

**Ocena osiągnięcia będącego podstawą dla postępowania habilitacyjnego
pt.: „Charakterystyka progenitorów oligodendrocytarnych oraz ocena wpływu lokalnego
mikrośrodowiska na rozwój i funkcje oligodendrocytów”
oraz dorobku naukowego dr n. przyr. Joanny Sypeckiej**

Dr n. przyr. Joanna Sypecka ukończyła studia w 1990 r. na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego uzyskując dyplom z zakresu mikrobiologii pod opieką prof. dr hab. Zbigniewa Kwiatkowskiego. Wkrótce po dyplomie rozpoczęła studia doktoranckie w Zakładzie Neurochemii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN Warszawie. Osiągnięcia naukowe w trakcie studiów doktoranckich zaoowocowały rocznym Stypendium dla Młodych Naukowców, przyznany przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej. Stopień doktora nauk przyrodniczych nadała jej Rada Naukowa IMDiK PAN w 1996 r. na podstawie obronionej z wyróżnieniem rozprawy „Plejotropowe oddziaływanie mutacji genu PLP u królika Pt”. Powyższa rozprawa została również wyróżniona w konkursie im. Aurelii Baczko na najlepszą pracę doktorską w dziedzinie nauk medycznych w 1996 roku.

Po uzyskaniu tytułu doktora nauk przyrodniczych Habilitantka podjęła pracę w Zakładzie Neurobiologii Naprawczej IMDiK PAN do 2005 r. na stanowisku asystenta a od 2006 roku na stanowisku adjunkta.

1. Ocena osiągnięć naukowo-badawczych Habilitantki

Dorobek naukowy Habilitantki obejmuje 24 artykuły opublikowane w anglojęzycznych czasopismach indeksowanych w bazie ISI Web of Science, z czego 21 to prace oryginalne. Aż w 15 z prac dr Sypecka była 1 autorem, natomiast w 4 drugim współautorem. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (wg ISI Web of Science, zgodnie z rokiem opublikowania) publikacji Habilitantki wynosi 44.505 (punktacja KBN/MNiSW=385). Liczba cytowań (wg bazy ISI Web of Science) wynosi 102 (bez autocytowań), zaś indeks Hirscha = 7. Przed rokiem obrony doktoratu Habilitantka opublikowała 6 prac, wszystkie w języku angielskim, z czego 5 opublikowano w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania IF – sumaryczny współczynnik oddziaływania publikacji dr Sypeckiej przez doktoratem wynosi 3,825. Habilitantka brała również czynny udział w konferencjach krajowych i zagranicznych, jest współautorem 57 doniesień zjazdowych, prezentowanych zarówno w formie referatów jak i prezentacji plakatowych z których 48 przedstawiono na konferencjach międzynarodowych przy czym pierwszym autorem była w 35 z nich. Ponad to dr Sypecka jest autorem 2 rozdziałów w monografiach poświęconych klinicznemu, molekularnemu i komórkowemu aspektom neurochemii i tkance gwałowej oraz autorką 3 artykułów przeglądowych o sumarycznym współczynniku wpływu 3,319.

Podsumowana powyżej aktywność naukowa Habilitantki zaowocowała 6 nagrodami przyznanymi za jej działalność badawczą, jak również znalazła odzwierciedlenie w ocenach paneli recenzentkich przyznających środki na badania naukowe – dr Sypecka była kierownikiem 3 krajowych projektów badawczych w latach 1993-95, 2007-2009 oraz 2010-2012, aktualnie jest głównym wykonawcą 3 innych projektów badawczych oraz w przeszłości była wykonawcą 2 projektów finansowanych z środków MNiSW oraz jednego projektu międzynarodowego finansowanego z środków Komisji Europejskiej (2004-05).

