



Prof. dr hab. Michał Pikuła
Zastępca Dyrektora Pierwszej Szkoły Doktorskiej GUMed
Pracownia Inżynierii Tkankowej i Medycyny Regeneracyjnej
Zakład Embriologii, Katedra Anatomii, Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny (GUMed)
ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk, bud. CBM, pok. 162
tel. 58 3491368 (bezp.); 58 3491495 (sekretariat)
e-mail: pikula@gumed.edu.pl
www.informator.gumed.edu.pl/339c105

Gdańsk, 21.06.2021

Recenzja w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Pani dr n. biol. Agnieszki Śmieszek.

Podstawę opracowania niniejszej recenzji stanowił wniosek Pani dr Agnieszki Śmieszek, kopia dyplomu doktora nauk biologicznych, autoreferat, wykaz i dokumentacja osiągnięć naukowych, w tym kopia 6 publikacji naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe. Recenzja została sporządzona na podstawie uchwały Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 20 kwietnia 2021 r. (nr 35.2021.NB) oraz ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce.

Sylwetka habilitantki

Pani dr Agnieszka Śmieszek ukończyła w 2005 r. studia na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Akademii Rolniczej we Wrocławiu (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu) i uzyskała tytuł magistra biologii (specjalność biologia stosowana). Tytuł pracy magisterskiej: „Badanie aktywności komórek prekursorowych osteoklastów pochodzących z krwi obwodowej różnych gatunków zwierząt”. W 2012 roku Pani dr Agnieszka Śmieszek uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu. Promotorem pracy doktorskiej pod tytułem „Białka morfogenetyczne kości jako czynniki stabilizujące chondrocyty do przeszczepów autologicznych poprzez mechanizm autokrynnej regulacji” był Pan prof. dr hab. Jan Kuryszko a promotorem pomocniczym Pani dr Iwona Ewa Kochanowska. Dr Śmieszek w latach 2006-2011 była związana z Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Habilitantka w latach 2012-2015 oraz 2017-2018 była zatrudniona we Wrocławskim Centrum Badań EIT+. W roku 2017 Pani dr Śmieszek odbyła staż w Laboratorium Ekspresji Genów (BIOCEV, Czechy). Pani dr Agnieszka Śmieszek od 2017 roku do chwili obecnej pracuje jako adiunkt badawczo-dydaktyczny w Katedrze Biologii Eksperymentalnej Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.



Ocena merytoryczna osiągnięć naukowych

Pani dr Śmieszek przedstawiła osiągnięcie naukowe pod tytułem „Badania nad metforminą jako czynnikiem modulującym aktywność proliferacyjną, żywotność i zdolność do różnicowania się komórek progenitorowych”. W skład osiągnięcia naukowego wchodzi 6 oryginalnych publikacji naukowych z listy JCR o łącznym wskaźniku IF wynoszącym 20,388 i liczbie punktów MNSW 260. Łączna liczba cytowań tych publikacji wynosiła 42 (na dzień 02.12.2020 wg bazy Web of Science). Habilitantka we wszystkich tych pracach jest pierwszym Autorem, a w pięciu z nich także Autorem korespondencyjnym. Na podstawie dołączonych oświadczeń współautorów można stwierdzić, iż udział Habilitantki we wszystkich pracach był kluczowy. Pani dr Śmieszek brała udział w tworzeniu koncepcji pracy, planowaniu doświadczeń, wykonywaniu części doświadczeń (głównie z zakresu badań *in vitro*), analizie i interpretacji wyników, przygotowywaniu manuskryptów, korespondencji z Czasopismami.

Habilitantka do wniosku załączyła kopie sześciu oryginalnych prac stanowiących osiągnięcie naukowe (P1-P6).

