



WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA
Uniwersytet Łódzki

Łódź, dnia 29.09.2018 r.

Prof. dr hab. Wiesława Rudnicka
Zakład Immunologii
Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych Pani mgr Justyny Agier z Zakładu Immunologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pt. „Peptydy przeciwdrobnoustrojowe w regulacji fenotypu i aktywności mastocytów”.

Recenzję rozprawy doktorskiej mgr Justyny Agier przygotowałam w oparciu o bardzo starannie przygotowane materiały zawierające:

- monotematyczny cykl pięciu publikacji, trzech prac oryginalnych i dwóch poglądowych, opublikowanych w czasopismach z listy JCR, których ogólny IF=11,876, a ogólna liczba punktów MNiSW wynosi 115, w których doktorantka jest pierwszym autorem, a Jej udział w ich powstaniu wynosił 50-80%.
- autoreferat, w którym przedstawiono w zwięzły sposób cele, metodykę, najważniejsze wyniki badań i ich dojrzałą interpretację zakończoną wnioskiem o znamiennej choć zróżnicowanej aktywności katelicyny LL-37 i defensyny hBD-2 w nasilaniu przeciwdrobnoustrojowej wydajności mastocytów będących ważnym ogniwem w obronie przed patogenami,
- oświadczenia wszystkich współautorów publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej,
- wykaz pozostałego dorobku naukowego obejmującego osiem prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach z listy JCR oraz sześć artykułów poglądowych, wszystkie z listy MNiSW, w tym cztery z listy JCR, o ogólnym wskaźniku oddziaływania wynoszącym 280 punktów MNiSW i IF=25,913.

- wykaz 41 komunikatów zjazdowych, w tym 3 prezentowanych na konferencjach zagranicznych.

W cyklu pięciu publikacji stanowiących rozprawę doktorską Pani mgr Justyny Agier, autorka w konsekwentny sposób realizuje główny cel naukowy, jakim jest określenie udziału i skutków pobudzenia zewnątrzkomórkowych i wewnątrzkomórkowych receptorów rozpoznających wzorce (PRP- pattern recognition receptors) z grupy TLR (Toll-like receptors), NLR (NOD-like receptors) i RIG (RIG-like receptors), w odpowiedzi dojrzałych mastocytów szczura na dwa peptydy przeciwdrobnoustrojowe, katelicydynę LL-37 i defensynę hBD-2. Wytyczony cel badawczy wpisuje się w aktualny trend wyznaczenia nowych strategii zwalczania zakażeń stanowiących najtrudniejsze problemy kliniczne, opartych na wiedzy o mechanizmach odporności wrodzonej uruchomianych krótko po kontakcie patogenu z organizmem gospodarza. W świetle tego trafny jest wybór obiektu badań, którym są komórki tuczne lokalizujące się we wrotach zakażenia, szybko reagujące na wywołane przez drobnoustroje zmiany w mikrośrodkowisku zapalnym i wydzielające mediatory, chemokiny i cytokiny regulujące przebieg reakcji zapalnej i wygaszania infekcji. Włączenie do badań katelicydyny LL-37 i defensyny hBD-2 stanowi konsekwentne rozszerzenie w pełni oryginalnego planu badań.. Rozprawę doktorską rozpoczyna opublikowana w 2016 r., w Post. Hig. Med. Dośw., praca pogładowa, która w uporządkowany sposób przedstawia aktualny stan wiedzy o katelicydynach i defensynach, sieci receptorów rozpoznających te peptydy ze szczególnym zaznaczeniem ich ekspresji na komórkach tucznych, roli tych komórek w obronie przed patogenami i modyfikacjom jakim podlegają w środowisku katelicydyn i defensyn. Zręczne zestawienia różnych opinii cytowanych autorów w kwestii omawianych procesów pozwoliły na punktowanie w artykule problemów czekających na rozwiązanie, które dodatkowo uzasadniły znaczenie zaplanowanych przez mgr J. Agier badań, w których doktorantka umiejętnie wykorzystywała doświadczenie i bogaty warsztat badania komórek tucznych przez zespół Pani prof. dr hab. Ewy Brzezińskiej-Błaszczak, promotora w recenzowanym przewodzie doktorskim. W pierwszej pracy oryginalnej opublikowanej w 2016 r. w Centr. Europ. J., określono ekspresję powierzchniową i endosomalną sześciu receptorów Toll-podobnych na dojrzałych otrzewnowych mastocytach szczura. Wykazano ilościowe różnice w ekspresji poszczególnych receptorów z dominacją powierzchniowej ekspresji TLR5 i wewnątrzkomórkowej ekspresji TLR7 i TLR9 co udokumentowało zdolność dojrzałych komórek tucznych do wybiórczego wiązania wzorców strukturalnych bakterii, wirusów i grzybów. Te obserwacje pozwoliły na postawienie pytania czy ekspresja badanych receptorów ulegnie zmianie pod wpływem katelicydyny LL-37. Pozytywną odpowiedź na to pytanie uzyskano w pracy oryginalnej

