

MDC • Robert-Rössle-Straße 10 • 13125 Berlin

Dr. Hab. Pawel Lisowski
Quantitativ Stammzellbiologie
Berliner Institut für Medizinische
Systembiologie (BIMSB)
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare
Medizin (MDC)
in der Helmholtz-Gemeinschaft
Hannoversche Str. 28
10115 Berlin, Deutschland
Haus: +49 30 9406 1370
Phone: +49 30 9406 1370
Mobile: +49 160 95521034
www.mdc-berlin.de/bimsb
pawel.lisowski@mdc-berlin.de

Berlin, 14.05.2021

**Ocena dorobku naukowego i osiągnięcia naukowego dr. Macieja Sasska w
związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie
nauki biologiczne.**

Ocena formalna

Oceniano osiągnięcie naukowe pt. „Wpływ neuropeptydów regulujących metabolizm na funkcjonowanie endokrynej części trzustki wybranych gatunków zwierząt”. Otrzymane przeze mnie materiały zawierające 1) autoreferat; 2) informacje o przebiegu kariery, dorobku naukowym, dydaktycznym, wdrożeniowym i popularyzatorskim; 3) wykaz prac opublikowanych przez Dr. Macieja Sasska, stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego wraz z oświadczeniami współautorów, są kompletne i spełniają wymogi formalne. Załączone oświadczenia współautorów definiują jednoznacznie wiodący wkład dr. Sasska w pracach zgłoszonych w osiągnięciu naukowym.

Ocena merytoryczna dorobku i osiągnięcia naukowego

Ocena kariery naukowej

Dr Maciej Sassek w 2004 r. uzyskał dyplom magistra biologii na Akademii Rolniczej w Poznaniu – brak informacji o temacie pracy magisterskiej. W latach 2004 – 2007 był zatrudniony w Katedrze Fizjologii i Biochemii Zwierząt na stanowisku instruktora. W latach 2007 – 2011 natomiast był zatrudniony w Katedrze Fizjologii i Biochemii Zwierząt na stanowisku asystenta. W 2011 r. obronił rozprawę doktorską pt. „Rola rezystyny w regulacji metabolizmu

węglowodanowo-lipidowego szczura” na Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu i od tego czasu jest zatrudniony w Katedrze Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt na stanowisku adiunkta, co nie przeszkodziło mu w realizacji rocznego stażu podoktorskiego w latach 2011 - 2012, w czasie którego pracował w grupie Profesora Mathiasa Strowskiego, w wiodącym na świecie berlińskim ośrodku naukowym - klinice uniwersyteckiej Charite, z oddziałem Hepatologii i Gastroenterologii i Interdyscyplinarnym Centrum Metabolizmu, Endokrynologii i Diabetologii.

W swojej karierze naukowej Dr Sassek opublikował trzydzieści trzy oryginalne prace twórcze, bez publikacji habilitacyjnych, w tym osiem prac przed uzyskaniem stopnia doktora i dwadzieścia pięć po uzyskaniu stopnia doktora, włączając w to trzy prace o współczynniku $IF > 6$. Łączny Impact Factor tych prac to > 94 z sumą cytowań bez autocytowań powyżej 600 i indexem $H = 15$, wg restrykcyjnej bazy Web of Science. Parametry te świadczą, że na obecnym etapie rozwoju kariery naukowej praca Dr. Saska ma wysokie oddziaływanie na rozwój wiedzy w dziedzinie.

Dr Sassek nie wykazał się członkostwem w redakcjach naukowych monografii jednakże jest współautorem dwóch rozdziałów podręcznika pod redakcją Profesora Hanny Kraus pt.: Fizjologia żywienia, gdzie jest współautorem dwóch rozdziałów: „Rola tłuszczów, białek i węglowodanów w organizmie człowieka” oraz „Rola makroelementów, mikroelementów, i witamin w organizmie człowieka”.

Dr Sassek nie wykazał się aktywnością jako występujący na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych, w tym na zaproszenia - poza wystąpieniem na Zjeździe Polskiego Towarzystwa Neuroendokrynologii, który odbył się w Krakowie we wrześniu 2018 roku, jednakże zgłosił czterdzieści dziewięć komunikatów głównie na konferencjach krajowych i i kilku zagranicznych mimo udziału w czternastu projektach badawczych, w tym w dwóch jako kierownik. Dr Sassek nie pełnił też członkostwa ani w międzynarodowych, ani krajowych organizacjach czy też towarzystwach naukowych natomiast na uwagę zasługuje fakt, że pełnił rolę recenzenta w takich międzynarodowych czasopismach jak Comparative Medicine, Neuropeptides, Frontiers in Physiology oraz w Scientific Reports co wskazuje na docenienie przez wydawców specjalistycznych czasopism ekspertyzy dr. Saska w dziedzinie.

Na uwagę zasługuje również fakt, że Dr. Sassek był wykonawcą w programach europejskich takich jak siódmy program ramowy UE oraz w

dwóch projektach badawczych finansowanych przez firmę NOXXON Pharma AG.