Jak wynika z powyższych danych Habilitantka znacząco rozwinęła się naukowo w okresie po doktoracie, dzięki czemu między innymi powstał cykl ośmiu prac o łącznym współczynniku oddziaływania $IF= 28,004$ i liczbie cytowań około 250 składających się na osiągnięcie będące podstawą wniosku o nadanie tytułu doktora habilitowanego.

W mojej ocenie szczególnie istotnym wydaje się fakt, że cały dorobek Habilitantki ma tę samą ideę przewodnią i ogniskuje się na zaburzeniach procesu gliogenezy oraz mechanizmach regulacyjnych odpowiedzialnych za rozwój i funkcjonowanie komórek gleju skąpowypustkowego, biosyntezę składników mielinę a także nieprawidłowości w formowaniu otoczki mielinowej i jej metabolizmie. Prace wybrane przez Habilitantkę jako podstawa habilitacji stanowią trzon dorobku, jednak pozostałe jej publikacje są dość ściśle powiązane. Nie jest to uwaga krytyczna, przeciwnie uważam, że znaczna spójność tematyczna dorobku naukowego Habilitantki stanowi wielką jego zaletę.

W okresie do 1996 roku czyli przed doktoratem dr Joanna Sypecka badała występującą u królików dziedziczną chorobą neurodegeneracyjną o charakterze leukodystrofii – drżączkę porażną (Pt - paralytic tremor) będącą formą leukodystrofii recesywnej, przenoszonej z chromosomem X a związanej z mutacją punktową genu *plp*, kodującego jeden z głównych składników mielinę. Korzystając z opisanego powyżej modelu zwierzęcego Dr Sypecka w ramach studiów doktoranckich prowadziła badania nad wpływem mutacji genu *plp* na biosyntezę innych składników mielinę, ich transport wewnątrzkomórkowy, formowanie osłonki mielinowej oraz nad korelacją różnorodności fenotypowej cechującej chorobę pt ze stopniem hypomielinizacji OUN udowadniając, że królik pt jest wartościowym modelem zwierzęcym dla występującą u ludzi choroby Pelizaeusa-Merzbachera. Wyniki jej badań stały się podstawą dla opisanych powyżej 6 publikacji oraz 14 komunikatów zjazdowych i zaowocowały wyróżnioną pracą doktorską. Po obronie doktoratu dr Sypecka kontynuowała swoje badania nad chorobą pt, szczególnie w zakresie analogii z występującą u ludzi dziedziczną chorobą Pelizaeusa-Merzbachera co powiększyło dorobek Habilitantki o kolejne 4 publikacje.

Prowadzone przez dr Sypecką podczas studiów doktoranckich badania mechanizmu mielinogenezy i wpływu jego zaburzeń na dojrzewanie oligodendrocytów stały się inspiracją dla kolejnego cyklu badań poświęconego funkcjonowaniu tych komórek, procesom gliogenezy oraz poszukiwaniu możliwości naprawy uszkodzonej tkanki nerwowej. W swoich badaniach

postanowiła ona skupić się na roli neuralnych komórek macierzystych i procesie gliogenezy oraz charakterystyce progenitorów oligodendrocytarnych (OPCs) i określeniu wpływu lokalnego mikrośrodowiska na rozwój i funkcje oligodendrocytów.

