

Łódź, 15.03.2018

Dr hab. Sylwia Różalska, prof. nadzw. UŁ  
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Uniwersytet Łódzki

### Recenzja

pracy doktorskiej mgr Karola Majewskiego zatytułowanej „**Poziom katelicydyny LL-37 u pacjentów z bakteryjną infekcją dolnych dróg oddechowych oraz z aktywną gruźlicą płuc**”

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Ewy Brzezińskiej-Błaszczyk  
w Zakładzie Immunologii Doświadczalnej,  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Karola Majewskiego dotyczy oceny poziomu peptydu przeciwdrobnoustrojowego – katelicydyny, w surowicy krwi pacjentów z różnymi postaciami bakteryjnego zakażenia dolnych dróg oddechowych oraz z aktywną gruźlicą płuc.

Zakażenia dolnych dróg oddechowych różnymi czynnikami etiologicznymi, w tym szczególnie *Mycobacterium tuberculosis*, są bardzo istotnym problemem zdrowotnym. Eksperti Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) szacują, że ten najgroźniejszy patogen człowieka odpowiedzialny jest w skali globalnej za nawet 1,5 mln przypadków śmiertelnych każdego roku. Sytuacja epidemiologiczna gruźlicy na świecie jest zróżnicowana, problem ten dotyczy również obszaru Unii Europejskiej. Gruźlica płuc jest chorobą wyleczalną choć wymaga przeprowadzenia długiej, sześciomiesięcznej terapii z równoczesnym stosowaniem w początkowej fazie

czterech, a następnie dwóch leków przeciwprątkowych. Największym zagrożeniem w realizacji programów zwalczania gruźlicy są występujące co raz częściej zjawiska wielolekooporności (MDR) oraz ekstremalnej wielolekooporności (XDR) prątków.

W przypadku długotrwałych infekcji bakteryjnych bardzo ważnym aspektem jest prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego, zależne od szeregu uzupełniających się mechanizmów i czynników. Ważną rolę pełnią w nim czynniki humoralne, do których zaliczamy różne peptydy przeciwdrobnoustrojowe o szerokim spektrum działania. Do tych peptydów należy między innymi katelicyna LL-37, która nie tylko uszkadza błonę komórkową mikroorganizmów poprzez wytwarzanie w niej kanałów, ale także wykazuje wielokierunkowe działanie modulujące przebieg procesów odpornościowych, tym samym pośrednio regulując odpowiedź układu immunologicznego skierowaną przeciwko patogenom.

Przedstawiona do mojej oceny rozprawa doktorska ma charakter spójnego tematycznie zbioru publikacji, w skład którego wchodzi 5 prac oryginalnych. Cztery prace zostały opublikowane w czasopismach uwzględnionych w Journal Citation Reports (Clinical & Investigative Medicine, Central European Journal of Immunology, Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents) oraz jedna w Przeglądzie Epidemiologicznym. Publikacje te są zamieszczone w rozprawie doktorskiej oraz poprzedzone wprowadzeniem wraz z omówieniem celu naukowego i uzyskanych wyników. Naukowa wartość poszczególnych publikacji została już oceniona przez niezależnych ekspertów, ale jako recenzent rozprawy stwierdzam, że artykuły stanowią spójną całość a ich treść w pełni odpowiada założeniom pracy. Należy podkreślić, że we wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem a jego wiodący udział (od 50 do 65%) został potwierdzony oświadczeniami współautorów. Sumaryczna wartość Impact Factor prezentowanych prac wynosi 4,652 a sumaryczna punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego wynosi 82. Pozostały dorobek naukowy mgr Karola Majewskiego obejmuje dwie publikacje oraz sześć doniesień konferencyjnych.

We „Wprowadzeniu” do rozprawy Doktorant zawarł najważniejsze informacje związane z epidemiologią gruźlicy zarówno w Polsce, jak i na świecie, zwracając szczególną uwagę na narastający problem występowania gruźlicy wielolekoopornej

(MDR). W dalszej części tego rozdziału, mgr Majewski szeroko opisał jeden peptydów przeciwdrobnoustrojowych - katelicydynę (LL-37), syntezowaną przez wiele typów komórek między innymi w odpowiedzi na infekcje bakteryjne, jednocześnie wskazując na rozbieżny i niejednoznaczny charakter danych literaturowych dokumentujących poziom LL-37 w przebiegu infekcji. Rozdział ten napisany w oparciu o prawidłowo dobrane piśmiennictwo, jest dobrym wprowadzeniem do omówienia prac wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej i uzasadnia celowość przeprowadzonych badań.

Głównym celem recenzowanej pracy było określenie zależności pomiędzy stężeniem kationowego peptydu katelicydyny (LL-37) w surowicy krwi pacjentów z różnymi postaciami bakteryjnego zakażenia dolnych dróg oddechowych a czynnikiem etiologicznym wywołującym infekcję.

Rozdział „Materiały i Metody” stanowi uzupełnienie odpowiednich fragmentów publikacji będących podstawą ocenianej rozprawy. Przedstawione przez mgr Majewskiego szczegóły dotyczące wykorzystywanych materiałów i procedur (np. testów lekowrażliwości nie zawsze mogły znaleźć się w opublikowanych artykułach a są bardzo wartościowym elementem, który będzie mógł służyć innym młodym badaczom jako cenna pomoc w zaplanowaniu i przeprowadzeniu własnych eksperymentów.

