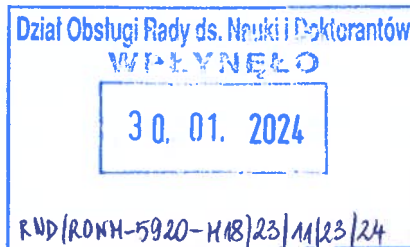


Prof. dr hab. med. Piotr Zaborowski
Członek Rady Naukowej
Wojskowego Instytutu Medycznego-
Państwowego Instytutu Badawczego



OPINIA

wniosku i dokumentacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne
dr n. med. Łukaszowi SZYMAŃSKIEMU

Doktor nauk medycznych Łukasz SZYMAŃSKI ukończył studia licencjackie na kierunku biotechnologia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w roku 2014, z dwuletnim okresem (2011-2013) ich odbywania w Los Angeles City College i na Uniwersytecie Kalifornijskim. Tytuł zawodowy magistra w specjalizacji „komórki macierzyste w biologii i medycynie”, uzyskał na tym samym kierunku w macierzystej Uczelni w roku 2015.

Jest w pełni wykształconym zawodowo badaczem, obecnie adiunktem (2020-) i zastępcą Kierownika Zakładu Biologii Molekularnej (2022-) w Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk. Ma za sobą zatrudnienie jeszcze w trakcie studiów w Laboratorium Onkologii Molekularnej WIM (2013-2015), potem na różnych stanowiskach (od specjalisty, przez asystenta, adiunkta do Kierownika i zastępcy Kierownika) w Międzyzakładowym Laboratorium DPL i Zakładzie Ochrony Mikrofalowej Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii (2014-2020). Od 2016 roku pracuje także w spółce biotechnologicznej - Europejskim Instytucie Biomedycznym, gdzie od grudnia 2019r. zajmuje stanowisko Kierownika ds. Badań i Rozwoju oraz Dyrektora Badań Chemicznych.

Stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskał w Wojskowym Instytucie Higieny i Epidemiologii im. gen. Karola Kaczkowskiego w Warszawie w roku 2017 – na podstawie rozprawy pt.: „Wpływ pola elektromagnetycznego na ekspresję cytokin immunoregulacyjnych i receptorów szlaku śmierci Fas/FasL w atopowym zapaleniu skóry”.

Ogólny dorobek naukowy Kandydata (przed i po doktoracie – na podstawie analizy bibliometrycznej Biblioteki Uczelnianej WUM z dnia 11.05.2023r.) obejmuje publikacje z łącznym współczynnikiem oddziaływania - 141,054 (po doktoracie - 127,626) i punktacją według MNiSW -2930 (po roku 2019 – 2785); liczbą cytowań (Scopus) – 286, (Web of Science) – 243, [bez autocytowań – odpowiednio 272 i 229] oraz wskaźnikiem Hirscha – 10.

Ocena osiągnięcia naukowego

Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Innowacyjne metody leczenia oraz badania uszkodzeń skóry”.

Cykl prac, składający się na osiągnięcie naukowe, obejmuje 5 pozycji – 4 prace oryginalne i artykuł przeglądowy opublikowane w latach 2020-2023 (łączny IF – 30,774; MNiSW – 700; za prace oryginalne – odpowiednio 24.566 i 560).

Tematyka osiągnięcia naukowego Kandydata ma swoje źródła w latach 2014-2017, kiedy początkowo realizował w WIHE finansowany przez MNiSW projekt dla Młodych Naukowców [P5]. Dotyczył wpływu pola elektromagnetycznego na ekspresję cytokin immunoregulacyjnych i receptorów szlaku śmierci Fas/FasL w atopowym zapaleniu skóry i był zakończony obroną rozprawy doktorskiej oraz późniejszymi publikacjami (A12, A13, A15). Te prace z zakresu biologii i immunologii skóry były intelektualnym wstępem do pomysłu budowy modelu skóry i dalszego badania wpływu sieci cyto- i chemokin, uwalnianych z komórek macierzystych skóry na jej stan czynnościowy i gojenie ran pod wpływem działania czynników zewnętrznych.

Prace cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe powstały dzięki dwóm grantom badawczym [P7 i P8]. Prace opisujące stworzenie modelu skóry [O1], naświetlania laserowego komórek skóry [O2] i skóry różnymi długościami fal laserowych [O5] - powstały dzięki pierwszemu z nich („Laserowe systemy broni skierowanej energii, laserowe systemy broni nieśmiertelności” [DOB-1-6/1/PS/2014] - NCN). Prace dotyczące: modulacji ekspresji genu MELK w celu przyspieszenia gojenia ran [O3] i na temat wykorzystania nadekspresji genu MELK w celu przyspieszenia leczenia uszkodzeń skóry [O4] – są wynikiem realizacji drugiego projektu: „Proteomiczna i funkcjonalna analiza kinazy białkowej MELK: potencjalne zastosowanie do przyspieszenia gojenia ran” (KOŚCIUSZKO 571/2016/DA- MON) Oba projekty mają znaczenie dla szeroko pojętej obronności i bezpieczeństwa.

