



Łódź, 31 maja 2019 r.

**WYDZIAŁ BIOLOGII  
i OCHRONY  
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. nadzw. UŁ  
Zakład Immunologii Komórkowej  
Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej  
Uniwersytet Łódzki  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź  
magdalena.druszczyńska@biol.uni.lodz.pl

**OCENA**

**rozprawy doktorskiej mgr Elżbiety Kozłowskiej pt.  
„Wybrane parametry reaktywności układu odpornościowego w różnych  
chorobach psychicznych”**

Przez długi czas uważano, że układ odpornościowy, stanowiący sieć różnorodnych międzykomórkowych interakcji, jest niezależnie funkcjonującym systemem w organizmie człowieka. Bliższe poznanie mechanizmów funkcjonowania układu odpornościowego, jak i nagromadzenie danych doświadczalnych wskazujących na związek procesów odpornościowych z oddziaływaniem układów nerwowego i endokrynnego, pozwoliło powiązać ze sobą te trzy układy zarówno czynnościowo, jak i regulacyjnie. Obecnie wiadomo, że systemy te, odbierając szereg bodźców środowiskowych, ściśle ze sobą współpracują i oddziałują na siebie nawzajem. Szczególne zainteresowanie badaczy zajmujących się problematyką wzajemnych relacji między układem odpornościowym a układem nerwowym wzbudza udział mechanizmów odpornościowych stanów zapalnych w etiopatogenezie chorób i zaburzeń psychicznych. Mgr Elżbieta Kozłowska włączyła się w szeroki nurt badań z tego zakresu, podejmując ambitny temat oceny wybranych parametrów układu odpornościowego u pacjentów z zaburzeniem depresyjnym jednobiegunowym lub nawracającym, chorobą afektywną dwubiegunową oraz

schizofrenią paranoidalną. Przegląd publikacji zawartych w bazie *Pubmed* jednoznacznie świadczy, że badania dotyczące roli elementów układu odpornościowego w rozwoju chorób psychicznych są niezbyt liczne, a ich wyniki niejednoznaczne. Podjęty temat uważam za w pełni uzasadniony, aktualny i ważny pod względem poznawczym oraz potencjalnie aplikacyjnym w kontekście etiopatogenezy, diagnostyki i terapii chorób psychicznych.

Będąca przedmiotem recenzji rozprawa doktorska stanowi cykl spójnych tematycznie pięciu oryginalnych publikacji naukowych opatrzonych 13-stronicowym opisem. Sumaryczna wartość współczynnika impact factor (IF) wspomnianych prac wynosi 9,029, co odpowiada 130 punktom MNiSW (wskaźniki podane przez Autorkę zgodnie z rokiem publikacji). Wszystkie prace zostały opublikowane w ciągu ostatnich 2 lat, a ich indywidualny współczynnik oddziaływania wynosi od 1,528 do 2,223. Warto podkreślić, że Pani mgr Elżbieta Kozłowska jest pierwszym autorem wszystkich pięciu ujętych w cyklu prac, a Jej udział w ich powstaniu waha się od 50 do 60%, co wskazuje na wiodącą rolę Doktorantki w prezentowanych badaniach. Tym samym zbiór publikacji składających się na niniejszą rozprawę doktorską w całości spełnia, a nawet przewyższa, minima zdefiniowane w warunkach ubiegania się o stopnie naukowe lub tytuł naukowy w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi zgodnie z Uchwałą 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.

Recenzowana dysertacja ma układ typowy dla rozpraw przygotowanych w oparciu o dorobek publikacyjny (zgodny z wytycznymi zawartymi w Uchwale z posiedzenia Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu z dnia 21.11.2017r. w sprawie określenia wytycznych dla doktorantów przygotowujących rozprawę doktorską w oparciu o dorobek publikacyjny). Zawiera ona rozdziały: *Wprowadzenie*, *Cel pracy*, *Metodyka badań*, *Omówienie wyników*, *Wnioski*, *Streszczenie* (w języku polskim i angielskim) i *Piśmiennictwo*. Dodatkowo do rozprawy dołączono kopie artykułów wchodzących w skład rozprawy, oświadczenia współautorów artykułów z podaniem procentowego wkładu pracy oraz zakresem udziału w publikacjach oraz listę pozostałego dorobku naukowego Doktorantki.

