



Prof. dr hab. n. med. Edyta Paczkowska
Zakład Patologii Ogólnej
Katedra Fizjopatologii, Hematologii i Transplantologii
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
ul. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
tel. 91 466 1546, fax. 91 466 1548

Szczecin, 18.04.2023 r.

RECENZJA

Dorobku naukowo-badawczego, osiągnięć w zakresie działalności dydaktyczno-organizacyjnej dr n. roln. Joanny Wiśniewskiej w postępowaniu habilitacyjnym.

Niniejsza recenzja sporządzona została w związku z uchwałą nr 7/2024 Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne z dnia 29 lutego 2024 r. w sprawie zmiany uchwały nr 54/2023 Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne z 19 października 2023 r. w sprawie powołania komisji habilitacyjnej w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego Pani dr Joannie Wiśniewskiej w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego dr n. roln. Joanny Wiśniewskiej.

I. Dane osobowe oraz rozwój naukowy i zawodowy

Dr n. roln. Joanna Wiśniewska w ukończyła jednolite studia magisterskie ze specjalizacją biotechnologia, na Wydziale Biologii i Biotechnologii (poprzednio Wydział Biologii) Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Uzyskała stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie na podstawie rozprawy „Rola hormonów steroidowych i szlaku Wnt w procesach samoodnowy i różnicowania komórek macierzystych w błonie śluzowej macicy świni” pod przewodnictwem promotora, prof. dr hab. n. med. Barbary Gawrońskiej-Kozak.

Od 2015 r. pracuje na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biologicznych Funkcji Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Poprzednio w latach 2009 – 2015 pracowała jako technolog w Laboratorium In Vitro i Biotechnologii

Komórki (aktualnie Laboratorium Analizy i Obrazowania Komórek i Tkanek), Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. A w latach 2008 – 2009 zatrudniona była jako technolog w Katedrze Podstawowych Nauk Medycznych, Wydział Nauk Medycznych, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

II. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych

Ocena osiągnięcia naukowego nr 1 zatytułowanego „**Udział komórek macierzystych tkanki tłuszczowej świni w usprawnianiu procesu gojenia ran skórnych myszy**”, składającego się z 4 artykułów naukowych znajdujących się na liście filadelfijskiej.

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe składa się z 4 oryginalnych prac pełnotekstowych:

1. Bukowska J, Słowińska M, Cierniak P, Kopcewicz M, Walendzik K, Frazier T, Gawrońska-Kozak B. The effect of hypoxia on the proteomic signature of pig adipose-derived stromal/stem cells (pASCs). *Scientific Reports* 2020; 10(1):20035; doi:10.1038/s41598-020-76796-7.
(IF2020=4,380; MNiSW/MEiN2020=140; liczba cytowań wg WoS =7).
2. Wiśniewska J, Słyszewska M, Stańkowska K, Walendzik K, Kopcewicz M, Machcińska S, Gawrońska-Kozak B. Effect of Pig-Adipose-Derived Stem Cells' Conditioned Media on Skin Wound-Healing Characteristics In Vitro. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22(11):5469; doi:10.3390/ijms22115469.
(IF2021=6,208; MNiSW/MEiN2021=140; liczba cytowań wg WoS =3).
3. Wiśniewska J, Słyszewska M, Kopcewicz M, Walendzik K, Machcińska S, Stańkowska K, Gawrońska-Kozak B. Comparative studies on the effect of pig adipose-derived stem cells (pASCs) preconditioned with hypoxia or normoxia on skin wound healing in mice. *Experimental Cell Research* 2022;418(1):113263; doi: 10.1016/j.yexcr.2022.113263.
(IF2021=4,145; MNiSW/MEiN2021=100; liczba cytowań wg WoS =0).
4. Bukowska J, Szóstek-Mioduchowska AZ, Kopcewicz M, Walendzik K, Machcińska S, Gawrońska-Kozak B. Adipose-Derived Stromal/Stem Cells from Large Animal Models: from Basic to Applied Science. *Stem Cell Reviews and Reports* 2021; 17(3):719-738. doi: 10.1007/s12015-020-10049-y. Praca przeglądowa.
(IF2021=6,692; MNiSW/MEiN2021=100; liczba cytowań wg WoS =10).

Cykl prac zrealizowano w ramach projektu badawczego pt. „Udział stymulowanych hipoksją mezenchymalnych komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ang. Adipose Stem Cells; ASCs) w aktywacji regeneracyjnych (bezbliźnowych) szlaków gojenia urazów skóry” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN) w ramach konkursu SONATA 13, nr projektu 2017/26/D/NZ5/00556 (2018-2022), kierownik projektu: dr Joanna Wiśniewska.