Wbrew dość szeroko rozpowszechnionym poglądom, skóra jest skomplikowanym narządem o wyrafinowanej strukturze, licznych narządach dodatkowych i zróżnicowanych czynnościach. Pochodzi z dwóch listków zarodkowych i jest zasiedlana przez wiele linii ukierunkowanych komórek macierzystych, tworzących nie tylko jej przydatki, ale także wyspecjalizowane obszary. Dzięki swojej budowie chroni ona organizm zarówno przed zwykłymi czynnikami mechanicznymi czy promieniowaniem niejonizującym, jak i działaniem różnych związków chemicznych. Jest narządem pierwszego, sensorycznego kontaktu ze środowiskiem i głównym narzędziem termoregulacji ustroju. Pełni także funkcję autonomicznego układu odpornościowego. Jako główny narząd kontaktu ze środowiskiem skóra jest w szczególności sposobem narażona na uszkodzenia i zranienia. Szybka naprawa tych uszkodzeń jest kluczem zarówno do przywrócenia jej ciągłości, jak i funkcji ochronnych, np. przed zakażeniami. Gojenie jest wielofazowym procesem od hemostazy, przez odczyn zapalny i odnowę struktury do przebudowy z przywróceniem jej elastyczności i wytrzymałości. Rany skóry mogą powstawać nie tylko w wyniku działania czynników zewnętrznych (np. urazy, broń palna i biała, ekspozycja na środki chemiczne, w tym kosmetyki, wysoką lub niską temperaturę, promieniowanie jonizujące i niejonizujące), lecz także pojawiać się jako następstwo chorób samej skóry, chorób metabolicznych i z autoagresji, zmian troficznych i naczyniowych (choroby naczyń, niedokrwienie, niewydolność żylna), a także zakażeń egzo- i endogennych. Niektóre z ran i uszkodzeń skóry stanowią znaczące problemy dla systemu ochrony zdrowia. Z jednej strony ostre rany (i ich skutki) z powodu konfliktów zbrojnych, wypadków i katastrof i po zabiegach chirurgicznych, z drugiej rany przewlekłe w następstwie licznych chorób i patologii, zwłaszcza u ludzi w podeszłym wieku – pochłaniają znaczne środki finansowe, a zarazem są przyczyną cierpienia i znaczącego obniżenia jakości życia chorych. Poszukiwanie metod i środków do przyspieszenia gojenia ran staje się zatem coraz pilniejszą potrzebą. Jednocześnie, współczesna cywilizacja stworzyła nowe pola zastosowań dla badań nad skórą. Przemysł kosmetyczny i niektóre działy medycyny regeneracyjnej wykreowały zapotrzebowanie na testy środków stosowanych zewnętrznie i podskórnym, poprawiających jej wygląd i stan.

Przedstawione powyżej przesłanki dobrze uzasadniają ważność tematyki podjętej przez doktora Łukasza Szymańskiego.

Omówienie prac cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe

1. [O1] **Szymański, Ł.**; Jęderka, K.; Cios, A.; Ciepela, M.; Lewicka, A.; Stankiewicz, W.; Lewicki, S*.: A Simple Method for the Production of Human Skin Equivalent in 3D, Multi-Cell Culture. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 10.3390/ijms21134644 Q1, 5,942; 140

Praca jest poświęcona prezentacji modelu ludzkiej skóry 3D. Kandydat, jako jeden z dwóch twórców opisanego tam modelu, poza omówieniem problemów i wyzwań tworzenia ekwiwalentów skóry ludzkiej (HSE) dostępnych w literaturze przedmiotu, dokonał wraz z zespołem wszechstronnej analizy metodologicznej i proceduralnej własnego opracowania. Praca zawiera opis licznych testów badawczych, np. nad zachowaniem poszczególnych linii

komórkowych w przypadkach zmienianych sekwencji stosowania różnych stężeń genipiny, czy obserwacje dotyczące jej toksyczności w populacji fibroblastów i keratynocytów w zależności od kolejności i czasu wbudowywania tych linii do modelu. Przedstawia także rozwiązanie problemu wbudowania do modelu 3D linii melanocytów, a także badania kompleksu cyto- i chemokin uwalnianych przez własny trójwymiarowy HSE z dowodem na ich niską zmienność.