Przedstawiony przez Doktoranta opis najważniejszych wyników zawartych w publikacjach zebranych w rozprawie doktorskiej wskazuje na logiczny schemat postępowania zmierzający do oceny poziomu przeciwdrobnoustrojowego peptydu katelicydyny LL-37 u pacjentów ze zdiagnozowanym bakteryjnym zapaleniem lub z gruźlicą płuc.

Pierwsza publikacja umieszczona w dysertacji zatytułowana „Evaluation of detection and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in patients in the Łódzkie voivodship in 2009-2013”, uzasadnia celowość prowadzenia badań dotyczących oceny nie tylko wykrywalności, ale także lekooporności prątków *Mycobacterium tuberculosis* u pacjentów pochodzących z województwa łódzkiego. Otrzymane przez mgr Karola Majewskiego wyniki jednoznacznie potwierdziły, że

gruźlica jest nadal poważnym problemem klinicznym i epidemiologicznym. Należy jednak zaznaczyć, że pomimo, iż w większości zdiagnozowanych przypadków badania laboratoryjne potwierdziły rozpoznanie kliniczne, to odsetek przypadków tej choroby potwierdzonych bakteriologicznie jest nadal niezadawalający. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że prawie 2% z wyizolowanych szczepów wykazywało wielolekooporność typu MDR, spośród których jeden wykazywał ekstremalną wielolekooporność (XDR).

W omówieniu wyników Doktorant jedynie wspomniał o nowoczesnych testach diagnostycznych pozwalających na zwiększenie wykrywalności *M. tuberculosis*. W związku z tym poproszę Doktoranta o scharakteryzowanie tych metod oraz o odpowiedź na pytanie o ile mogą one skrócić czas diagnozy.

W kolejnych publikacjach oryginalnych mgr Karol Majewski skoncentrował się na ocenie poziomu przeciwdrobnoustrojowego peptydu katelicydyny LL-37 u pacjentów ze zdiagnozowanym bakteryjnym zapaleniem płuc wywołanym różnymi gatunkami bakterii, lub infekcją wywołaną *M. tuberculosis*. Poziom katelicydyny u chorych na gruźlicę płuc okazał się być istotnie statystycznie wyższy w porównaniu do osób z zapaleniem płuc wywołanym bakteriami Gram-dodatnimi i Gram-ujemnymi oraz do osób zdrowych, co jak sugeruje Doktorant, może wynikać z faktu, iż kwasy mykolowe oraz czynnik wiążkowy, obecne w ścianie komórkowej prątków, są silnie immunogenne. Otrzymane przez mgr Karola Majewskiego wyniki są interesujące, gdyż rola katelicydyny LL-37 w infekcji *M. tuberculosis* jest wciąż dyskutowana. Poproszę Doktoranta o odpowiedź na pytanie, które jeszcze komponenty komórek prątków, poza tymi wymienionymi powyżej, odznaczają się wysoką immunogennością.

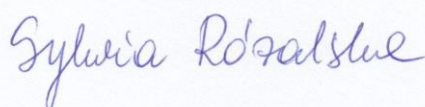
Niezwykłe ciekawa jest również obserwacja dotycząca poziomu katelicydyny w surowicy chorych z zapaleniem płuc wywołanym bakteriami oportunistycznymi (np. *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* czy *Acinetobacter baumannii*). Poziom badanego peptydu był istotnie niższy w porównaniu do w próby kontrolnej, co jak sugeruje Doktorant może odzwierciedlać zmniejszoną reaktywność układu odpornościowego u tej grupy chorych.

W ostatniej publikacji wchodzącej w skład rozprawy Doktorant poszukiwał korelacji pomiędzy stężeniami katelicyny, czynnika martwicy nowotworu (TNF) oraz witaminy D w surowicy pacjentów z aktywną gruźlicą płuc. Czynniki TNF odgrywa istotną rolę w mechanizmach obronnych rozwijanych w przebiegu infekcji prątkami gruźlicy. Z kolei witamina D jest regulatorem wielu procesów immunologicznych i tak np. w keratynocytach, monocytach lub makrofagach reguluje ekspresję genu CAMP, który koduje nieaktywne białko prekursorowe hCAP18, z którego powstaje aktywny peptyd - katelicyna LL-37. W badaniach przeprowadzonych przez Doktoranta nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy tymi zmiennymi u chorych na gruźlicę płuc. W związku z tym poproszę Doktoranta o postawienie hipotezy dotyczącej braku korelacji pomiędzy ilością katelicyny LL-37 a stężeniem witaminy D w surowicach pacjentów chorych na gruźlicę płuc.

Przedstawiona rozprawa świadczy o dojrzałości naukowej Doktoranta. Rozdziały uzupełniające zbiór publikacji napisane są w sposób ciekawy i przystępny, z dbałością o szczegóły i poprawność językową.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Karola Majewskiego spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). W związku z powyższym, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie Pana Karola Majewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



Dr hab. Sylwia Różalska, prof. nadzw. UŁ