1. Effect of metformin on viability, morphology, and ultrastructure of mouse bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells and Balb/3T3 embryonic fibroblast cell line. Śmieszek A, Czyrek A, Basinska K, Trynda J, Skaradzińska A, Siudzińska A, Marędziak M, Marycz K. Biomed Res Int. 2015;2015:769402. IF=2,134.
2. In vitro and in vivo effects of metformin on osteopontin expression in mice Adipose-derived multipotent stromal cells and adipose tissue. Śmieszek A, Basińska K, Chrzastek K, Marycz K. J Diabetes Res. 2015;2015:814896. IF=2,431.
3. Antioxidant and anti-senescence effect of metformin on mouse olfactory ensheathing cells (mOECs) may be associated with increased brain-derived neurotrophic factor levels- an ex vivo study. Śmieszek A, Stręk Z, Kornicka K, Grzesiak J, Weiss C, Marycz K.. Int J Mol Sci. 2017 Apr 20;18(4):872. doi: 10.3390/ijms18040872. IF=3,687.
4. Enhanced cytocompatibility and osteoinductive properties of sol-gel-derived silica/zirconium dioxide coatings by metformin functionalization. Śmieszek A, Szydłarska J, Mucha A, Chrapiec M, Marycz K. J Biomater Appl. 2017 Nov;32(5):570-586. IF=2,082.
5. Metformin promotes osteogenic differentiation of adipose-derived stromal cells and exerts pro-osteogenic effect stimulating bone regeneration. Smieszek A, Tomaszewski KA, Kornicka K, Marycz K. J Clin Med. 2018 Nov 26;7(12):482. IF=5,688.
6. Metformin increases proliferative activity and viability of multipotent stromal stem cells isolated from adipose tissue derived from horses with equine metabolic syndrome. Smieszek A, Kornicka K, Szłapka-Kosarzewska J, Androvic P, Valihrach L, Langerova L, Rohlova E, Kubista M, Marycz K. Cells. 2019 Jan 22;8(2):80. IF=4,366.



Pani dr Agnieszka Śmieszek za cel swoich badań naukowych i publikacji wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego, postawiła sobie ocenę wpływu metforminy na parametry biologiczne komórek progenitorowych oraz jej potencjał proregeneracyjny w układach *in vitro* oraz *in vivo*.

Metformina stanowiąca bardzo popularny lek podawany pacjentom z cukrzycą posiada działanie plejotropowe, które aktualnie jest przedmiotem intensywnych badań w wielu ośrodkach na świecie. Podjęta przez Habilitantkę tematyka jest niezwykle ciekawa i ważna zarówno z punktu widzenia nauk podstawowych, jak również klinicznych. W wyniku badań dr Śmieszek, metformina została scharakteryzowana jako czynnik regulujący aktywność wydzielniczą komórek progenitorowych oraz czynnik wspomagający procesy regeneracyjne w modelach przedklinicznych. Metformina może także posłużyć do wytwarzania i opracowywania nowych biomateriałów do zastosowań w inżynierii tkankowej i medycynie regeneracyjnej.

W pierwszej pracy (P1) Habilitantka badała wpływ metforminy *in vitro* na mysie komórki macierzyste mezenchymalne izolowane ze szpiku oraz na mysie fibroblasty. Autorka wykazała że metformina (w stężeniu 1 mM, 5 mM, 10 mM) wpływa na proliferację komórek *in vitro* a także tworzenie autofagosomów oraz ciałek apoptotycznych. Dodatkowo w pracy oceniano ekspresję wybranych genów oraz poziom czynnika wzrostu IGF-2. Przeprowadzono również pełną analizę immunofenotypową komórek macierzystych stanowiących model badawczy *in vitro*. Na szczególną uwagę zasługują analizy i zdjęcia przedstawiające ultrastrukturę komórek macierzystych po stymulacji metforminą. Co ważne, w pracy wykazano m.in. hamujący wpływ metforminy na proliferację komórek *in vitro* przy czym obserwowane efekty były zależne od dawki i czasu inkubacji. W drugiej pracy (P2) Autorzy przedstawili wpływ metforminy (1 mM, 5 mM, 10 mM) na morfologię, ultrastrukturę i potencjał proliferacyjny mysich macierzystych komórek mezenchymalnych izolowanych z tkanki tłuszczowej. W pracy oceniono również wpływ metforminy na metabolizm tkanki tłuszczowej. Co istotne, wykazano zahamowanie wytwarzania osteopontyny (OPN) pod wpływem metforminy. W kolejnych publikacjach rozwijano badania wpływu metforminy na komórki *in vitro* oraz *in vivo*. W pracy trzeciej wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego (P3) Habilitantka wykazała antyoksydacyjne oraz senolityczne działanie metforminy wobec mysich glejowych komórek progenitorowych. Habilitantka w kolejnej pracy (P4) przeprowadziła dokładną analizę właściwości fizykochemicznych biomateriałów funkcjonalizowanych metforminą. Co ważne wykazano, że metformina stymuluje adhezję i proliferację komórek do badanego biomateriału. Badania te wykonano na modelu ludzkich komórek macierzystych tkanki tłuszczowej pochodzących z tkanki podskórnej. Do doświadczeń użyto „pulowanych” komórek, przeprowadzając pełną analizę fenotypu i potencjału do różnicowania tych komórek. Habilitantka w kolejnej pracy (P5) wykazała, że metformina może wpływać na osteogenezę *in vivo* oraz różnicowanie komórek macierzystych tkanki tłuszczowej w kierunku osteocytów. W kolejnej pracy (P6) Habilitantka oceniła wpływ metforminy na aktywność komórek macierzystych izolowanych z