Główną zaletą prezentowanego modelu jest w mojej opinii jego prostota, powtarzalność i uniwersalność oraz ekonomiczność. Wykorzystanie do jego tworzenia komercyjnych linii komórkowych keratynocytów (PCS-200-010), fibroblastów (PCS-201-010), melanocytów (PCS-200-013) oraz unieśmiertnionych linii keratynocytów (CRL-4048 – Ker-CT) i ludzkich fibroblastów (CRL-4001 – BJ-5ta) wraz z przebadaniem liczby pasażu nie powodujących jeszcze zmiany ich morfologii - to pomysł praktyczny i możliwy do szybkiego wdrożenia. Nie wyklucza to jednak możliwości zastosowania w tym modelu linii komórek pochodzących od konkretnego chorego z określoną chorobą skóry. To zapewniałoby potencjalną możliwość stosowania leków dobranych bezpośrednio do potrzeb i ograniczeń pacjenta, chociaż bez wątpienia byłaby to procedura bardziej skomplikowaną laboratoryjnie i wymagająca większego doświadczenia i nakładu pracy personelu.

Model ten z pewnością znajdzie szerokie zastosowanie praktyczne w wielu obszarach badań dotyczących alergii i cytotoksyczności. Może również stanowić podstawę do budowania modeli z innych linii komórkowych niż skórne.

2. [O2] **Szymański, Ł.***; Ciepielak, M.; Cios, A.; Palusińska, M.; Stankiewicz, W.; Lewicki, S.: Effects of 445 Nm, 520 Nm, and 638 Nm Laser Irradiation on the Dermal Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 10.3390/ijms22111605, Q1, 6,208; 140

Lasery to monochromatyczne źródła światła o szerokich zastosowaniach w wielu dziedzinach życia. Emitują promieniowanie niejonizujące o różnych długościach fali, które dodatnio korelują z głębokością przenikania w głąb tkanek i wywieranym efektem termicznym. Wiązka tego światła ma wysoką spójność i koherencję. Efekt biologiczny promieniowania laserowego zależy od tego, czy ma ono charakter ciągły czy impulsowy. Dawka promieniowania pochłonięta przez komórki na określonej powierzchni tkanki i towarzyszący temu efekt biologiczny zależą od energii lasera i czasu napromieniania. Określa ją fluencja wyrażana w dżulach na jednostkę powierzchni. W zależności od długości fali - zjawisko odbicia, rozpraszania, absorpcji i transmisji tego promieniowania w chromoforach (w skórze głównie - woda, melanina i hemoglobina) powodują różne skutki biologiczne od zmian temperatury tkanek, przez indukowanie w nich stanu zapalnego i modulowanie odpowiedzi odpornościowej - do wpływu na metabolizm komórek, ich proliferację i różnicowanie, w tym na cykl komórkowy poprzez wpływ na syntezę RNA, DNA oraz szlaki naprawy DNA.

W kolejnej pracy Habilitant wraz z Zespołem, oceniali wpływ promieniowania laserowego o różnych długościach fali (445, 520 i 638 nm) na dwie unieśmiertnione linie komórek skóry – keratynocyty (CRL-4048 – Ker-CT) i fibroblasty (CRL-4001 – BJ-5ta) – te same jak we własnym modelu skóry 3D. Badano przeżywalność (aneksyny V-APC i PI), rodzaj śmierci komórek, wpływ na fazy cyklu komórkowego (FxCycle PI/RNase Staining Solution) i wskaźniki proliferacji (anty-Ki67-APC). Kandydat słusznie podkreślił ograniczenie tej pracy, wynikające z badania izolowanych linii komórkowych i na płaszczyźnie (2D). Na podkreślenie zasługuje zastosowanie fluencji jako wystandaryzowanej miary ekspozycji. Praca jest metodologicznie bardzo dobra. Wynikają z niej jasne wnioski, że interakcja pomiędzy światłem wiązki laserowej a komórkami zależy ostatecznie od trzech czynników: długości fali lasera, dawki i rodzaju naświetlonych komórek. Pierwszy określa głębokość penetracji, drugi - sumaryczną energię ekspozycji, trzeci – rodzaj uszkodzenia zależny od typu komórek i ich umiejscowienia w tkance. Zważywszy wielość rodzajów laserów, ich mocy oraz zastosowań cywilnych i wojskowych, taka konstatacja ma głęboki sens. Poprawi jak sądzę nie tylko bezpieczeństwo licznych procedur

medycznych z zastosowaniem laserów, ale także pozwoli na bardziej precyzyjne regulacje (w tym prawne) dotyczące poszczególnych typów ich zastosowań. Szczegółowe wyniki badań z tej pracy, które pomijam, bo są w niej dostępne (włącznie ze spostrzeżeniem o potencjalnie korzystnym wpływie lasera 638nm na leczenie ran skóry) – potwierdzają ten wniosek.