Cykl prac Habilitantki jest tematycznie związany z charakterystyką ASCs i ich działaniem w zakresie gojenia ran skóry. Celem prac osiągnięcia naukowego było określenie wpływu hipoksji

(1% O₂) na proteom oraz cechy funkcjonalne komórek macierzystych wyizolowanych z tkanki tłuszczowej świni (pASCs). Ponadto, zbadanie składu sekretomu pASCs oraz jego bioaktywność w odniesieniu do (i) cech funkcjonalnych komórek skóry, (ii) ekspresji keratyn, (iii) składników ECM, oraz (iv) markerów procesu gojenia in vitro. Kolejnym celem było zbadanie wpływu śródskórnego podania pASCs do ran na przebieg oraz efekt procesu gojenia ran skórnych na modelu mysim.

Dokonana przez Habilitantkę analiza proteomu pASCs wykazała, iż hipoksja (1% O₂) wpływa na profil białek pASCs, modulując m.in. ekspresję białek związanych z biosyntezą i strukturą włókien kolagenu oraz białek cytoszkieletu komórek, które powiązane są z procesami komórkowymi zachodzącymi w trakcie gojenia skóry. Habilitantka wykazała, iż suplementacja hodowli komórek śródbłonna naczyń stymulowanym hipoksją medium, bogatym w VEGF promuje zarówno rozwój i przetrwanie struktur przestrzennych in vitro, wskazując na właściwości proangiogenne sekretomu pASCs rozwijane pod wpływem działania hipoksji. Ponadto, sekretom zawarty w medium, pochodzącym z hodowli pASCs reguluje cechy funkcjonalne komórek skóry in vitro w sposób zależny od rodzaju komórek tj. stymuluje migrację keratynocytów, zaś hamuje migrację fibroblastów skóry (ang. dermal fibroblasts, DF), ale również w sposób częściowo zależny od typu sekretomu stymulowanego warunkami hodowli.

Wpływ pASCs na szlak Wnt w zależności od typu komórek oraz współdziałania kondycjonowania został również oceniony. Wyniki świadczą o działaniu sekretomu pASCs pod wpływem hipoksji, przeciwdziałającym tworzeniu blizny, stwarzając perspektywę na terapeutyczne zastosowanie pASC w przyszłości. Kolejny temat to analiza obszaru łożyska rany i ekspresja wybranych cytokin w skórze myszy, działania pASCs i jego charakter w tym działaniu przeciwdziałające tworzeniu blizny i sprzyjające temu procesowi. Na podstawie badań w tym obszarze Habilitantka opracowała kompendium wiedzy w zakresie charakterystyki ASCs, badań modelowych oraz zastosowania klinicznego ASCs u przedstawicieli dużych zwierząt gospodarskich.

Podsumowując, za najważniejsze elementy prac cyklu wskazanego jako osiągnięcie 1 wskazano scharakteryzowanie proteomu oraz cech funkcjonalnych pASCs. W badaniach in vitro wykazano, że pASCs są wielopotencjalnymi, zdolnymi do samoodtwarzania komórkami o cechach i markerach macierzystości tożsamych z tymi, które potwierdzono dla ASCs

pochodzących od innych gatunków zwierząt oraz od człowieka. Hipoksja (1% O₂) wpływa na profil białek pASCs, których funkcje związane są z: (i) adaptacją komórek do warunków obniżonego stężenia tlenu, (ii) biosyntezą i strukturą włókien kolagenu typu I, będącego białkiem o istotnym znaczeniu dla procesu gojenia ran (główny składnik blizny); (iii) adhezją, komunikacją międzykomórkową, oddziaływaniami komórek z ECM, możliwością skurczu. Na poziomie funkcjonalnym warunki hipoksji sprzyjają nabywaniu przez pASCs zdolności, które umożliwiającą szybkie zamykanie rany. W zakresie sekretom pASCs (badania in vitro) wykazano, że w sekretomie pASCs znajdują się czynniki (VEGF, bFGF, MCP-1), a hipoksja (1% O₂) powoduje wzrost sekrecji VEGF. Sekretom pASCs reguluje cechy funkcjonalne komórek skóry in vitro w sposób zależny od rodzaju komórek, tj. stymuluje migrację keratynocytów, zaś hamuje migrację fibroblastów. Sekretom pASCs, promuje samoodnowę naskórka, poprzez stymulację ekspresji mRNA KRT 14 w keratynocytach przy jednoczesnym ograniczaniu ekspresji markerów różnicowania keratynocytów (KRT 1, 10 oraz IVL). Przeanalizowano wpływ przeciwdziałający tworzeniu blizny medium z hodowlach poddanych hipoksji. Stwierdzono, że wpływ sekretom pASCs na wybrane ligandy szlaku Wnt różni się w zależności od typu komórek.

