



*Prof. dr hab. n. farm. Ewa Chabielska*  
*Zakład Biofarmacji i Radiofarmacji*  
*Uniwersytet Medyczny w Białymstoku*  
*ul. Mickiewicza 2C*  
*15-222 Białystok*  
*tel. 085 748 56 07*  
*e-mail: [ewa.chabielska@umb.edu.pl](mailto:ewa.chabielska@umb.edu.pl)*

**RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**  
**pt. „Cytoprotekcyjna rola antyoksydantów (SOD3 i PBN) wobec ludzkiej komórki**  
**mięśniowej i rezerwuaru tkankowego”**  
**wykonanej przez mgr inż. Magdalenę Nowaczyk**  
**w Instytucie Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu**

*Promotor: Prof. dr hab. n. med. Maciej Kurpisz*  
*Promotor pomocniczy: Dr n. med. Agnieszka Malcher*

**I. Wartość naukowa rozprawy**

**1. Oryginalność badań**

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w formie spójnego tematycznie zbioru prac oryginalnych. Rozprawa powstała w Zakładzie Biologii Rozrodu i Komórek Macierzystych Instytutu Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu kierowanym przez prof. dr hab. n. med. Macieja Kurpisa. Badania dotyczą realizowanych przez zespół Pana Profesora Kurpisa badań nad wykorzystaniem komórek macierzystych w regeneracji narządowej, w tym mięśnia sercowego.

Rozprawa doktorska mgr inż. Magdaleny Nowaczyk zawiera wyniki oryginalnych badań, których celem była optymalizacja warunków hodowli *in vitro* komórek macierzystych/progenitorowych pochodzących z mięśni szkieletowych człowieka (SkMDS/PCs) w celu ulepszenia ich właściwości cytoprotekcyjnych oraz proregeneracyjnych. Zastosowano oryginalne, wielotorowe podejście poprzez ingerencję w komórkowe szlaki antyoksydacyjne. Po pierwsze - uzyskano nadekspresję genu zewnątrzkomórkowej sodazy ponadtlenkowej (SOD3), którą wśród pozostałych izoform wyróżniają korzystne właściwości farmakokinetyczne i biologiczne. Po drugie - kondycjonowano hodowlę SkMDS/PCs egzogennym antyoksydantem nitronem - N-tert-butylo-alfa-fenylo-nitronem (PBN) o złożonych działaniach antyoksydacyjnych i cytoprotekcyjnych. Właściwości tak zmodyfikowanych komórek SkMDS/PCs oceniono także w warunkach niedotlenienia, odpowiadającym warunkom panującym w sercu po zawale. Zbadano ponadto, wpływ inhibicji mikroRNA-195, którego wysoka ekspresja w mięśniu sercowym koreluje z przerostem mięśnia i pogorszeniem funkcji hemodynamicznych, na proregeneracyjne właściwości SkMDS/PCs. Wyniki badań Doktorantki stanowią cenny wkład do światowej wiedzy dotyczącej wykorzystania komórek macierzystych w regeneracji mięśnia sercowego

## 2. Wartość naukowa prac

Trzy prace stanowiące podstawę ocenianej rozprawy doktorskiej ukazały się w czasopiśmie naukowych o zasięgu międzynarodowym tj. *Antioxidants* - współczynnik wpływu: 6,31 (rok 2020) i 7,67 (rok 2021) oraz *Kardiologia Polska* - współczynnik wpływu: 3,3 (rok 2022).