3. [O5] Cios, A.; Ciepielak, M.; **Szymański, Ł***; Lewicka, A.; Cierniak, S.; Stankiewicz, W.; Mendrycka, M.; Lewicki, S.: Effect of Different Wavelengths of Laser Irradiation on the Skin Cells. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 10.3390/ijms22052437. Q1, 6,208; 140

Praca ta jest syntetycznym i wysoce kompetentnym przeglądem zarówno wpływu, jak i mechanizmów oddziaływania promieniowania niejonizującego o wąskiej (lasery) lub szerokiej wiązce (LEDy) z omówieniem zakresu ich zastosowań medycznych. Opis obejmuje wpływ wszystkich rodzajów laserów (od ultrafioletu do podczerwieni) na komórki skóry, w tym hodowane *in vitro* oraz ich zastosowania w chorobach skóry i do leczenia ran. Omówienie jest systematyczne i obejmuje tabelaryczne i tekstowe zestawienie wg grup laserów (UV, niebieskie, zielone, czerwone i podczerwone). Przedstawia długości fal, zastosowaną przez cytowanych autorów fluencję, rodzaj komórek/tkanek zwierzęcych lub ludzkich i patologie skóry z liczbą badanych oraz opis skutków biologicznych i molekularnych tych naświetlań. Obejmuje też efekty działania promieniowania na chromatofory poszczególnych warstw skóry i jego działanie fotobiomodulacyjne na gojenie przewlekłych ran i ich mikrobom.

W dobie niemal powszechnego użycia laserów o różnych długościach fal, także poza kontrolą medyczną, artykuł ten można potraktować jako podstawowe, użyteczne kompendium wiedzy o zagadnieniu.

Dwie kolejne prace cyklu, zrealizowane w ramach grantu P8, mają u swojej podstawy pomysł wykorzystania modulacji ekspresji genu MELK (MPK38) do zwiększenia dynamiki proliferacji komórek skóry, co mogłoby przyspieszać gojenie ran tego narządu. Kinaza MELK jest zależna od cyklu komórkowego i odgrywa kluczową rolę w wielu procesach komórkowych. Należą do nich nie tylko ekspresja genów (np. ERK), składanie spliceosomów, propagacja cyklu komórkowego, podziału komórek i ich proliferacji, w tym hemopoezy, ale także procesy transdukcji sygnałów wewnątrzkomórkowych i regulacji apoptozy. Kinaza ta osiąga maksymalną aktywność podczas fazy M cyklu komórkowego w liniach nowotworowych i w komórkach embrionalnych. Mimo ujawnienia, że gen MELK ulega nadekspresji w licznych nowotworach (np. raku piersi, raku nerkowokomórkowym, czy czerniaku), to nadal niewiele wiadomo o jego roli w regulacji proliferacji komórek prawidłowych, np. tych odpowiedzialnych za gojenie ran. Podobieństwo tego procesu do niektórych faz rozwoju nowotworu obejmuje np. utratę polarności komórek, przebudowę tkanek i zwiększoną proliferację komórek. Także wiele szlaków molekularnych i komórkowych, takich jak ERK1/2, C-Jun, czy p53, jest wspólnych dla procesu gojenia ran i nowotworzenia. Główna różnica polega na tym, że dynamika proliferacji w gojeniu jest kontrolowana, a w nowotworach – nie. Być może u podłoża różnego działania „biologicznej sieci naprawczej” leży w procesie gojenia - wielofazowość procesu z rekrutacją kolejnych komórek układu odporności i etapowym uruchamianiem kaskad molekularnych, a w procesie nowotworzenia – wymknięcie się tych mechanizmów spod kontroli. Zatem pomysł badania ekspresji różnych genów, w tym MELK w różnych konfiguracjach czynnościowych – był i pozostaje w pełni uzasadniony.

4. [O3] **Szymanski, Ł***; Lewicki, S.; Markiewicz, T.; Cierniak, S.; Tassan, J.-P.; Kubiak, J.Z.: siRNA-Mediated MELK Knockdown Induces Accelerated Wound Healing with Increased Collagen Deposition. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 10.3390/ijms24021326. Q1, 6,208; 140

Praca, wykonana na modelu mysim, dotyczy badania wpływu przejściowego wyciszenia ekspresji MELK przy użyciu bezwektorowego siRNA na środowisko rany pełnej grubości

(obejmującej pełną strukturę skóry) u 16 męskich, ośmioletnich myszy C57BL6. Przed eksperymentem i wytworzeniem rany myszy były premedykowane ketaminą i ksylazyną. Cztery rany pełnej grubości na grzbiecie wykonywano przy pomocy sztancy o średnicy 4 mm i zabezpieczano je przyklejonym pierścieniem silikonowym, który usuwano w trzeciej dobie eksperymentu. Procedura badawcza obejmowała podanie do trzech ran 1 μ M badanego siRNA, kontrolnego siRNA lub PBS. W 3, 5, 7, 11, 14 i 30 dniu od wytworzenia rany i rozpoczęcia leczenia mierzono je w trzech płaszczyznach, a dodatkowo w 3, 7, 14 i 30 dniu pobierano wycinki skóry wraz z ranami i oceniano w nich ilość kolagenu całkowitego, kolagenu typu III, wielkość i liczbę naczyń, wskaźniki proliferacji i apoptozy komórek, liczbę komórek tucznych oraz obecność komórek CD45, CD11b, CD45 i CD8a.