tkanki tłuszczowej koni z syndromem metabolicznym. Stanowi to bardzo ciekawy model badawczy z uwagi na fakt, iż komórki pochodzące od tych zwierząt posiadają obniżony potencjał proliferacyjny. Wyniki tej pracy wykazały, że metformina (500 μ M) stymuluje proliferację badanych komórek, wzrost ich metabolizmu mitochondrialnego, ilość mitochondriów oraz obniżenie ilości komórek pro-apoptycznych.

Podsumowując, recenzowane osiągnięcie naukowe stanowi cykl publikacji powiązanych tematycznie, wnoszących znaczny i oryginalny wkład w rozwój dyscypliny nauk biologicznych. Prace te mają duże znaczenie nie tylko poznawcze, ale również mogą mieć znaczenie praktyczne przy projektowaniu nowych biomateriałów i czynników proregeneracyjnych. Publikacje przedstawiają również nowe dane na temat działania metforminy w różnych modelach przedklinicznych. W przedstawionych pracach zastosowano adekwatne i zaawansowane metody oraz techniki badawcze. Prace te mogą być także punktem wyjścia do kolejnych badań podejmowanych przez Autorów, jak również inne zespoły badawcze w Polsce i na świecie. Część z przedstawionych w cyku habilitacyjnym badań była zrealizowana w ramach projektu „Wpływ metforminy na odbudowę tkanki kostnej – implikacje dla medycyny regeneracyjnej” (finansowanie ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego, KNOW dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologicznego). Część z badań została również przedstawiona w formie zgłoszenia patentowego.

Ocena aktywności naukowej

Pani dr Agnieszka Śmieszek pracuje aktualnie jako adiunkt badawczo-dydaktyczny w Katedrze Biologii Eksperymentalnej Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Pani dr Śmieszek przed doktoratem badała głównie procesy regulacji aktywności komórek kostnych, rolę białka BMP oraz regenerację chrząstki. Po doktoracie dr Śmieszek zajmowała się przede wszystkim biologią komórek progenitorowych oraz analizą i opracowywaniem nowych biomateriałów, które mogą posłużyć w inżynierii tkankowej i medycynie regeneracyjnej. Badania te prowadzone były w ramach Wiodącego Zespołu Badawczego Reg-Med-Lab oraz grantu NCN OPUS10. W badaniach Autorzy opracowali m.in. prototypy biomateriałów dwufazowych, trójwymiarowe rusztowania polimerowe (tworzone z PLLA) dodatkowo funkcjonalizowane. Badania te wykazały m.in. kluczową rolę rodzaju rusztowania na żywotność komórek macierzystych. Badania te mają istotne znaczenie kliniczne z uwagi na fakt, iż komórki macierzyste podawane w różnego rodzaju biomateriałach mają potencjalnie bardzo wiele zastosowań. Pani dr Śmieszek w latach 2015-2017 była również wykonawcą prac badawczych w projekcie NCN Sonata Bis5. Celem tego projektu było opracowanie nowych strategii żywieniowych dla koni z syndromem metabolicznym. Badanym surowcem były algi wzbogacone w wybrane składniki mineralne. Aktywność biologiczna makro i mikroalg była analizowana w oparciu o badania proliferacji komórek, status oksydacyjny, ekspresję wybranych genów. Dr Śmieszek zajmowała się



