. 2020 Jan 15;102:273-286. doi: 10.1016/j.actbio.2019.11.044. Epub 2019 Nov 26.	8,947	2020	29.1.1.2019	10.1016/j.actbio.2019.1.1.044
18	Influence of hypoxia prevailing in post-infarction heart on proangiogenic gene expression and biological features of human myoblast cells applied as a pro-regenerative therapeutic tool	Zimna A, Wiernicki B, Kolanowski T, Malcher A, Rozwadowska N, Labedz W, Kubaszewski L, Kurpisz M.	J Physiol Pharmacol. 2018 Dec;69(6). doi: 10.26402/jpp.2018.6.02. Epub 2019 Mar 18.	2,544	2018	23.03.2019	10.26402/jpp.2018.6.02
17	SPIN1 is a proto-oncogene and SPIN3 is a tumor suppressor in human seminoma	Janecki DM, Sajek M, Smialek MJ, Kotecki M, Ginter-Matuszewska B, Kuczyńska B, Spik A, Kolanowski T, Kitazawa R, Kurpisz M, Jaruzelska J.	Oncotarget. 2018 Aug 21;9(65):32466-32477. doi: 10.18632/oncotarget.25977. eCollection 2018 Aug 21.	0	2018	11.09.2018	10.18632/oncotarget.25977
16	The impact of in vitro cell culture duration on the maturation of human cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells of myogenic origin	Lewandowski J, Rozwadowska N, Kolanowski TJ, Malcher A, Zimna A, Rugowska A, Fiedorowicz K, tabeǳ W, Kubaszewski Ł, Chojnacka K, Bednarek-Rajewska K, Majewski P, Kurpisz M.	Cell Transplant. 2018 Jul;27(7):1047-1067. doi: 10.1177/0963689718779346. Epub 2018 Jun 27.	3,477	2018	28.06.2018	10.1177/0963689718779346
15	Biological and Pro-Angiogenic Properties of Genetically Modified Human Primary Myoblasts Overexpressing Placental Growth Factor in In Vitro and In Vivo Studies	Zimna A, Wiernicki B, Kolanowski T, Rozwadowska N, Malcher A, Labedz W, Trzeciak T, Chojnacka K, Bednarek-Rajewska K, Majewski P, Kurpisz M.	Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2018 Apr;66(2):145-159. doi: 10.1007/s00005-017-0486-2. Epub 2017 Sep 26.	2,878	2018	28.09.2017	10.1007/s00005-017-0486-2
14	[M2] Making human cardiomyocytes up to date: Derivation, maturation state and perspectives	Kolanowski TJ, Antos CL, Guan K.	Int J Cardiol. 2017 Aug 15;241:379-386. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.03.099. Epub 2017 Mar 24.	4,034	2017	06.04.2017	10.1016/j.ijcard.2017.03.099

