AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I KOMPOZYTÓW

Prof. dr hab. inż. Elżbieta PAMUŁA

Kraków, 18 września 2026

RECENZJA
rozprawy doktorskiej mgr Moniki Wiśniewskiej
pt. "*Biofunctionlization of capillary bioreactor with the use of human hepatocyte-derived proliferating cells as a model of bioartificial liver*"
zrealizowanej pod kierunkiem
Promotor prof. dr. hab. inż. Doroty G. Pijanowskiej
i Promotora pomocniczego Dr. Krzysztofa D. Pluty

Recenzja została opracowana na podstawie uchwały
Rady Naukowej Instytutu Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej
im. Macieja Nałęcza Polskiej Akademii Nauk
oraz zlecenia Dyrektora Instytutu Biocybernetyki
i Inżynierii Biomedycznej PAN
Prof. dr. hab. inż. Piotra Ładyżyńskiego
z dnia 29 czerwca 2026 (data wpływu 18 lipca 2026)

Niewydolność wątroby – kluczowego narządu odpowiedzialnego za metabolizm, filtrację oraz detoksykację organizmu – stanowi bezpośrednie zagrożenie życia pacjenta i rzadko poddaje się standardowemu leczeniu farmakologicznemu. W zaawansowanym stadium choroby najskuteczniejszą metodą ratowania życia pozostaje transplantacja. Niestety, ze względu na ograniczoną dostępność narządów, barierę immunologiczną, przeciwwskazania medyczne, przeprowadzenie transplantacji w trybie natychmiastowym jest praktycznie niemożliwe. W takich sytuacjach kluczową rolę odgrywają terapie pomostowe, których zadaniem jest czasowe podtrzymanie funkcji życiowych pacjenta i ustabilizowanie jego stanu do momentu znalezienia odpowiedniego dawcy.

Akademia Górniczo–Hutnicza | Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Biomateriałów i Kompozytów
al. A. Mickiewicza 30, 30–059 Kraków, tel. +48 12 617 44 48, fax. +48 12 617 33 71
e–mail: epamula@agh.edu.pl, www.ceramika.agh.edu.pl
Regon: 000001577, NIP: 675 000 19 23

Opracowanie w pełni funkcjonalnej biosztucznej wątroby (BAL – *bioartificial liver*) nadal stanowi ogromne wyzwanie technologiczne m.in. z uwagi na brak odpowiedniego źródła komórek i trudności w zapewnieniu odpowiednich warunków ich hodowli.

Biorąc powyższe dane pod uwagę pani mgr Monika Wiśniewska w ramach swojej rozprawy doktorskiej podjęła się opracowania metody izolacji komórek z ludzkiej tkanki wątrobowej, które będą z jednej strony zdolne do namnażania i nie będą ulegały odróżnicowaniu a ponadto będą stanowiły stabilną populację proliferujących komórek pochodzących z ludzkich hepatocytów (ang. *human Hepatocyte-Derived Proliferating Cells* – hHDPC). Doktorantka założyła, że komórki te będą nadawały się do hodowli dynamicznej w warunkach przepływowych, co jest niezbędne w przypadku potencjalnego zastosowania jej w biosztucznych systemach wspomagania wątroby.

Chcę podkreślić, że wybór tematu rozprawy jest trafny, aktualny i właściwie uargumentowany.

Praca doktorska pani mgr Moniki Wiśniewskiej liczy 317 stron i jest zredagowana w języku angielskim. Na początku pracy zamieszczono *Wykaz skrótów* (5 stron), *Streszczenie w języku polskim i angielskim* (4 strony), *Wprowadzenie i przegląd literatury* (36 stron). Kolejny rozdział zawiera tezę i cele pracy oraz najważniejsze jej osiągnięcia (1 strona), po czym następują rozdziały *Materiały* (19 stron), *Metody* (25 stron), *Wyniki* (115 stron), *Dyskusja* (50 stron), *Wnioski* (8 stron) i *Uwagi końcowe* (2 strona). Pracę kończy rozdział *Piśmiennictwo* (aż 355 pozycji), po czym umieszczono *Spis rysunków i tabel*, *Listę publikacji* Autorki a także przedstawiono jej inne aktywności naukowe. Na końcu pracy zamieszczono *Materiały uzupełniające* (7 stron). Praca jest bardzo obszerna ale jej układ jest typowy dla rozpraw doktorskich a pracę cechuje właściwa proporcja między częścią literaturową a doświadczalną.

