



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

**KATEDRA FIZJOPATOLOGII, HEMATOLOGII I TRANSPLANTACJI SZPIKU**

**ZAKŁAD PATOLOGII OGÓLNEJ**

Al. Powstańców Wlkp. 72 70-1112 Szczecin

**Kierownik: prof. dr hab. n. med. Bogusław Machaliński**

Szczecin, dnia 24 października 2023r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Moniki Żukowskiej pt. "Ageing of hematopoietic stem cells: lessons learned from Hmox1 and Neo1 research"**

Praca jest obszerną dysertacją, liczącą 140 stron, w rozdziale piśmiennictwo zawiera 346 pozycji, 3 tabele, 45 rycin. Praca napisana jest w języku angielskim, poprzedzona spisem treści, zawiera streszczenie w językach polskim i angielskim oraz wykaz ważniejszych skrótów używanych w pracy. Rozprawa, jej układ treści, układ rozdziałów oraz opracowanie graficzne są przejrzyste, starannie zredagowane zgodnie z ogólnie przyjętymi wymogami prac doktorskich. Cytowane piśmiennictwo jest adekwatne do treści, a ok. 15%, z ogólnej liczby ujętych referencji, opublikowana została w ciągu ostatnich pięciu lat.

We wstępie liczącym 30 stron mgr Monika Żukowska komunikatywnie i jasno przedstawiła hierarchię krwiotwórczych komórek macierzystych oraz przebieg fizjologicznej hematopoezy. Wspomniała o dostępnych modelach zwierzęcych umożliwiających bardziej dogłębną analizę różnic w fenotypie poszczególnych populacji najwcześniejszych komórek krwiotwórczych. Szeroko scharakteryzowała procesy starzenia się układu krwiotwórczego uwzględniając opisane dotychczas molekularne aspekty tego zjawiska na poziomie subkomórkowym. Zdefiniowała i opisała ponadto rolę hemooksygenazy-1 w rozwoju i regulacji układu krwiotwórczego. Wstęp stanowi interesujący i szeroko ujęty przegląd informacji obejmujący aktualny stan wiedzy na temat hematopoezy i patofizjologii procesów starzenia układu krwiotwórczego.

Jako główny cel Doktorantka postawiła sobie określenie mechanizmów odpowiedzialnych za starzenie się krwiotwórczych komórek macierzystych (ang. HSCs), w szczególności dotyczących roli hemooksygnazy-1 w wewnątrzpochodnej regulacji cyklu komórkowego oraz różnicowania HSCs, jak również zdefiniowania markerów i zmian związanych ze starzeniem w populacji komórek LT-HSCs.

Starzenie się ludzkiego organizmu jest zjawiskiem fizjologicznym, któremu towarzyszą systemowe zmiany ekspresji genów zarówno w ujęciu globalnym, jak i systemowym. Wskazuje się, że przewidywana długość życia, zależna od potencjału komórek macierzystych, mogłaby być znacząco większa niż obrazują to aktualne dane statystyczne w skali świata. Pojawiają się doniesienia, że kluczową rolę może w tym aspekcie odgrywać tzw. wiek immunologiczny, który uwarunkowany jest utrzymaniem homeostazy układu krwiotwórczego, w tym kluczowej populacji w całym 'drzewie' rozwojowym procesy hematopoezy jaką stanowią krwiotwórcze komórki macierzyste. Pomimo dużego postępu jaki dokonał się, głównie w dynamicznym pogłębianiu wiedzy dotyczącej podstaw molekularnych zawiadujących procesami starzenia HSCs, wciąż napotyka się problemy z precyzyjnym zdefiniowaniem nie tylko ich poszczególnych subpopulacji ale również konkretnych mechanizmów odpowiadających za starzenie. Podejmowane są zatem badania, mające na celu dogłębne poznanie całego podłoża genetyczno-epigenetycznego leżącego u podstaw zjawisk fizjologicznych i patofizjologicznych towarzyszącym rozwojowi i starzeniu się HSCs. Szczególnie interesujący, z punktu widzenia poznawczego, jest obszar regulacji ekspresji genów odpowiedzialnych za prawidłowy przebieg cyklu komórkowego, strzegący także przed możliwym powieleniem defektów genetycznych, co w następstwie mogłoby prowadzić do nowotworzenia.