również badaniami niekodującego RNA (ncRNA) i jego roli w aktywności komórek tkanki kostnej. Pani doktor jest obecnie kierownikiem zadania badawczego realizowanego w ramach wieloodśrodkowego niekomercyjnego badania klinicznego finansowanego przez Agencję Badań Medycznych (ABM). Realizacja tego zadania badawczego umożliwi Habilitantce rozwój własnej grupy badawczej. Celem całego projektu jest optymalizacja postępowania oraz leczenia małych pacjentów z rozrostami z komórek histiocytarnych (projekt POL-HISTIO). Po doktoracie, Habilitantka brała również udział jako wykonawca w innych interdyscyplinarnych projektach dotyczących m.in. biomateriałów, komórek macierzystych oraz regeneracji tkanki chrzęstnej i kostnej. Ogólna aktywność naukowa Habilitantki jest bardzo wysoka o czym świadczą dane bibliometryczne. Zgodnie z załączoną analizą przygotowaną przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 08.12.2020 wartości bibliometryczne przedstawiają się następująco: łączna liczba punktów MNSW za wszystkie prace 2775; sumaryczny Impact Factor 163,414; liczba referatów konferencyjnych 13, Indeks Hirscha 16 (wg Web of Science); liczba cytowani 744 (bez autocytowań 572). Podsumowując, dr Agnieszka Śmieszek z pewnością wyróżnia się istotną aktywnością naukową potwierdzoną publikacjami, udziałem w grantach, szkoleniach a także odbytym piętnastotygodniowym stażem naukowym podczas którego miała okazję poznać zaawansowane techniki biologii molekularnej. W mojej opinii Habilitantka jest w pełni dojrzałym naukowcem, który może zostać samodzielnym pracownikiem nauki.

Ocena osiągnięć dydaktycznych i organizacyjnych

Dr Śmieszek wykazuje się dużą aktywnością dydaktyczną oraz organizacyjną. Habilitantka jest Autorką i współautorką opracowań kursów realizowanych przez studentów Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Habilitantka prowadziła następujące kursy: Histologia, Biologia rozwoju zwierząt/ Embriologia, Biologia komórki i histologia, Molekularna struktura komórek eukariotycznych, Ekspresja mRNA i mikroRNA oraz ich wzajemne interakcje, Planowanie doświadczeń/ Experimental design, Wybrane aspekty i trendy w nanobiologii eksperymentalnej. Dodatkowo Habilitantka prowadziła zajęcia w ramach 4 innych kursów. Pani dr Śmieszek była także opiekunem dwunastu prac licencjackich oraz siedmiu prac magisterskich. Dr Śmieszek pełniła również funkcję Recenzenta łącznie 14 prac dyplomowych. Habilitantka jest również promotorem pomocniczym jednej pracy doktorskiej z otwartym przewodem doktorskim oraz jednej pracy doktorskiej w której planowane było otwarcie przewodu doktorskiego. Habilitantka jest również aktywna w działalności organizacyjnej w takich strukturach jak Rada Programowa dla kierunku Biologia i Biologia Człowieka, Rektorska Komisji ds. przeciwdziałania dyskryminacji, Zespół ds. strategii Centrum Biologii Doświadczalnej. Habilitantka recenzowała również wnioski grantowe oraz publikacje czasopism o zasięgu międzynarodowym. Dr Śmieszek brała również aktywny udział w popularyzacji nauki m.in. prowadząc warsztaty naukowe, wykłady oraz udzielając wywiadów.



Wniosek końcowy

W oparciu o ocenę osiągnięcia naukowego oraz wysokiej aktywności naukowej, jak również działalności organizacyjnej i dydaktycznej stwierdzam, że Pani dr Agnieszka Śmieszek spełnia wymogi stawiane kandydatom na stopień doktora habilitowanego określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. Zatem z pełnym przekonaniem, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie dr n. biol. Agnieszki Śmieszek do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Prof. dr hab. Michał Pikuła

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
WYDZIAŁ LEKARSKI
Katedra Anatomii, Zakład Embriologii
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 1
tel. 058 349 14 95, fax 058 349 14 95
e-mail: embriologia@gumed.edu.pl