We *Wprowadzeniu* Doktorantka omówiła budowę anatomiczną i funkcje fizjologiczne wątroby, zwracając uwagę na typy komórek oraz funkcje metaboliczne, w tym m.in. syntezę albumin, alfa antytrypsyny, wątrobowych czynników jądrowych (HNF4α, HNF1α) cytochromów P450, innych czynników wzrostu i cytokin ważnych z punktu widzenia funkcji hepatocytów i mezenchymalnych komórek macierzystych. Dalej przeszła do omówienia chorób wątroby, tytułując ten podrozdział jako *„Faulty liver*"; być może wyrażenia *„Liver diseases*", *„Hepatic dysfunction"* albo *„Liver impairment"* byłyby bardziej odpowiednie, ale uwaga ta nie ma wpływu na moją wysoka ocenę merytoryczną tej części pracy. Dalej omówiono zagadnienia dotyczące transplantacji wątroby i jej niezwykłe funkcje regeneracyjne. Dużo miejsca doktorantka poświęciła metodom izolacji komórek z tkanki wątrobowej opisując ich wady i zalety a także terapiom pomostowym do transplantacji i regeneracji i tu wymienię np. systemy sztucznego wspomagania funkcji wątroby (ALSS) czy biosztuczne systemy wspomagające wątrobę (BALs).

Powyższy rozdział cechuje się rzetelnością przygotowania oraz właściwym doborem najnowszego piśmiennictwa. Wszystkie podjęte w nim wątki ściśle wiążą się z tematem doktoratu, co potwierdza wysoki stopień zorientowania Autorki w analizowanej problematyce.

Następnie Doktorantka przedstawiła tezę naukową i cele rozprawy, które w mojej opinii zostały właściwie sformułowane.

Dalej Autorka opisała materiały używane w pracy: linie komórkowe, pożywki i ich suplementy, przeciwciała, odczynniki, a także zestawy i odczynniki niezbędne do izolacji komórek i przeprowadzenia badań ich fenotypu. Wymieniono również urządzenia, które zostały wykorzystane a ponadto materiały zużywalne i wykorzystywane programy komputerowe. Należy podkreślić, że wykonano to w bardzo skrupulatny sposób.

W następnym rozdziale opisano metody i sposób prowadzenia badań w zakresie kultur komórkowych, izolacji hepatocytów z tkanki wątrobowej (pozyskanych aż od 30 dawców), badań za pomocą cytometrii przepływowej, immunoluorescencji, ELISA, oceny żywotności komórek i ekspresji genów. Ponadto opisano metody

wykorzystane do charakterystyki materiałów wchodzących w skład bioreaktora kapilarnego takie jak np. skaningowa mikroskopia elektronowa, pomiary zwilżalności, przepuszczalności membrany, punktu odcięcia i cytozgodności metodą bezpośrednią i pośrednią. Doktorantka opisała też sposób skonstruowania bioreaktora kapilarnego i systemu do hodowli komórek w warunkach dynamicznych.

Powyższe dwa rozdziały to bardzo szczegółowy i wzorcowy przykład opisu eksperymentów w pracy naukowej – do tej części dysertacji nie zgłaszam żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale *Wyniki* Doktorantka najpierw opisała i zanalizowała dane dotyczące izolacji hepatocytów z tkanek pochodzących od dawców chorych i zdrowych oceniając wpływ różnych enzymów na wydajność izolacji oraz żywotność komórek, przy czym ten ostatni parametr okazał się na bardzo wysokim poziomie, szczególnie w przypadku komórek od dawców płci żeńskiej, zaś efektywność izolacji była najwyższa dla komórek od dawców płci męskiej. Doktorantka prowadziła hodowlę w różnych pożywkach i na zmodyfikowanych kolagenem i fibronektyną powierzchniach w celu poprawy adhezji komórek i ich proliferacji objawiającej się tworzeniem wysp komórkowych. Przebadała szereg wariantów pożywek i zauważyła, że w przypadku fibronektyny najwyższe tempo tworzenia wysp było w pożywce DMEM wzbogaconej w FBS. W przypadku kolagenu było to w pożywce HM wzbogaconej w HGS. Wyizolowane hepatocyty produkowały i wydzielały albuminę i białka specyficzne dla hepatocytów, ale ulegały też odróżnicowaniu jeśli były hodowane w warunkach statycznych. Co interesujące, w warunkach dynamicznych z wykorzystaniem wykonanego przez Doktorantkę biorekatora kapilarnego, aktywność metaboliczna i funkcje wydzielnicze komórek zostały zachowane przez długi czas. Doktorantka przypisała to ułatwionej wymianie masy (transport składników odżywczych i produktów przemiany materii) oraz stymulacji szlaków sygnalizacyjnych mechanotransdukcji. Zgadzam się z tą interpretacją uzyskanych wyników.

Doktorantka uzyskała nową proliferującą populację komórek hHDPCs i poddała ją drobiazgowej analizie. Wykazała, np. że produkują one niektóre białka typowe dla hepatocytów, których

ekspresja ulegała zmianom w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne. Analizując markery typowe dla hepatocytów i komórek progenitorowych wyciągnęła wniosek, że komórki te znajdują się w stanie przejściowym pomiędzy oboma powyższymi rodzajami komórek i mogą stanowić model badawczy procesów regeneracyjnych wątroby. Należy podkreślić, że w pracy przedstawiono bardzo bogaty materiał doświadczalny właściwie zaprezentowany i przeanalizowany, który dotyczył między innymi porównania uzyskanych komórek hHDPCs z komórkami z linii HepG2, C3A i HDFn. Uważam, że Doktorantka przeprowadziła skrupulatną analizę uzyskanych wyników.