1. Nowaczyk M, Malcher A, Zimna A, Łabędź W, Kubaszewski Ł, Fiedorowicz K, Wierzbński K, Rozwadowska N, Kurpisz MK. Transient and stable overexpression of extracellular superoxide dismutase is positively associated with the myogenic function of human skeletal muscle-derived stem/progenitor cells. *Antioxidants* 2020;9(9),817
2. Nowaczyk M, Malcher A, Zimna A, Łabędź W, Kubaszewski Ł, Barczak W, Rubiś B, Rozwadowska N, Kurpisz MK. Addition of popular exogenous antioxidant agent, PBN, to culture media may be an important step to optimization of myogenic stem/progenitor cells preparation protocol. *Antioxidants* 2021,10(6), 959.
3. Nowaczyk M, Malcher A, Zimna A, Rozwadowska N, Kurpisz MK. Effect of miR-195 inhibition on human skeletal muscle-derived stem/progenitor cells. *Kardiologia Pol.* 2022;80(7-8):813-824.

Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich prac, a swój wkład w ich powstanie definiuje następująco: udział w koncepcji jednej z prac a we wszystkich pracach: planowanie i wykonanie znacznej części eksperymentów, przygotowanie danych do analiz statystycznych i wykonanie ich części oraz przygotowanie pierwotnych wersji manuskryptów. Powyższe aktywności są dowodem umiejętności działań Doktorantki na wielu etapach pracy naukowej.

W pierwszej pracy badano wpływ modyfikacji genetycznej komórek SkMDS/PCs na ich właściwości biologiczne *in vitro*. Uzyskano optymalną nadekspresję genu SOD3 metodą transdukcji przy użyciu wektora lentiwirusowego. Stwierdzono, że wzrost ekspresji genu SOD3 poprawia właściwości biologiczne badanych komórek tj. zdolność do formowania miotubul, a także ogranicza starzenie się komórek i apoptozę. Co więcej tak zmodyfikowane komórki wykazywały zadowalającą adaptację do warunków niedotlenienia. Bazując na uzyskanych danych Doktorantka wnioskuje, iż komórki macierzyste/progenitorowe ze zwiększoną ekspresją SOD3, pochodzące z mięśni szkieletowych człowieka, mogą być brane pod uwagę w terapii regeneracyjnej serca po zawale.

Druga praca dotyczyła szerokiej charakterystyki SkMDS/PCs kondycjonowanych w medium wzbogaconym egzogennym antyoksydantem -N-tert-butylo-alfa-fenylo-nitronem (PBN) w warunkach normoksji i niedotlenienia. W protokole prekondycjonowania komórek z PBN w warunkach hipoksji zaobserwowano między innymi wzrost do tworzenia funkcjonalnych miotubul, wzrost liczby młodych komórek oraz spadek komórek apoptotycznych, wyższe poziomy ekspresji SOD3 i wzrost długości telomerów. Uzyskane wyniki dowodzą, że kondycjonowanie PBN ludzkich SkMDS/PC może być korzystne w przygotowaniu komórek miogennych dla celów prospektywnej regeneracji serca po zawale.

W trzeciej pracy, badano efekty hamowania ekspresji mikroRNA-195 (mir-195) w komórkach SkMDS/PCs. Wykazano, że specyficzny inhibitor miR-195 poprawił potencjał proliferacyjny SkMDS/PCs (ekspresja wczesnych miogennych czynników transkrypcyjnych) i selektywnie zwiększył ekspresję genu SOD3. Nie wpłynął natomiast na proces starzenia komórek i apoptozę. Zdaniem Doktorantki hamowanie ekspresji mikroRNA-195 w procesie

kondycjonowania SkMDS/PCs może być wykorzystane w celu zwiększenia potencjału proregeneracyjnego tych komórek.

Wszystkie 3 prace są wartościowymi opracowaniami i tworzą oryginalny, dobrze zaprojektowany cykl badań dowodzący skuteczności wielk kierunkowych modyfikacji mechanizmów antyoksydacyjnych w procesie przygotowania komórek SkMDS/PCs do terapii serca pozawałowego. Wskazują też na celowości kontynuacji badań oceniających skuteczność łącznego zastosowania obu badanych modyfikacji SkMDS/PCs (transdukcja SOD3 i pre-kondycjonowanie antyoksydantem PBN w warunkach niedotlenienia) oraz badań zmian szlaków molekularnych na które oddziałuje inhibitor miR-195.