Habilitantka oceniła wpływ pASCs na proces gojenia ran skórnych i stwierdziła, m.in. że pASCs-Hyp usprawniają proces gojenia ran poprzez (i) stymulację odbudowy naskórka w ranie, (ii) zwiększenie stężenia VEGF-A (stymulacja angiogenezy), (iii) obniżenie poziomu mRNA probliznowego Tgfβ1. Wykazała, że pASCs, w szczególności pASCs-Hyp, stymulują poziom kwasu hialuronowego, stwarzając w ranie warunki sprzyjające gojeniu regeneracyjnemu.

Habilitantka podsumowała kliniczne zastosowania ASCs na podstawie przeglądu literatury. Cechy funkcjonalne oraz właściwości immunosupresyjne predysponują zwierzęce ASCs do zastosowania w medycynie regeneracyjnej u zwierząt. Prezentowane w dostępnej literaturze badania eksperymentalne oparte na modelach dużych zwierząt wykazują efekt terapeutyczny związany z wykorzystaniem auto – i/lub allogenicznych ASCs w tym w terapii urazów skóry. W praktyce weterynaryjnej ASCs znalazły zastosowanie w leczeniu chorób ścięgien u koni.

Przedstawione w osiągnięciu nr 1 badania są pierwszymi, które (i) weryfikują wpływ hipoksji na cechy funkcjonalne, proteom oraz sekretom pASC; (ii) walidują potencjał pASC do realizowania celów terapeutycznych związanych z usprawnianiu procesu gojenia ran skóry; (iii) przedstawiają kompleksową analizę właściwości biologicznych pASCs, począwszy od

charakterystyki in vitro na poziomach funkcjonalnym oraz molekularnym, kończąc na weryfikacji kierunku działania w doświadczeniu in vivo.

Osiągnięcie naukowe nr 2 pod tytułem „Czynnik transkrypcyjny Foxn1, Tgfβ oraz Wnt w procesie gojenia ran skórnych myszy” tworzy cykl dwóch następujących publikacji:

1. Bukowska J, Kopcewicz M, Kur-Piotrowska A, Szóstek-Mioduchowska A, Walendzik K, Gawrońska-Kozak B. Effect of TGFβ1, TGFβ3 and keratinocyte conditioned media on functional characteristics of dermal fibroblasts derived from reparative (Balb/c) and regenerative (Foxn1 deficient; nude) mouse models. *Cell and Tissue Research* 2018; 74(1):149-163. doi:10.1007/s00441-018-2836-8.
(IF2018=3,360; MNiSW/MEiN2019 = 70; liczba cytowań wg WoS =18)
2. Bukowska J, Walendzik K, Kopcewicz M, Cierniak P, Gawrońska-Kozak B. Wnt signaling and the transcription factor Foxn1 contribute to cutaneous wound repair in mice. *Connective Tissue Research* 2021; 62(2):238-248. doi:10.1080/03008207.2019.1688314.
(IF2021=3,342; MNiSW/MEiN 2021=70; liczba cytowań wg WoS =11)

Dla cyklu publikacji: sumaryczny IF na podstawie JCR: 6,702, sumaryczna liczba punktów MNiSW/MEiN: 140.

Prace finansowane były w ramach projektów badawczych: „Homeostaza skóry jako efekt współdziałania czynnika FOXN1 oraz ścieżek sygnałowych TGFβ i Wnt/β-kateniny”, finansowanie przez Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący (KNOW) oraz „Udział stymulowalnych hipoksją mezenchymalnych komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (Adipose Stem Cells; ASCs) w aktywacji regeneracyjnych (bezbliznowych) szlaków gojenia urazów skóry” finansowanie przez NCN, w ramach konkursu SONATA 13. W obu kierownikiem była dr Joanna Wiśniewska.