13	Safety, feasibility and effectiveness of first in-human administration of muscle-derived stem/progenitor cells modified with connexin-43 gene for treatment of advanced chronic heart failure	Gwizdala A, Rozwadowska N, Kolanowski TJ, Malcher A, Cieplucha A, Perek B, Seniuk W, Straburzynska-Mligaj E, Oko-Sarnowska Z, Cholewinski W, Michalak M, Grajek S, Kurpisz M.	Eur J Heart Fail. 2017 Jan;19(1):148-157. doi: 10.1002/ehf.700.	10,683	2017	05.01.2017	10.1002/ehf.700
12	In vitro culture of primary human myoblasts by using the dextran microcarriers Cytodex3®	Rozwadowska N, Malcher A, Baumann E, Kolanowski TJ, Rucinski M, Mietkowski T, Fiedorowicz K, Kurpisz M.	Folia Histochem Cytobiol. 2016;54(2):81-90. doi: 10.5603/FHC.a2016.0010. Epub 2016 Jun 8.	1,389	2016	09.06.2016	10.5603/FHC.a2016.0010
11	Techniques for the induction of human pluripotent stem cell differentiation towards cardiomyocytes	Lewandowski J, Kolanowski TJ, Kurpisz M.	J Tissue Eng Regen Med. 2017 May;11(5):1658-1674. doi: 10.1002/term.2117. Epub 2016 Jan 17.	4,089	2017	19.01.2016	10.1002/term.2117
	Erratum to: Implantation of autologous muscle-derived stem cells in treatment of fecal incontinence: results of an experimental pilot study	Romaniszyn M, Rozwadowska N, Malcher A, Kolanowski T, Walega P, Kurpisz M.	Tech Coloproctol. 2015 Nov;19(11):697. doi: 10.1007/s10151-015-1373-7.	-	2015	29.10.2015	10.1007/s10151-015-1373-7
10	Human myoblast transplantation in mice infarcted heart alters the expression profile of cardiac genes associated with left ventricle remodeling	Wiernicki B, Rozwadowska N, Malcher A, Kolanowski T, Zimna A, Rugowska A, Kurpisz M.	Int J Cardiol. 2016 Jan 1;202:710-21. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.09.115. Epub 2015 Oct 22.	6,189	2016	13.10.2015	10.1016/j.ijcard.2015.09.115
9	Implantation of autologous muscle-derived stem cells in treatment of fecal incontinence: results of an experimental pilot study	Romaniszyn M, Rozwadowska N, Malcher A, Kolanowski T, Walega P, Kurpisz M.	Tech Coloproctol. 2015 Nov;19(11):685-96. doi: 10.1007/s10151-015-1351-0. Epub 2015 Aug 13.	2,32	2015	13.08.2015	10.1007/s10151-015-1351-0
8	Can apoptosis and necrosis coexist in ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection?	Fraczek M, Hryhorowicz M, Gaczarzewicz D, Szumala-Kakol A, Kolanowski TJ, Beutin L, Kurpisz M.	J Assist Reprod Genet. 2015 May;32(5):771-9. doi: 10.1007/s10815-015-0462-x. Epub 2015 Mar 26.	1,858	2015	27.03.2015	10.1007/s10815-015-0462-x
7	Fertilizing potential of ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection	Fraczek M, Wiland E, Piasecka M, Boksa M, Gaczarzewicz D, Szumala-Kakol A, Kolanowski T, Beutin L, Kurpisz M.	Fertil Steril. 2014 Sep;102(3):711-719.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.002. Epub 2014 Jul 17.	4,59	2014	22.07.2014	10.1016/j.fertnstert.2014.06.002
6	[M1] In vitro and in vivo characteristics of connexin 43-modified human skeletal	Kolanowski TJ, Rozwadowska N, Malcher A, Szymczyk E, Kasprzak JD, Mietkowski T, Kurpisz M.	Int J Cardiol. 2014 Apr 15;173(1):55-64. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.04.002.	4,036	2014	19.03.2014	10.1016/j.ijcard.2014.04.002

	myoblasts as candidates for prospective stem cell therapy for the failing heart		10.1016/j.jlcard.2014.02.009. Epub 2014 Feb 20.				
5	Genetically modified human myoblasts with eNOS may improve regenerative ability of myogenic stem cells to infarcted heart	Janecek A, Zimna A, Rozwadowska N, Fraczek M, Kucharzewska P, Ruciński M, Mietkiewski T, Kolanowski T, Malcher A, Kurpisz M.	Kardiol Pol. 2013;71(10):1048-58. doi: 10.5603/KP.2013.0260.	0,635	2013	08.11.2013	10.5603/KP.2013.0260
4	Characterisation of nuclear architectural alterations during in vitro differentiation of human stem cells of myogenic origin	Rozwadowska N, Kolanowski T, Wiland E, Siatkowski M, Pawlak P, Malcher A, Mietkiewski T, Olszewska M, Kurpisz M.	PloS One. 2013 Sep 3;8(9):e73231. doi: 10.1371/journal.pone.0073231. eCollection 2013.	3,534	2013	11.09.2013	10.1371/journal.pone.073231
3	Potential biomarkers of nonobstructive azoospermia identified in microarray gene expression analysis	Malcher A, Rozwadowska N, Stokowy T, Kolanowski T, Jedrejczak P, Zietkowiak W, Kurpisz M.	Fertil Steril. 2013 Dec;100(6):1686-94.e1-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.1999. Epub 2013 Sep 4.	4,295	2013	10.09.2013	10.1016/j.fertnstert.2013.07.1999
2	Successful implantation of autologous muscle-derived stem cells in treatment of faecal incontinence due to external sphincter rupture	Romaniszyn M, Rozwadowska N, Nowak M, Malcher A, Kolanowski T, Walega P, Richter P, Kurpisz M.	Int J Colorectal Dis. 2013 Jul;28(7):1035-6. doi: 10.1007/s00384-013-1692-y. Epub 2013 Apr 3.	2,415	2013	04.04.2013	10.1007/s00384-013-1692-y
1	[Induced pluripotent stem cells--perspectives of clinical application in cardiovascular diseases]	Kolanowski T, Kurpisz M.	Kardiol Pol. 2010;68 Suppl 5:S412-7.	0,5	2010	03.12.2011	

Impact factor	120,53
Cytowania	Google Scholar
h-indeks	601
	14
	Scopus
	402 (369)
	12



(pocpis wmosnowawcy)