W następnym rozdziale Kandydatka do stopnia doktora poddała szczegółowej dyskusji całość przedstawionych wyników, konfrontując je z danymi literaturowymi oraz uwypuklając oryginalny wkład własny. Struktura i treść tego rozdziału nie budzą zastrzeżeń natury merytorycznej bądź redakcyjnej.

W ramach podsumowania dysertacji Doktorantka sformułowała najistotniejsze wnioski oraz nakreśliła przyszłe kierunki badawcze. Nie ulega wątpliwości, że założone cele rozprawy zostały w pełni zrealizowane, a teza uzyskała potwierdzenie na drodze eksperymentalnej. Wysoki poziom metodologiczny, szeroki zakres wykonanych badań, a także dojrzała dyskusja naukowa i potencjał aplikacyjny uzyskanych rezultatów w mojej opinii zasługują na najwyższą ocenę.

Studiując dysertację nasunęły mi się następujące zagadnienia do dyskusji naukowej w czasie publicznej obrony.

Po pierwsze zastanowiły mnie dane zawarte we wstępie literaturowym w rozdziale dotyczącym systemów biosztucznej wątroby BALs, które aby mogły pełnić swoją funkcję terapeutyczną muszą zawierać co najmniej 200 g hepatocytów, a nieraz nawet 600 g. Czy Doktorantka mogłaby opowiedzieć skąd pozyskuje się takie komórki, czy izoluje się je od jednego dawcy, czy od większej liczby dawców, czy mogą się one wywodzić z linii komórkowej pochodzenia nowotworowego, czy mogą być pochodzenia zwierzęcego? Szczególnie interesowałyby mnie systemy, które są obecnie na etapie

badań klinicznych, bo o ile mi wiadomo, to żaden z nich nie przeszedł procesu certyfikacji i nie jest jeszcze dostępny komercyjnie.

Po drugie, opierając się na danych literaturowych i swoim doświadczeniu w izolacji hepatocytów i konstruowaniu bioreaktorów do ich hodowli, czy Doktorantka mogłaby oszacować ile czasu wymagałoby pozyskanie/namnażanie takiej liczby komórek aby mogły wspomóc leczenie jednego pacjenta z niewydolnością wątroby metodą BAL?

Po trzecie, czy w literaturze znajdują się dane jak długo komórki stosowane w systemach BAL, będących na etapie badań klinicznych, mogą właściwie funkcjonować i wspierać pacjentów z niewydolnością wątroby?

Ponadto proszę o komentarz dlaczego Doktorantka używa terminu „populacja" proliferujących komórek wywodzących się hepatocytów hHDPCs a nie używa terminu „linia komórkowa"?

Chciałabym na koniec podkreślić, że pytania, które stawiam w recenzji wynikają z mojej ciekawości naukowej i są zaproszeniem Doktorantki do dyskusji naukowej w czasie publicznej obrony.

Podsumowując, chciałabym zaakcentować, że praca doktorska mgr Moniki Wiśniewskiej pt. "*Biofunctionlization of capillary bioreactor with the use of human hepatocyte-derived proliferating cells as a model of bioartificial liver"* spełnia z nadmiarem wymagania stawiane rozprawom doktorskim w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych w dyscyplinie inżynieria biomedyczna określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021 r. poz. 478), gdyż prezentuje ogólną wiedzę kandydatki w dyscyplinie inżynieria biomedyczna, wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia przez nią pracy naukowej a oprócz tego stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Wnoszę więc o przyjęcie recenzowanej rozprawy oraz dopuszczenie pani mgr Moniki Wiśniewskiej do dalszych etapów postepowania o nadanie stopnia doktora.

Biorąc pod uwagę: (1) kompleksowe podejście doktorantki do tematu oraz końcowy efekt polegający na opracowaniu i zoptymalizowaniu metody izolacji komórek z ludzkiej tkanki wątrobowej, które wykazują wysoką zdolność proliferacji i tworzą stabilną populację komórek; (2) udowodnienie, że wyizolowane hepatocyty wykazują szczególnie korzystne właściwości w warunkach hodowli dynamicznych w bioreaktorze, co predestynuje je do użycia w systemach biosztucznej wątroby; (3) opublikowanie uzyskanych wyników w prestiżowych czasopismach naukowych; (4) realizację prac w ramach projektów finansowanych w drodze konkursów ABM, NCN i NCBiR; (5) upowszechnianie wyników na konferencjach – wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Podpisała prof. dr hab. inż. Elżbieta Pamuła