Kluczową dla całego cyklu badań jest praca *Different vulnerability to cytotoxicity and susceptibility to protection of progenitors versus mature oligodendrocytes* opublikowana w 2003 roku (Pol. J. Pharmacol., 55, 881-885). Bazując na hipotezie, że jedną z głównych przyczyn nabytych leukodystrofii są następstwa czasowego niedokrwienia/niedotlenienia w okresie okołoporodowym mogące powodować ubytek i/lub dysfunkcję OPCs a w następstwie zaburzenia procesu mielinizacji w badaniach *in vitro* Habilitantka wykazała dużą podatność progenitorów na stres oksydacyjny, który prowadzi do nasilenia zjawiska apoptozy i zahamowania proliferacji pozostałych w tkance progenitorów i przyspieszenia procesu ich dojrzewania. Ponad to, przeprowadzone jednocześnie badania porównawcze OPC i zróżnicowanych oligodendrocytów wykazały znaczną odporność tych ostatnich na okresowe wahania zawartości tlenu w mikrośrodowisku. Ta przesłanka zainspirowała badania nad wpływem składników macierzy zewnątrzkomórkowej na ukierunkowanie neuralnych komórek macierzystych w komórki glejowe, których wyniki zostały opublikowane w drugiej z cyklu prac. Ponownie stosując techniki *in vitro* i linię komórkową HUCB-NSC (*Human Umbilical Cord Blood-derived Neural Stem Cells*) dr Sypecka wykazała, że składowe macierzy zewnątrzkomórkowej takie jak laminina biorą udział w regulacji funkcji OPCs wraz z metaloproteinazami MMP-2 i MMP-9. W kolejnej z prac cyklu próbując wyjaśnić mechanizm udziału metaloproteinaz w procesach zarówno neurogenezy, jak i gliogenezy stosując różnorodne inhibitory badanych enzymów Habilitantka wykazała znamienne spadki zarówno współczynnika proliferacji komórek, jak i liczby nowopowstałych neuronów do którego dochodzi w wyniku spadku aktywności metaloproteinaz. W następnej, czwartej z prac cyklu dr Sypecka postanowiła przeanalizować wpływ czynników takich jak wybrane substancje mitogenne (bFGF, PDGF), troficzne (CNTF, BDNF i T3) i neuromorfogeny (RA, dBcAMP) na przeżywalność, proliferację i dojrzewanie komórek progenitorowych. Dzięki optymalnemu połączeniu poszczególnych związków udało jej się stworzyć system *in vitro* umożliwiający różnicowanie neuralnych komórek macierzystych w neurony, astrocyty oraz oligodendrocyty. Szczególnie interesującym aspektem ostatnio opisanego eksperymentu jest wykorzystanie stworzonego systemu dla potrzeb przeprowadzenia badań neurotoksykologicznych oceniających wpływ leków, zanieczyszczeń środowiskowych czy też preparatów owadobójczych na poszczególne typy komórek wchodzących w skład OUN. Wyniki przeprowadzonych badań zostały opublikowane w artykule: *A human stem cell-based model for identifying adverse effects of organic and inorganic chemicals on the developing nervous system*. (Stem Cells: 27(10):2591-601) o najwyższym współczynniku wpływu z całego cyklu wynoszącym 7.747.

Bazując na danych uzyskanych w systemach *in vitro* wskazujących na istotny wpływ bodźców zewnątrzkomórkowych na populację OPCs w kolejnej fazie swoich badań dr Sypecka postanowiła zastosować system *ex vivo* z zastosowaniem organotypowych skrawków celem odzwierciedlenia interakcji komórkowych. Stosując powyższy system Habilitantce udało się wykazać, że w ciągu pierwszych kilku godzin od umieszczenia OPCs na powierzchni skrawków migrowały one do wnętrza tkanki po czym większość z nich różnicowała się w oligodendrocyty, około 10% w astroglej a blisko 30 % w komórki o fenotypie neuronalnym. Inna niezwykle istotna obserwacja dotyczyła znamiennej dużej liczby OPCs (około 15%), które pomimo bezpośredniego kontaktu z mikrośrodowiskiem bogatym w czynniki stymulujące różnicowanie, pozostały w postaci progenitorów wykazując jednocześnie aktywność proliferacyjną. Poczynione obserwacje pozwoliły sformułować hipotezę, że progenitory oligodendrocytarne, rozproszone w parenchymie mózgu, posiadają wiele cech typowych dla neuralnych komórek macierzystych. Hipoteza ta została zweryfikowana w kolejnej z prac cyklu, w której dzięki zastosowaniu współhodowli pośrednich z zastosowaniem skrawków z hipokampa oraz rdzenia kręgowego udowodniono, że blisko 30 % progenitorów oligodendrocytarnych zróżnicowało się w komórki o fenotypie neuronalnym we współhodowli ze skrawkami hipokampa podczas obecności skrawków rdzenia kręgowego hamowała proces neurogenezy, a różnicowanie pozostałych OPCs w kierunku oligodendrocytów było spowolnione. Co więcej, poddanie skrawków hipokampa uszkodzeniu w mechanizmie niedotlenienia/braku składników energetycznych powodowało niemal całkowite zniesienie efektu neurogenego, zaś dojrzewanie oligodendrocytów przebiegało podobnie jak w samej pożywce bez obecności skrawków, potwierdzając tym samym parakryny charakter sygnałów wpływających na ukierunkowanie i dojrzewanie OPCs. Habilitantka w kolejnej z prac cyklu wykazała również brak wpływu rodzaju zastosowanego skrawka na różnicowanie OPCs w kierunku komórek astrogleju pomimo faktu, że porównanie poziomu ekspresji wybranych czynników troficzych w skrawkach hipokampa i rdzenia kręgowego wykazało, że poziom 9 spośród nich jest znamienne podwyższony w hipokampie, dwóch istotnie wyższy w skrawkach rdzenia kręgowego, w przypadku tylko 4 pozostał na tym samym poziomie.