opublikowanej w 2018 r. w *J. Immunol. Res.* (IF=3,298). Katelicydyna LL-37 indukowała nadekspresję powierzchniowych receptorów TLR2, TLR4 i TLR9 oraz wewnątrzkomórkowych cząsteczek TLR3, TLR5 i TLR7 w mastocytach szczura. Obserwowano również translokację określonych receptorów, głównie TLR3, z powierzchni do cytoplazmy i odwrotnie. Interesujące wyniki uzyskano w doświadczeniach, w których antagonisty receptora N-formylowanych peptydów 2 (FPR2) oraz inhibitor receptora czynnika wzrostu naskórka (EGFR) hamowały stymulujące działanie katelicydyny LL-37 na ekspresję TLR2 i TLR4, sugerując udział tych receptorów w funkcjonowaniu komórek tucznych szczura. Rozwijając ten nurt badań w opublikowanej w *Scientific Reports* (IF=4,122) pracy, przedstawiono całkowicie nowatorskie dane ilustrujące nasilenie ekspresji cytoplazmatycznych receptorów NOD1, NOD2 i RIG-1 na dojrzałych mastocytach szczura, wywoływane działaniem katelicydyny LL-37 i defensyny hBD-2. Niezwykle interesujące są dane o zróżnicowanej reakcji komórek tucznych na działanie obu peptydów przeciwdrobnoustrojowych, objawiające się syntezą i wydzielaniem leukotrienu cysteinylowego cystLT tylko w odpowiedzi na defensynę hBD-2. Natomiast oba peptydy indukowały wydzielanie chemokin CCL2 i CCL3 przez mastocyty, degranulację tych komórek i wydzielanie histaminy, generowanie reaktywnych form tlenu i aktywność migracyjną komórek tucznych. Ostatnia praca cyklu stanowiącego rozprawę doktorską to artykuł poglądowy opublikowany w 2018 r. w *Inflammation Research* (IF=2.990), który stanowi podsumowanie badań nad komórkami tucznymi i wykorzystywaniem przez nie receptorów sygnałowych pozwalających reagować na sygnały niebezpieczeństwa w postaci wnikających do organizmu drobnoustrojów lub czynników wewnątrzustrojowych generowanych w odpowiedzi na zakażenie.

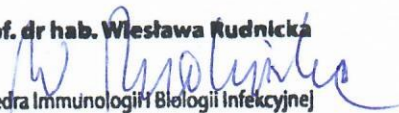
Recenzowany monotematyczny cykl 5 publikacji w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wchodzące w skład cyklu publikacje wnoszą wiele istotnych informacji i trwałej wiedzy o samych komórkach tucznych, ich reakcji na działanie przeciwdrobnoustrojowych peptydów, aktywności determinującej rozpoznawanie zewnętrznych i endogennych sygnałów niebezpieczeństwa oraz pośrednio o zdolności mastocytów do wchodzenia w interakcje z innymi komórkami układu odpornościowego. Moją wysoką merytoryczną ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr J. Agier dodatkowo wzmacnia imponujący zakres nowoczesnych metod użytych w doświadczeniach (ilościowy RT-PCR, techniki immunoenzymatyczne w tym Western blot, cytometria przepływowa i spektrofluorymetria, mikroskopia konfokalna), które pozwoliły śledzić badane procesy na wielu płaszczyznach co wybitnie podnosi wiarygodność uzyskiwanych wyników.

Poza pracami włączonymi do monotematycznego cyklu pięciu publikacji, osiągnięcia naukowo-badawcze doktorantki obejmują osiem prac oryginalnych i sześć poglądowych opublikowanych w latach 2015-2018, w tym 12 z listy JCR z IF od 0,309 do 8,483, których sumaryczny IF wynosi 25,913, a liczba punktów MNiSW 280. Dołączony do rozprawy wykaz 41 komunikatów zjazdowych, w tym 3 na konferencjach zagranicznych, stanowi świadectwo uczestniczenia mgr J. Agier w popularyzacji osiągnięć badawczych.

Podsumowując, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji Rozprawa doktorska Pani mgr Justyny Agier, zatytułowana „Peptydy przeciwdrobnoustrojowe w regulacji fenotypu i aktywności mastocytów” stanowi istotny wkład w rozwój wiedzy o komórkach tucznych i mechanizmach reakcji indukowanych w nich w środowisku naturalnych peptydów przeciwdrobnoustrojowych, procesów które decydują o przebiegu zakażeń i towarzyszących im reakcji zapalnych. Jednocześnie stwierdzam, że Rozprawa ta spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom na stopień doktora zawarte w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.2003 Nr 65 poz. 595 z póź. zm.) oraz wyrażone w Uchwale nr 30/2017 z dnia 26 stycznia 2017 r. Senatu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w sprawie warunków ubiegania się o nadanie stopni naukowych lub tytułu naukowego w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Tym samym wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Justyny Agier do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych.

Doceniając duże znaczenie naukowe rozprawy doktorskiej stanowiącej ważny wkład w rozwój wiedzy o odporności, zastosowanie w badaniach całego spektrum metod z zakresu immunologii molekularnej i komórkowej, a także imponujący sumaryczny IF= 37,789 i punktację MNiSW równą 395, z pełnym przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie Rozprawy doktorskiej Pani mgr Justyny Agier stosowną nagrodą.

prof. dr hab. Wiesława Rudnicka


Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej
Uniwersytetu Łódzkiego