## **II. Wartość merytoryczna rozprawy doktorskiej**

Wysoko oceniam wartość merytoryczną rozprawy. Na podkreślenie zasługuje uporządkowany wywód naukowy i duża przejrzystość tekstu. W pierwszej części dysertacji Doktorantka właściwie wprowadziła w tematykę badawczą, pisząc o rodzajach komórek macierzystych i sposobach ich modyfikacji w odniesieniu do terapii kardiologicznej. Merytoryczna i odpowiednio szczegółowa jest kolejna część wstępu, w której Autorka uzasadnia strategię modyfikacji komórek będące przedmiotem Jej badań. Techniki badawcze zostały obszernie opisane w opublikowanych pracach i dowodzą, że Doktorantka sprawnie opanowała różnorodny i nowoczesny warsztat badawczy. Sposób przedstawienia wyników i ich analiza podlegały już ocenie recenzentów czasopism w których zostały opublikowane prace. Na podstawie kolejnych rozdziałów dysertacji (tj. skróconych opisów publikacji z elementami dyskusji i propozycjami kierunków dalszych badań oraz podsumowania wyników w którym Aktorka odnosi się także do aplikacyjnego znaczenia swoich badań) należy stwierdzić, że potrafi Ona analizować i umiejętnie interpretować wyniki oraz poprawnie formułować wnioski.

## **III. Poprawność redakcyjna rozprawy doktorskiej**

Rozprawa doktorska zawiera wymagane część tekstu dysertacji przygotowanej w formie zbioru artykułów. Doktorantka umieściła w rozprawie „WYKAZ SKRÓTÓW”, co umożliwi komfortowe czytanie rozprawy. Rozdział „WSTĘP” obejmuje 20 stron i jest ilustrowany autorskimi rycinami. W rozdziale „CEL ROZPRAWY”, Doktorantka przedstawia cel główny i 4 zadania badawcze służące jego realizacji. W kolejnym rozdziale „BIBLIOGRAFIA”, obejmującym 7 stron, znajduje się spis prac wykorzystanych w merytorycznym wprowadzeniu do zagadnień dysertacji. W rozdziale „PUBLIKACJE STANOWIĄCE ROZPAWE DOKTORSKA” Doktorantka omawia kolejno prace, przyjmując regułę: kopia publikacji, skrócony opis publikacji, spis udziału Doktorantki w jej tworzeniu i oświadczenia współautorów zawierające zgodę do wykorzystania publikacji w przewodzie doktorskim. W kolejnym rozdziale „PODSUMOWANIE WYNIKÓW” Doktorantka przedstawia w 4 punktach szczegółowe podsumowanie wyników i podsumowanie ogólne. Dwa kolejne rozdziały to „STRESZCZENIE” rozprawy w języku polskim i angielskim. Rozprawa jest napisana i edytowana starannie. Nieliczne usterki językowe i redakcyjne, nie zmieniają merytorycznego znaczenia tekstu.

## **IV. Podsumowanie recenzji**

Bardzo wysoko oceniam rozprawę doktorską mgr inż. Magdaleny Nowaczyk pt. „Cytoprotekcyjna rola antyoksydantów (SOD3 i PBN) wobec ludzkiej komórki mięśniowej i rezerwuaru tkankowego” Do mocnych stron rozprawy doktorskiej zaliczam: postawienie

interesujących hipotez, dobrze zaprojektowane plany badawcze, imponującą metodologię badań, nowatorskie wyniki badań oraz potencjał translacyjny badań.

Stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki określone w art. 13.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz. 595 z późn. zmianami). Wobec powyższego, zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr inż. Magdaleny Nowaczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

V. **Wniosek o wyróżnienie rozprawy**

Podkreślając wysoki poziom naukowy rozprawy wnioskuję o jej wyróżnienie.

Prof.dr hab. Ewa Chabielska

Białystok, 17 listopada 2023 roku