Badanie wykazało, że czasowe wyciszenie genu MELK powoduje zwiększone odkładanie kolagenu (całkowitego i typu III) w obszarze rany oraz do ich przyspieszonego gojenia. Liczba komórek hematopoetycznych (CD45), myeloidalnych (CD11b), limfocytów wspomagających Th (CD4) oraz cytotoksycznych Tc (CD8a) nie różniły się istotnie, co wskazuje zachowanie równowagi immunologicznej w trakcie wyciszenia MELK. Z kolei brak nasilenia apoptozy i umiarkowana dynamika proliferacji komórek w ranie po 30 dniach obserwacji, wskazują na niskie ryzyko kancerogenności tej procedury. Jak dotąd efekt zwiększenia odkładania kolagenu po zastosowaniu inhibitora MELK (OTSSP167) zaobserwowano jedynie w linii osteoblastów.

Wartość pracy polega nie tylko na wynikach wykonanego eksperymentu, ale także na powściągliwości przy planowaniu badań *in vivo*.

5. [O4] **Szymanski, L.***; Lieto, K.; Zdanowski, R.; Lewicki, S.; Tassan, JP.; Kubiak, J.Z.: Differential effects of overexpression of wild type and kinase-dead MELK in fibroblasts and keratinocytes, potential implications for skin wound healing and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, doi.org/10.3390/ijms24098089. Q1, 6,208; 140

Ta praca jest w pewnym sensie logicznym uzupełnieniem poprzedniej. Dotyczy analizy wpływu wywołania czasowej nadekspresji genu MELK na linie keratynocytów (KerCT) i fibroblastów (BJ-5ta) w hodowlach jednowarstwowych. Jej celem było sprawdzenie, jak konstrukty kodujące kinazę MELK (formę aktywną i nieaktywną) wpływają w tych liniach na dynamikę proliferacji komórek, ich żywotność, fazy cyklu komórkowego oraz stan fosforylacji kinaz ERK1/2, AKT1, MAPK9, p38 oraz p53, a w konsekwencji – czy mogą wpływać na przyspieszenie gojenia ran. Dodatkowo zbadano wewnątrzkomórkową lokalizację białka MELK w formie aktywnej (wild type WT) i nieaktywnej (kinase-dead KD). Badanie zostało starannie zaplanowane i wykonane. Wykazało ono, że nadekspresja MELK WT stanowi dla komórek sygnał do proliferacji, ale nadmierna aktywność kinazy skutkuje blokadą komórek w fazie G2/M. Za nieprawidłowe rozłożenie faz cyklu komórkowego odpowiada krótka sekwencja aminokwasów w strukturze MELK, którą Autorzy nazwali „mitotycznym sygnałem lokalizacyjnym” ("Mitotic Localization Signal" - MLS). Ta sekwencja pozwala MELK WT na przechodzenie do cytoplazmy, do czego nie jest zdolne MELK KD. Równie interesujące było spostrzeżenie, że nadekspresja MELK KD w fibroblastach była skojarzona z nasileniem fosforylacji p53, co może sugerować rodzaj „dialogu” pomiędzy MELK a p53 w regulacji cyklu komórkowego i apoptozy. Ważna była również obserwacja, dokonana przez Habilitanta, że odchylenie od precyzyjnie kontrolowanej ekspresji MELK w komórkach nietransformowanych, powoduje ich nieprawidłową proliferację i zmieniony rozkład faz cyklu komórkowego oraz ich zmniejszoną żywotność. Skoro zatem MELK nie jest niezależnym czynnikiem propagującym proliferację i onkogenezę, to stosowanie metody nadekspresji genu MELK jako ogólnego czynnika stymulującego proces proliferacji komórek skóry nie jest możliwe.