W świetle tego zadanie, jakiego podjęła się Doktorantka, ukazuje się jako niezwykle aktualne i pożądane zarówno dla naukowca jak i klinicysty. Badania, które przyczyniają się do dogłębnego poznania mechanizmów molekularnych i patofizjologicznych leżących u podstaw starzenia się komórek krwiotwórczych, zwłaszcza w obszarze komórek macierzystych, mogą mieć bowiem ważne przełożenie na praktykę kliniczną.

Badania eksperymentalne Doktorantka przeprowadziła w warunkach *in vitro*, i *in vivo* w dobrze zdefiniowanych modelach badawczych, z użyciem hodowli komórkowych, immunocyto- i histochemii, inżynierii genetycznej, szerokiej gamy badań molekularnych i proteomicznych. Szczególną uwagę zwraca szeroka, bogata i



wyczerpująca analiza funkcjonalna, immunocyto- i histochemiczna oraz molekularna komórek na wszystkich kluczowych etapach przeprowadzonych badań. Przyjęte modele zwierzęce i przeprowadzone procedury transplantacyjne w sposób przekonujący spinają poszczególne protokoły komórkowe w logiczną, merytoryczną całość. Na podkreślenie zasługuje spójność i logika przeprowadzonych kolejnych doświadczeń oraz ogromny wkład pracy włożony w realizację projektu.

W badaniach *ex vivo* komórki inkubowane były w 21% tlenie atmosferycznym. Chciałbym poznać jednak zdanie Doktorantki na temat tzw. niskich warunków tlenowych (np. 5%) panujących *de facto* w tkankach, co znacząco przybliżyłoby warunki eksperymentalne do panujących w żywym organizmie. Jeśli warunki tlenowe w przeprowadzanych hodowlach wynosiły 21% to w jakim stopniu, zdaniem Doktorantki, wyniki mogłyby różnić się od tych uzyskanych w warunkach „niskiego tlenu”. Poproszę o komentarz.

W całości, wybrane przez Doktorantkę metody spełniają kryteria adekwatnie dobranych, nowoczesnych narzędzi badawczych do realizacji postawionych sobie celów.

Wyniki przedstawiono w postaci tabel, rycin oraz dokładnie omówiono w tekście. Należy raz jeszcze podkreślić niezwykle szeroką i interesującą gamę zastosowanych technik badawczych w celu uzyskania wiarygodnych wyników, które następnie w dyskusji porównano w sposób krytyczny z tymi, które do tej pory uzyskali inni badacze. Dyskusja uzyskanych przez Doktorantkę wyników jest napisana w sposób logiczny i dojrzały, stanowiąc interesującą i mocną stronę dysertacji.

Na podstawie bardzo dobrze zaprojektowanych, szeroko zakrojonych i niezwykle starannie wykonanych badań Doktorantka scharakteryzowała na poziomie molekularnym konstelację zmian, obejmującą szerokie spektrum zróżnicowanej ekspresji genów, związaną ze starzeniem w populacji najwcześniejszych komórek krwiotwórczych. Przedstawione w dysertacji wyniki dają podstawę do dalszych badań przedklinicznych i klinicznych ukierunkowanych na precyzyjne zdefiniowanie fenotypu badanych subpopulacji oraz wszystkich, niewyjaśnionych jeszcze mechanizmów regulujących procesy starzenia HSCs.

Reasumując, jest to bardzo dobrze wykonana, nowoczesna praca badawcza dająca ważne, praktyczne obserwacje dla naukowców zajmujących się patofizjologią krwiotworzenia. Wykonana jest z użyciem dobrze wystandaryzowanych metod badawczych, gwarantujących rzetelność przedstawionych wniosków. W związku z

powyższym Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne UJ przedkładam wniosek o dopuszczenie mgr Monikę Żukowską do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Rozprawa doktorska spełnia bowiem warunki określone w art. 13 Ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. nr 65, poz. 595; z późn. zmianami). Z uwagi na nowatorski charakter badań, wysoką wartość poznawczą oraz staranność i kompleksowość opracowania, pragnę zwrócić się z prośbą o wyróżnienie pracy.

Z poważaniem

KIEROWNIK  
Katedry Patologii Ogólnej  
Katedry Fizjopatologii

  
Prof. dr hab. med. Bogusław Machaliński

Bogusław Machaliński