Rezultaty tych badań uzupełniły dotychczasowy stan wiedzy odnośnie specyfiki fibroblastów skóry charakterystycznych dla dwóch przeciwstawnych typów gojenia: reperacja vs regeneracja, dowodząc jednocześnie, że wpływ naskórkowego czynnika transkrypcyjnego Foxn1 nie ogranicza się jedynie do miejsca jego ekspresji (naskórek), lecz oddziałuje na komórki znajdujące się w warstwie skóry właściwej. Habilitantka wykazała, że wrażliwość DF na działanie Tgfβ różni się w zależności od pochodzenia komórek, a DF Foxn1-/- są szczególnie podatne na działanie proregeneracyjnej izoformy Tgfβ3. Dalsze badania pozwoliły na uzyskanie danych wskazujących na to, że w komunikacji pomiędzy komórkami skóry: keratynocytami oraz DF, udział bierze czynnik transkrypcyjny Foxn1, zaś jednym z rezultatów

tych oddziaływań jest regulacja czynników związanych bezpośrednio z procesem gojenia ran. Wykazanie hamującego wpływu Foxn1 na syntezę i sekrecję Col3a1 dostarcza dowodów na zaangażowanie Foxn1 w proces bliznowego gojenia ran skórnych. W kolejnej publikacji Habilitantka wykazała, iż obecność Wnt10a, Wnt11 i β -kateniny w pourazowej skórze oraz ich koekspresja z czynnikiem Foxn1 mogą wspólnie determinować bliznowy typ gojenia ran skórnych na modelu mysim.

III. Ocena pozostałej aktywności naukowo-badawczej

Analizując, działalność naukowo-badawczą Habilitantki, można stwierdzić, że związana ona była z realizacją projektów, bogatą współpracą oraz stażami, w tym zagranicznymi. Przed uzyskaniem stopnia doktora pozostała w kręgu zainteresowań dotyczących komórek macierzystych, konkretnie komórek macierzystych błony śluzowej (endometrium) macicy świni oraz procesami odbudowy, naprawy i regeneracji tkanek ze szczególnym uwzględnieniem roli komórek macierzystych w tych procesach. Było to związane z pracą w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie (2009 r.). Urzeczywistnienie planów badawczych umożliwiło finansowanie z NCN w ramach konkursu Preludium 3 (nr rej. 2012/05/N/NZ9/02388) pt. „Rola hormonów steroidowych i szlaków Wnt w procesach samoodnowy i różnicowania się komórek macierzystych w endometrium macicy świni”. Badania, jedne z pierwszych, wykazały (i) obecność mezenchymalnych komórek macierzystych (Mesenchymal Stem Cells; MSCs) w tkankach rozrodczych świni; (ii) przedstawiły charakterystykę MSCs oraz wskazały ich możliwy udział w regeneracji endometrium; (iii) wykazały stymulujący wpływ progesteronu na proces różnicowania MSCs, (iv) udokumentowały, iż szlak Wnt/ β -katenina reguluje funkcje MSCs. Co pozwoliło na opracowanie i obronę w roku 2015 rozprawy doktorskiej pt. „Rola hormonów steroidowych i szlaku Wnt w procesach samoodnowy i różnicowania komórek macierzystych w błonie śluzowej macicy świni”, promotorem pracy była prof. dr hab. n. med. Barbara Gawrońska-Kozak.

W 2012 r. czteromiesięczny staż naukowy na Wydziale Fizjologii w Instytucie Biomedycyny Uniwersytetu w Turku w Finlandii, pod opieką naukową dr hab. Nafisa Rahmana, pozwolił na uczestniczenie w badaniach opartych na mysim modelu nadekspresji czynnika transkrypcyjnego GATA4 w celu określenia jego roli w rozwoju zmian neoplastycznych.

Współpracując z dr hab. Mariolą Słowińską z Zakładu Gamet i Zarodka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie Habilitantka uczestniczyła w pionierskich badaniach, gdzie po raz pierwszy wykazano obecność i rolę biologiczną inhibitorów z rodziny Kazala w nasieniu indora.

W trakcie swojej kariery, po uzyskaniu stopnia doktora, Habilitantka zajęła się badaniami wraz z zespołem Biologii Regeneracyjnej dotyczącymi procesu gojenia urazów skóry oraz roli czynnika transkrypcyjnego Foxn1 w tym procesie. Znaczenie czynnika transkrypcyjnego Foxn1 w rozwoju skóry oraz w procesie gojenia ran opisała w dwóch pracach przeglądowych. Ponadto, brała udział w opracowaniu dwóch rozdziałów książkowych obejmujących tematykę związaną z procesem gojenia ran, fenomenem regeneracji i udziałem komórek macierzystych tkanki tłuszczowej w naprawie uszkodzonej skóry oraz znaczeniem w potencjalnej terapii

Wraz z Zespołem Biologii Regeneracyjnej we współpracy z prof. Marii van de Vyver z Wydziału Medycyny Uniwersytetu Stellenbosch w Cape Town (Afryka Południowa) oraz zespołem prof. Jeffrey M. Gimble z Uniwersytetu Tulane w Nowym Orleanie, USA, uczestniczyła w opracowaniu punktowego systemu oceny procesu gojenia ran skórnych u myszy laboratoryjnych. System ten stanowi, jak dotąd, jedyne w dostępnej literaturze narzędzie, dzięki któremu możliwa jest wieloparametrowa, a zarazem jednolita i wystandaryzowana analiza procesu gojenia ran, mogąca służyć wszystkim badaczom w obszarze gojenia urazów skórnych.