Omówione wyżej prace składające się na osiągnięcie naukowe doktora Szymańskiego, są wartościowym wkładem w rozwój i postęp wiedzy na temat gojenia ran z możliwością

wykorzystania tych wyników w codziennej praktyce naukowej i klinicznej. Stabilny, powtarzalny i ekonomiczny model 3D skóry pozwala na jego wykorzystanie w badaniach naukowych i może mieć zastosowanie w aplikacjach dla przemysłu. Badania nad zastosowaniami laserów i udowodnienie ich skuteczności i bezpieczeństwa w stymulacji linii komórkowych skóry i jej gojeniu mogą stanowić istotną pomoc w opracowywaniu metod leczenia ran ostrych i przewlekłych. W tym kontekście - wyniki badań Kandydata mają także istotne znaczenie dla szeroko rozumianego bezpieczeństwa narodowego. Rany są skutkiem nie tylko wypadków i katastrof, ale także stałym następstwem konfliktów zbrojnych, w których cierpią nie tylko żołnierze, ale w coraz większym stopniu – ludność cywilna. Kompetentne postępowanie w zranieniach i usprawnienie procesu ich gojenia – to kluczowy element przywracania sprawności ofiarom takich zdarzeń. Prace dotyczące modulacji ekspresji genu MELK jednoznacznie wykazały, że w klinicznych aplikacjach manipulacji molekularnych krytycyzm jest wysoce wskazany.

Ocena aktywności naukowej Kandydata po uzyskaniu stopnia doktora

W ciągu 6 lat od uzyskania stopnia doktora nauk, Kandydat ogłosił wg danych bibliometrycznych BU WUM (poza 5 pracami z cyklu) – 21 prac z IF 96,852 (MNiSW - 2085), w tym w 8 jako pierwszy autor (w 5 kolejnych jako drugi [równorzędny], ostatni lub korespondencyjny).

Prace te obejmują szeroki zakres zagadnień badawczych. Dwa główne (poza pracami poświęconymi biologii i immunologii skóry [A12-A15] wspomnianymi we wstępie omówienia prac cyklu) to:

- **cykl dotyczący raka jasnokomórkowego nerek**

- zapoczątkowany publikacją 7 prac przed doktoratem, jest wynikiem uczestnictwa Kandydata w badaniach prowadzonych głównie w Wojskowym Instytucie Medycznym w ramach czterech projektów badawczych (P1-P4) nad nowotworowymi komórkami macierzystymi (CSC) i wpływem na nie hormonów tarczycy i niedotlenienia. W czterech pracach opublikowanych **po doktoracie** (A8-A11) w latach 2018-2021 pojawiły się interesujące wyniki dotyczące badań nad przerzutowaniem raka jasnokomórkowego nerki, izolacją i biologią kultur RCSC oraz wpływu na te komórki pól elektromagnetycznych o bardzo niskiej częstotliwości. W tej ostatniej pracy wykazano hamujący wpływ takiego promieniowania na inwazyjność CSC oraz wzrost ROS w badanych liniach komórkowych.

- **publikacje z zakresu bioinżynierii medycznej i wyrobów medycznych**

to zbiór 6 artykułów (A16-A21) o dużym znaczeniu praktycznym. Dotyczą oryginalnych wyrobów medycznych mających zastosowanie w hamowaniu krwawień i jako opatrunki na rany. Pole zastosowań tych środków (proszku hemostatycznego oraz kleju tkankowego) jest bardzo szerokie i obejmuje nie tylko możliwość ich użycia w chirurgii, lecz także w ratownictwie i medycynie katastrof. Kleje i biomateriały adhezyjne mogą stanowić alternatywę szycia ran. Zostały one wdrożone do praktyki i porównane z odpowiednikami, znajdującymi się na rynku. W kolejnych doniesieniach opisano wyniki prac nad innowacyjnymi surfaktantami i biomateriałami, np. konjugatami polisacharydowo-peptydowymi zawierającymi motyw RGD. Bez wątpienia stanowią one nową, obiecującą generację środków ochronnych i regeneracyjnych o szerokim zastosowaniu w medycynie. Podobnie innowacyjny jest kierunek zastosowań rozwiązań bioinżynierskich w tworzeniu modeli narządów, np. oka - służących do prowadzenia badań naukowych.

Pozostałe prace, w liczbie 7, opublikowane w latach 2019-2022 są zróżnicowane tematycznie, ale w większości dotyczą zagadnień związanych z układem odpornościowym. Za najciekawsze i ważne poznawczo uznałbym doniesienia związane z białkami i procesami cyklu regulacji

metabolizmu żelaza w niewydolności krążenia (A26 i A29). Pomysł, by skorelować dane kliniczne osób po przeszczepieniach serca z ekspresją białek biorących udział w przemianach żelaza w kardiomiocytach oraz markerami stresu oksydacyjnego i czynnikami regulującymi, w tym hepcydyną czy hemojuwelina z pewnością znajdzie swoją przyszłość w innych obszarach badawczych.