Ostatnia z prac cyklu została zainspirowana obserwacją poczynioną podczas eksperymentów opisanych powyżej, z której wynikało, że mimo zastosowania restrykcyjnej pożywki hodowlanej, zarówno kontrolne skrawki hipokampa, jak i te poddane uszkodzeniu znacznie dłużej zachowywały właściwą strukturę tkankową w obecności komórek OPCs co wskazuje na potencjał neuroprotekcyny tej populacji komórek. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że progenitory oligodendrocytów mają zdolność sekrecji czynników neuroprotekcyny (BDNF), stymulujących proliferację komórek (II-10, SCF) oraz modulujących lokalną odpowiedź immunologiczną (II-10).

Badania nad czynnikami wpływającymi na różnicowanie neuralnych komórek macierzystych prowadzone przez Habilitantkę stały się również bodźcem dla podjęcia przez nią kolejnego, istotnego problemu badawczego jakim jest poszukiwanie źródeł komórek progenitorowych w celu wykorzystania ich do potencjalnych terapii regeneracyjnych. Szczególną pozycję w dorobku Habilitantki w tym zakresie mają neuralne komórki macierzyste pochodzące z ludzkiej krwi pępowinowej. Poprzez swoje zaangażowanie w projekty naukowe mające na celu charakterystykę *in vitro* neuralnych komórek macierzystych linii HUCB-NSC oraz określenie ich potencjału terapeutycznego w leczeniu skutków uszkodzeń OUN Habilitantka brała udział w eksperymentach zakończonych kolejnymi 5 publikacjami.

Podsumowując, stwierdzam, że scharakteryzowany powyżej, jednotematyczny cykl publikacji wskazany przez Habilitantkę jako osiągnięcie wynikające z art. 16 ust. 2 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 ze zm.) wnosi istotny, oryginalny i ważny wkład do wiedzy światowej, a zaplanowane, przeprowadzone i przeanalizowane przez Habilitantkę eksperymenty jak również będące ich efektem publikacje wskazują na to, że dr n. przyr. Joanna Sypecka jest w pełni dojrzałym pracownikiem naukowym zasługującym na pozycję samodzielnego pracownika naukowego.

2. Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej Habilitantki

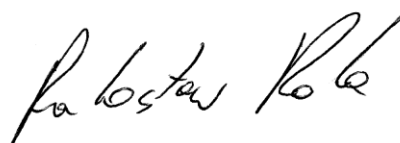
Poza dużym zaangażowaniem w pracę badawczą będącą główną płaszczyzną aktywności zawodowej Habilitantki poświęca ona również czas na popularyzację wiedzy z zakresu procesów gliogenezy i zastosowania komórek macierzystych w naukach biomedycznych uczestnicząc jako wykładowca w szkoleniach organizowanych przez Instytut Farmakologii PAN oraz w ramach wykładów dla uczestników Studiów Doktoranckich IMDiK PAN. Od 2013 roku dr Sypecka jest również koordynatorem merytorycznym z ramienia IMDiK PAN w Zespole zarządzającym projektem „Nowoczesne metody, leki i terapie w ochronie zdrowia i gospodarce Europy XXI wieku – interdyscyplinarne kształcenie w obszarze nauk biomedycznych na studiach II i III stopnia”, który ma na celu wprowadzenie do programu nauczania najnowszej wiedzy z zakresu neurobiologii oraz biologii komórek macierzystych i ich potencjału terapeutycznego. W ramach opisanego powyżej projektu Habilitantka sprawuje opiekę nad praktykantami, licencjuszami, magistrantami oraz doktorantami prowadzącymi prace badawcze w Zakładzie Neurobiologii Naprawczej IMDiK PAN. Obowiązki dydaktyczne dr Sypeckiej obejmowały między innymi funkcję opiekuna naukowego w 2 przewodach doktorskich. Swoje umiejętności organizacyjne Habilitantka zaprezentowała organizując sesję poświęconą komórkom glejowym w ramach XI Międzynarodowego Sympozjum pt. "Molekularne podstawy

patologii i terapii schorzeń neurologicznych" w 2013 roku. W ramach działalności organizacyjnej dr Sypecka uczestniczy także w pracy redakcyjnej kilku wiodących czasopism z zakresu neurobiologii będąc recenzentem takich periodyków jak *Cytotherapy* (IF= 3.275) *Food and Chemical Toxicology* (IF= 3.215), *Molecules* (IF=2.679), *Journal of Neuroscience Methods* (IF= 2.484) czy *Acta Neurobiologiae Experimentalis* (IF=1,977).

Istotnym elementem ścieżki kariery Habilitantki jest współpraca międzynarodowa w ramach której odbyła ona 8 - miesięczny pobyt w Laboratorium Neurochemicznym Uniwersytetu w Lozannie (Laboratoire de Neurochimie, Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois-CHUV), gdzie prowadziła badania nad mechanizmami biosyntezy składników mieliny i wyjaśnieniem molekularnego podłoża wybranych chorób dysmielinizacyjnych. Efektem powyższej współpracy jest 1 publikacja oraz 5 komunikatów zjazdowych. Dr Sypecka w ramach projektu międzynarodowego "Alternative methods for the assessment of acute and chronic neurotoxicity – application of cord blood-derived neural stem cell line" współpracowała również z In-Vitro Methods Unit/ECVAM, Institute for Health and Consumer Protection, European Commission, Joint Research Centre w Isprze we Włoszech. Wynikiem tej współpracy jest 6 komunikatów zjazdowych i 2 publikacje. Kolejną zagraniczną jednostką prowadzącą wspólne badania z Habilitantką jest zakład Neurobiologii Oddziaływań Komórkowych i Neurofizjologii Uniwersytetu w Marsylii (Neurobiologie des Interactions Cellulaires et Neurophysiopathologie (NICN), UMR 6184, CNRS, Aix-Marseille University, Marseille). Współpraca swym zakresem obejmuje badanie udziału metaloproteinaz w procesach neurogenezy i gliogenezy *in vitro* oraz *in vivo* i dotychczas w jej ramach ukazała się 1 wspólna publikacja.

Podsumowanie

Stwierdzając, że dr n. przyr. Joanna Sypecka spełnia wszystkie wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego w rozumieniu rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz.U. 2011 nr 196 poz. 1165) wnoszę o dopuszczenie dr n. przyr. Joanny Sypeckiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.



Lublin, dnia 16.05.2014 r.