Ocena osiągnięcia naukowego

Określeniem osiągnięcia naukowego ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego jest cykl czterech powiązanych tematycznie oryginalnych artykułów opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych. Prezentowany cykl prac posiada łączny IF 10,3 oraz 100 punktów Ministerstwa Nauki. Prace te opisują działanie jakie wywierają: oreksyna A, speksyna (model szczurzy i świni) i neuropeptyd B na funkcjonowanie wysp trzustkowych w modelu świni oraz szczura, posługując się głównie metodami badawczymi takimi jak: izolacja wysp trzustkowych świni i szczura oraz hodowlę *in vitro* trzustkowych linii komórkowych w celu pozyskania materiału doświadczalnego, test glukozowy w celu określenia sekrecji insuliny u szczurów *in vivo*, ilościowy real-time PCR w celu analizy ekspresji genów na poziomie mRNA, Western Blot w celu analizy ekspresji genów na poziomie białka, Testy RIA i Elisa w celu oznaczenia ilość hormonów we krwi, technika immunofluorescencji w celu wykazania obecności białek w komórkach wysp trzustkowych, Test MTT w celu oznaczenia przeżywalności komórek, Test BrdU w celu oznaczenia tempa proliferacji komórek, Test Cell Death Detection Elisa plus w celu oznaczenia śmiertelności komórek.

W pierwszej prezentowanej pracy dr Sassek, jako autor wiodący i korespondencyjny, skupił się na określeniu wpływu oreksyny A na funkcjonowanie świńskich wysepek trzustkowych. Lokalizacji receptora oreksyny dokonano metodą qPCR i Western Blot, zarówno w izolowanych wysepkach trzustki, jak i całej trzustce. Zbadano wydzielanie insuliny i glukagonu z wysepek po traktowaniu oreksyną-A. Żywotność komórek wysp trzustkowych świni i poziom białka kaspazy 3 mierzono za pomocą testu MTT i techniką Western blot. Receptory oreksyny wykryto w izolowanych wysepkach trzustkowych, a oreksyna-A stymulowała wydzielanie insuliny i zmniejszała wydzielanie glukagonu z izolowanych świńskich wysepek. Ponadto wykryto ochronny wpływ oreksyny A na komórki wysp trzustkowych, który objawiał się wyższą żywotnością komórek i niższą aktywacją kaspazy 3. Według autorów pracy odkrycia te pozwalają lepiej zrozumieć funkcje komórek trzustki oraz możliwe, że dostarczają nowego narzędzia do zapobiegania lub łagodzenia negatywnych konsekwencji

zaburzeń w wyspach trzustkowych, jednakże przypuszczenia te nie zostały kontynuowane, a praca do dzisiaj uzyskała niską liczbę cytowań (6 cytowań).

W drugiej pracy dr Sassek jako również autor pierwszy i korespondencyjny, skupił się na określeniu roli neuropeptydu speksyny w regulacji funkcji wydzielniczych trzustki postępując się metodą inkubacji wysp trzustkowych szczura z różnymi stężeniami glukozy i speksyny, w celu pomiaru wydzielania insuliny. Przeprowadzono testy MTT i BrdU w celu oceny żywotności i proliferacji wysp trzustkowych po zastosowaniu speksyny. Do wykrycia ekspresji RNA insuliny, receptora insuliny i genu PDX zastosowano również metodę qPCR. Autor wykazał, że wydzielanie insuliny z hodowanych komórek oraz izolowanych wysepek zostało zmniejszone przez speksynę na poziomie 16 mM glukozy. U otyłych szczurów wydzielanie insuliny zmniejszyło się po zastosowaniu speksyny, a traktowanie speksyną spowodowało wzrost żywotności i proliferacji komórek hodowlanych i wysepek trzustkowych, a także wzrost poziomu białka jądrowego antygeny proliferującego. Stwierdzono natomiast spadek ekspresji insuliny i Pdx. W tym przypadku badania te wykazały wpływ speksyny na wydzielanie insuliny *in vitro* oraz *in vivo*, a także na żywotność i proliferację komórek, co sugeruje że peptyd ten może być zaangażowany w patogenezę cukrzycy. Pod tym względem speksyna nie była jeszcze przebadana zatem praca ta uzupełnia lukę w badaniach nad funkcją tego ważnego neuropeptydu, na co dowodem jest zainteresowanie społeczności naukowej opublikowanymi wynikami badań – 25 cytowań od 2018 roku.

Jako kontynuację badań nad speksyną Habilitant w kolejnej, trzeciej przedstawionej pracy zbadał lokalizację speksyny w endokrynnej trzustce, mierząc jej wydzielanie *in vitro* z izolowanych wysp trzustkowych przy trzech różnych stężeniach glukozy i czasie podawania, monitorując uwalnianie insuliny oraz szacując ekspresję genów speksyny i insuliny. W pracy tej stwierdzono obecność speksyny w komórkach beta, natomiast co ciekawe wzrost jej uwalniania z wysepek trzustkowych po podaniu glukozy ale spadek po 24 godzinnym podaniu glukozy. Wyniki te sugerują, że podwyższenie stężenia glukozy w krótkim okresie czasu powoduje wzrost uwalniania speksyny i wydzielanie speksyny jest zależne od poziomu insuliny jednocześnie wydzielanej w odpowiedzi na glukozę. W pracy tej stwierdzono ujemne sprzężenie zwrotne pomiędzy speksyną i insuliną, co wskazuje molekularna zależność pomiędzy glukozą, insuliną i speksyną wewnątrz wysepek trzustkowych, których jednak w pracy nie oceniono. Wyniki ekspresji genów nie są jednoznaczne i są trudne do interpretacji. Na przykład