Równie interesujące są prace z projektów badawczych P9 i P10 dotyczących zespołów mielodysplastycznych (MDS) i ostrej białaczki szpikowej (AML). Przeniesienie badań nad retinoidami w skórze (głównie ATRA [all-trans-retinoic acid]) do wykorzystania ATRA do współhamowania MYC skutkującego zmniejszeniem proliferacji oraz potencjału „macierzystości” blastów AML (A27) – to kolejna ścieżka możliwych badań nad leczeniem MDS z wykorzystaniem unieśmiertelnionych linii komórkowych (A30).

Kolejne prace to badanie wpływu immunomodulatorów roślinnych na zdrowie matek i potomstwa (A24), opis wpływu promieniowania elektromagnetycznego (900 Mhz) na komórki układu odpornościowego u ludzi (A25) i wyniki badań nad krótko- i długoterminowym wpływem odczulania jadem osy na fenotyp komórek układu odpornościowego, składniki układu dopełniacza oraz stężenie histaminy i tryptazy w krwi obwodowej osób uczulonych na jad owadów błonkoskrzydłych (A28).

Wyniki badań, komplementarne z tematyką prowadzonych prac badawczych i użytkowych, były prezentowane również na licznych zjazdach i konferencjach naukowych w kraju i za granicą (łącznie 24 wystąpienia, w tym 13 zagranicznych na 16 zjazdach i konferencjach, w tym 9 zagranicznych o zasięgu międzynarodowym).

Ocena aktywności Kandydata w zakresie prowadzenia i uczestnictwa w projektach badawczych

W okresie prowadzenia pracy naukowej Kandydat uczestniczył w licznych projektach badawczych. W pierwszych czterech z nich, w latach 2010-2014 był wykonawcą zadań naukowych. Projekty te [P1-P4] dotyczyły zastosowania nanocząstek srebra w regeneracji ran [P1], pozostałe [P2-P4] - biologii raka jasnokomórkowego nerek. Kolejny grant [P5] dla młodych naukowców był podstawą rozprawy doktorskiej i punktem wyjścia do badań nad czynnikami modulującymi biologię i czynność skóry zdrowej oraz zmienionej chorobowo lub zranionej [P6-P8]. Ich wynikiem jest nie tylko cykl habilitacyjny, lecz także poszerzenie obszarów badawczych. Kolejne 3 granty [P9-P11] przekonują o możliwościach intelektualnych Habilitanta w budowaniu struktury poszukiwań badawczych. Dla przykładu, zainteresowanie retinoidami w skórze były krokiem ku badaniu ich jako środków leczniczych w zespołach mielodysplastycznych, a badania nad metabolizmem żelaza – projektem badania PSMA w raku wątrobowokomórkowym, Zdaniem piszącego świadczy to o umiejętności wyszukiwania pól badawczych. Zwraca przy tym uwagę potencjalna praktyczność zastosowań przyszłych wyników tych badań (np. P10, P11).

Staże naukowe w instytucjach naukowych

Kandydat odbył staż w Institute of Genetics and Development of Rennes (EMBO Fellowship – 2018) i wizyty studyjne w Laboratory, Translational Vectorology, Vector and Genome Engineering Facility, Children's Medical Research Institute w Sydney (2019) i Institute of Molecular Cell Biology, Center for Molecular Biomedicine na Uniwersytecie w Jenie (2022). Inspiracje z tych kontaktów przełożyły się na powstanie dwóch prac z cyklu habilitacyjnego [O3 i O4] i dwóch kolejnych (A27 i A30), które wpisały się w realizację grantu naukowego.

Od 2017 roku doktor Ł.Szymański stale współpracuje z Instytutem Genetyki i Rozwoju w Rennes (prof. Jacek Kubiak) w zakresie medycyny regeneracyjnej i wykorzystania komórek

macierzystych oraz z Centrum Biomedycyny Molekularnej w Jenie (prof. Tino Schenk) nad problemami ostrej białaczki szpikowej.

Ocena innych aktywności Kandydata w tym organizatorskiej i dydaktycznej

Poza działalnością ściśle naukową, Kandydat jest od 2015 roku aktywnym członkiem Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej (PTBM), gdzie od 2022r. pełni obowiązki członka Zarządu oraz Skarbnika; Stowarzyszenia European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) od 2020r. i Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego – od 2022r.

Był współorganizatorem i członkiem Komitetu Organizacyjnego V Zjazdu Naukowego PTBM Biologia-Medycyna-Terapia w 2022r.

Prowadził zajęcia dydaktyczne dla studentów Wyższej Szkoły Inżynierii i Zdrowia w Warszawie (2020-2021) oraz wykłady i ćwiczenia z zakresu technik biologii molekularnej w Szkole Doktorskiej IGBZ PAN (2021). W latach 2017-2019 sprawował również opiekę nad stażami i praktykami studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego i Uniwersytetu Warszawskiego z kierunków Analityka Medyczna i Biotechnologia.