Kontynuując współpracę z dr hab. Mariolą Słowińską z Zakładu Biologii Gamet i Zarodka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie brała udział w badaniach transkryptomicznych układu rozrodczego samca i samicy indyka. Opisano molekularne podstawy spermatogenezy, spermogenezy oraz pozajądrowego dojrzewania plemników w najądrzu i nasieniowodzie, funkcje genów podlegających alternatywnemu splicingowi oraz cząsteczek niekodującego RNA w procesie spermatogenezy i nabywaniu ruchliwości przez plemniki. Opublikowano wyniki prac nad transkryptomem i proteomem wewnętrznej osłonki witelinowej oocyty indyczki, wskazując na kluczowe procesy zachodzące w dojrzałym oocyście, tuż przed zapłodnieniem.

Podsumowując dorobek naukowy, Habilitantka była kierownikiem 3 projektów badawczo-naukowych oraz wykonawcą w 6 projektach. Odbyła 2 staże zagraniczne i 1 krajowy. Jest recenzentem w wielu czasopismach naukowych. Ponadto, dorobek naukowy Habilitantki

zgodnie z przedstawionym wykazem osiągnięć obejmuje: 37 artykułów naukowych, autorstwo 3 rozdziałów w monografiach naukowych oraz liczne doniesienia zjazdowe. Sumaryczny Impact Factor (wg JCR) prac wynosi 153,407, liczba punktów MNiSW – 4000, wskaźnik Hirscha – 11. Liczba cytowań z bazy Web of Science bez autocytowań – 240.

IV. Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne oraz popularyzujące naukę

Habilitantka wykazała się również aktywnością dydaktyczną. Prowadziła wykłady dla studentów szkoły doktorskiej, studentów pierwszego i drugiego stopnia studiów magisterskich. Była promotorem pracy magisterskiej, opiekunem staży naukowych oraz promotorem pomocniczym prac doktorskiej. W zakresie aktywności organizacyjnej można wskazać, że była członkiem komitetów naukowo-organizacyjnych konferencji popularnonaukowych, organizowała seminaria naukowe, jest członkiem Komisji Nauk o Życiu, Oddział PAN w Olsztynie i w Białymstoku z siedzibą w Olsztynie, była sekretarzem tejże komisji. Udzielała się w obszarze popularyzacji nauki poprzez udział w audycjach radiowych, telewizyjnych, autorstwo artykułów prasowych, udział w Rodzinnych Piknikach PAN.

W swoich innych osiągnięciach wskazała, że ukończyła liczne szkolenia i warsztaty doskonalące umiejętności i kompetencje naukowo-badawcze, w tym poszerzające spektrum działalności w zakresie używania metod badawczych. Warto podkreślić, że jest laureatką wielu nagród i wyróżnień, m.in. za ustną prezentację, rozprawę doktorską. Jest laureatką stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców (2021 r.), laureatką zbiorowej Nagrody Marszałka województwa warmińsko-mazurskiego Laur „Najlepszym z Najlepszych” w kategorii „Społeczeństwo, Nauka i Kultura” przyznanej zespołowi badawczemu prof. dr hab. n. med. Barbary Gawrońskiej-Kozak za osiągnięcia, laureatką programu stypendialnego.

Podsumowanie

Stwierdzam, że osiągnięcia naukowe dr n. roln. Joanny Wiśniewskiej jak i jej dokonania dydaktyczne, organizacyjne i popularyzujące naukę świadczą o jej rzetelnym zaangażowaniu w pracę naukową i przyczyniają się do poszerzenia naszej wiedzy w wybranym przez Habilitantkę obszarze badawczym.

Reasumując, całościowy dorobek dr n. roln. Joanny Wiśniewskiej stanowi znaczący wkład do rozwoju nauki i odpowiada kryteriom stawianym przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego określonym w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Z wyżej wymienionych powodów mam zaszczyt przedłożyć Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wniosek popierający nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne i wnioskuję o dopuszczenie dr n. roln. Joanny Wiśniewskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Adyta Parulski".