ekspresja genu speksyny na poziomie mRNA była badana po podaniu glukozy w trzech różnych stężeniach i stwierdzono spadek ekspresji genu speksyny dla dwóch wyższych stężeń glukozy. Podobnie badano ekspresję mRNA speksyny po trzech stężeniach insuliny. Tutaj również wykazano zależność przy podaniu większych dawek insuliny ale już ekspresja mRNA insuliny po traktowaniu speksyną nie powodowała statystycznie istotnych zmian. Do wyciągnięcia wniosków na temat regulacji ekspresji badanych genów na poziomie mRNA, Habilitant nie zastosował bardziej restrykcyjnych kontroli w postaci większej liczby genów referencyjnych w szacowaniu ekspresji mRNA oraz nie wiadomo dlaczego w pracach raz stosował gen jeden (Gapdh), a raz drugi (Tbp), a jeszcze innym razem trzeci (Hprt1) – natomiast nigdy te trzy naraz, co pomogłoby w interpretacji wniosków o regulacji ekspresji badanych izoform mRNA. Habilitant nie sprawdził też stabilności ekspresji użytych kontroli endogennych w badanych warunkach eksperymentalnych, ewentualnie nie zastosował szerszego panelu genów referencyjnych, z którego mógłby wybrać odpowiedni zestaw kontroli endogennych. Dlatego też Habilitant z interpretacją takich wyników, szczególnie w przypadku badań nad trzustką powinien być bardziej ostrożny. Szkoda też, że Habilitant nie zastosował w prowadzonych badaniach żadnych technik omicznych (transkryptomicznych, metabolomicznych czy też proteomicznych), co dałoby głębszy obraz molekularny i wgląd w tzw. ontologiczne szlaki biochemiczne, regulujące lub biorące udział w molekularnych zależnościach pomiędzy speksyną, insuliną a glukozą oraz pomogłoby lepiej zrozumieć rozbieżności w prezentowanych przez Habilitanta badaniach, a badaniach na pacjentach gdzie nie obserwuje się np. zmian stężenia speksyny we krwi w odpowiedzi na podanie glukozy.

W czwartej pracy Habilitant zbadał wpływ neuropeptydu B (NPB) na ekspresję i wydzielanie insuliny *in vitro* oraz modulowaniu wzrostu, żywotności i śmierci komórek szczura linii INS-1E, wydzielających insulinę – dostarczonych przez Prof Maechler'a z Genewskiego Uniwersytetu Medycznego. Ekspresję dziesięciu genów (Npbw1, Npb, Ins1, Ins2, Gck, Glut2, Hnf4 α , Mafa, Pdx1, Pgc1 α) oceniano metodą ilościowego PCR. Oceniono również proliferację, żywotność komórek i apoptozę, wydzielanie insuliny oraz fosforylację białek. Stwierdzono, że mRNA genów NPB ulega ekspresji w komórkach INS-1E oraz w wyspach trzustkowych szczura. Według Habilitanta, w komórkach INS-1E NPB zwiększał ekspresję mRNA insuliny 1 poprzez mechanizm zależny od ERK1/2. Ponadto NPB stymulował wydzielanie insuliny przez komórki INS-1E i wysepki trzustkowe szczura, natomiast nie wpłynął na wzrost lub śmierć komórek INS-1E co dało wniosek,

że NPB może regulować wydzielanie i ekspresję insuliny w komórkach INS-1E oraz wydzielanie insuliny w wysepkach trzustkowych szczurów. W tym przypadku, podobnie jak w pracy poprzedniej, szczególnie że prezentowane badania na temat roli NBP opierają się w dużej mierze na badaniach poziomu mRNA panelu dziesięciu genów, należałoby zastosować bardziej restrykcyjne warunki dotyczące zastosowania genów referencyjnych. Tym bardziej, że Western Blot został użyty do oceny fosforylacji ERK1/2 ale nie poziomu ekspresji białek badanego panelu genów.

Podsumowanie i wniosek końcowy.

Wszystkie przedstawione do oceny publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego tworzą spójny twór. Prace są opublikowane w czasopismach o wyższym oraz niższym współczynniku oddziaływania, natomiast stanowią istotny wkład do rozwoju wiedzy w zakresie nauk biologicznych. Dorobek Dr. Macieja Sasska jest liczny, a Habilitant wykazał dużą aktywność i skuteczność w zdobywaniu grantów, był zaangażowany w wiele projektów i wykazał zdolności do współpracy tak w kraju jak i za granicą. Dorobek i osiągnięcie naukowe dr. P. Sasska spełniają wymogi ustawowe i odpowiadają kryteriom stawianym przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne w rozumieniu ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce).

Z poważaniem