Pełnił i pełni funkcję promotora pomocniczego dwóch doktoratów: Aleksandry Cios w WIHE (2018-2022) i obecnie Karoliny Maślińskiej-Gromadka w Szkole Doktorskiej Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk. (IGBZ PAN 2023-2027)

Jest recenzentem w 25 internetowych i klasycznych czasopismach medycznych ze wskaźnikiem oddziaływania, dla których wykonał 43 recenzje.

Na uwagę zasługuje również działalność i współpraca Habilitanta z sektorem gospodarczym. Ma na swoim koncie opracowanie, certyfikację oraz wprowadzenie na rynek dwóch wyrobów medycznych klasy III: dwuskładnikowego kleju chirurgicznego NE'X Glue do stosowania jako uzupełnienie metod hemostazy (opis w A17 i A20) oraz proszku hemostatycznego 4Seal na bazie naturalnych związków polisacharydowych do zatrzymywania krwawienia podczas zabiegów chirurgicznych lub urazów (opis w A16).

Od 2020 roku jest ekspertem Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD) w grupie ds. immunotoksyczności, a od 2022 roku - także ekspertem ds. wyrobów medycznych Polskiego Centrum Badań i Certyfikacji (PCBC) i ICR Polska (International Certification Registrar Co.Ltd. z siedzibą w Seulu). W kwietniu 2023 roku został powołany na członka Komitetu Technicznego nr 247 ds. Materiałów Medycznych i Biomateriałów Polskiego Komitetu Normalizacyjnego (PKN).

Jest także wszechstronnie przygotowany do prowadzenia działalności naukowej i wdrażania jej wyników. Przed i po doktoracie odbył kilkanaście certyfikowanych szkoleń metodologicznych oraz organizatorskich i związanych z otoczeniem nauki. Po kursie innowacyjności w instytucjach badawczych (2014 – WIM) i przedsiębiorczości (2015 – UW) uzyskał kwalifikacje w zakresie nadzoru nad osobami sprawującymi opiekę nad zwierzętami i odpowiedzialnych za planowanie i wykonywanie procedur i doświadczeń, oraz uśmiercających zwierzęta (2015 i 2017 – PolLASA); cytometrii przepływowej (2015 - ESCCA); wymagań systemu Dobrej Praktyki Laboratoryjnej wg OECD – z zapewnieniem jakości badań (2017 - MM-QUALITY); wytwarzania wyrobów medycznych z wykorzystaniem tkanek zwierzęcych (2018 - PCBC); walidacji metod pomiarowych; audytorów Zarządzania Jakością (2019 -SGS Polska) oraz systemów zarządzania i organizacji laboratoriów badawczych (2020-2022 Lab ISO Consulting), a także z zakresu toksykologii opartej na dowodach (2022 - Johns Hopkins University via Coursera)

Podsumowanie

Oceniając całość dorobku doktora Łukasza Szymańskiego jestem przekonany, że mamy do czynienia z wszechstronnie przygotowanym metodologicznie, inteligentnym badaczem o szerokich horyzontach myślowych i wyróżniającą się umiejętności wyszukiwania niekonwencjonalnych obszarów badawczych. Przemawia za tym dotychczasowa sekwencja zdarzeń i dokonań naukowych Kandydata, w których dominuje otwartość i ciekawość w poszukiwaniu istoty i przyczyn obserwowanych zjawisk.

Pozorny przeskok zainteresowań badawczych od chorób nowotworowych (głównie rak jasnokomórkowy nerek) do badań nad modelem skóry, czy poszukiwaniem linii komórkowych do badań nad zespołami mielodysplastycznymi i badaniami oka *in vitro*, wreszcie zainteresowanie biologią i leczeniem ran - łączy chęć zrozumienia mechanizmów na drodze od funkcjonowania komórek macierzystych, przez reakcję tkanek na oddziaływanie różnych czynników uszkodzających, aż do indukcji mechanizmów śmierci komórki i poszukiwania sposobów odnawiania i naprawy uszkodzeń. Stworzenie funkcjonalnego modelu skóry, który można wykorzystywać w badaniach zastępujących wykorzystanie do tego celu zwierząt doświadczalnych – jest ponadto dowodem na wysoce etyczne standardy badawcze Habilitanta. Taka postawa równego traktowania istot żywych nie jest powszechna w sferze badawczej inżynierii tkankowej i biologii molekularnej mimo istnienia ogólnych wytycznych i wstępnych regulacji prawnych.

Konkludując, uważam że

cechy osobowe Kandydata, Jego dorobek naukowy, organizatorski i dydaktyczny **w pełni kwalifikują go do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego** w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu (dyscyplina nauki medyczne) i spełniają wymogi art. 219 ust.1 pkt.2b Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym z dnia 20 lipca 2018 r. (z późn. zm.)

Piotr Zaborowski

Warszawa, 29 stycznia 2024r.