Przygotowane *Wprowadzenie* stanowi dobry wstęp do podjętej tematyki badawczej. Zawiera krótką charakterystykę humoralnych i komórkowych elementów wrodzonej i nabytej odpowiedzi odpornościowej, opis cytokin regulujących aktywność komórek odpornościowych i wyjaśnienie roli receptorów Toll-podobnych (TLR) w inicjacji odpowiedzi immunologicznej. W tym miejscu chciałabym poprosić Doktorantkę o krótkie odniesienie się do informacji zamieszczonej na str. 5 (wiersz 1-3) cyt. „Poza oczywistymi powiązaniem pomiędzy układem nerwowym a endokrynnym, na stan psychiczny wpływa funkcjonowanie układu trawiennego, zakłócenie bariery jelitowej oraz skład mikrobioty jelitowej”. W ostatnich latach zwrócono uwagę, że mikrobiota jelitowa może być powiązana nie tylko z chorobami gastroenterologicznymi, lecz także z zaburzeniami psychiatrycznymi takimi jak depresja, zaburzenia lękowe, autyzm, anoreksja, a nawet choroba Alzheimera czy choroba Parkinsona. Na czym polega związek między mikrobiotą jelitową a funkcjonowaniem ośrodkowego układu nerwowego? Czy znany jest mechanizm komunikacji mikroflory jelitowej z układem nerwowym? I skoro skład mikrobioty jelitowej ulega ciągłym zmianom w czasie życia człowieka pod wpływem różnorodnych czynników, czy modyfikacja składu mikroflory jelitowej może mieć potencjał terapeutyczny w leczeniu chorób psychicznych?

*Cel pracy*, wynikający bezpośrednio z krótkiego *Wprowadzenia* jest sformułowany jasno, z wydzieleniem trzech cząstkowych zadań, które obejmują: (1) ocenę surowiczego poziomu katelicydyny LL37 w grupach pacjentów z depresją jednobiegunową, chorobą afektywną dwubiegunową lub schizofrenią oraz zdrowych ochotników; (2) ocenę reaktywności komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC) pacjentów ze schizofrenią i zdrowych ochotników określanej na podstawie produkcji IL-1 $\beta$ , IL-17A, TNF, IFN- $\gamma$  i IL-10 w hodowlach PBMC stymulowanych mitogenem (PHA) lub niestymulowanych; (3) ocenę poziomu ekspresji genów kodujących receptory Toll-podobne (TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9) na poziomie mRNA w komórkach jednojądrzastych pełnej krwi pacjentów chorujących na schizofrenię oraz zdrowych osób.

W rozdziale *Metodyka badań* Autorka opisuje objęte badaniami grupy pacjentów i wymienia zastosowane w pracy techniki badawcze. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej do Spraw Badań na Ludziach przy Uniwersytecie Medycznym w

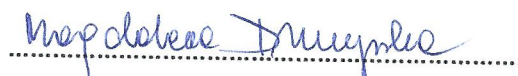
Łodzi (uchwała nr RNN/122/16/KE). Jak wynika z informacji podanej na str. 6 (wiersz 4-5) cyt. "Do badania włączono pacjentów w stabilnym stanie psychicznym, w trakcie ustabilizowanej farmakoterapii". Czy w opinii Doktorantki podawane pacjentom leki mogły mieć wpływ na badane parametry odpornościowe? Czy znany jest mechanizm ich działania? W omawianym rozdziale uwagę zwraca bardzo szeroki wachlarz wykorzystanych metod badawczych, począwszy od metod immunoenzymatycznych, prowadzenie hodowli komórkowych i użycie techniki cytometrii przepływowej, a skończywszy na zastosowaniu metody qPCR. Wszystkie uzyskane przez Doktorantkę wyniki zostały poddane wieloparametrycznej analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietów STATA 14.1 i Statistica 12.5. Różnorodność i duża liczebność pozyskanego do badań materiału klinicznego oraz bardzo dobry dobór grup badanych, zarówno pod względem wieku, jak i płci, niewątpliwie świadczy o dużym doświadczeniu Doktorantki w planowaniu badań typu case-control, a także o dobrej umiejętności nawiązywania przez Doktorantkę współpracy z innymi jednostkami, jak w tym przypadku z Kliniką Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

W rozdziale *Omówienie wyników* Doktorantka bardzo czytelnie przedstawia uzyskane wyniki. Należy zaznaczyć, że uzyskane wyniki podlegały już ocenie w ramach trybu recenzowania publikacji w czasopismach naukowych i powstały w oparciu o dużą liczbę ochotników objętych badaniami. Tematyka trzech z pięciu publikacji naukowych z cyklu dotyczy przeciwdrobnoustrojowego peptydu zwanego katelicydyną LL-37, który, stanowiąc element odporności humoralnej, odgrywa wielofunkcyjną rolę w przebiegu procesów zapalnych. Ciekawym rezultatem jest obserwowany przez Autorkę wzrost surowiczego poziomu LL-37 wśród osób z depresją (*Psychiatry Res, 2017; 255:156-160*) lub chorobą dwubiegunową (*J Clin Neurosci 2018; 48: 168-172*) i wyraźne obniżenie stężenia tego peptydu w surowicach chorych na schizofrenię (*J Biosci 2018; 43: 321-327*) w porównaniu do poziomu obserwowanego u osób zdrowych. Obserwacja ta uzasadnia sugestię Doktorantki o udziale dysregulacji odpowiedzi odpornościowej w patogenezie chorób psychicznych, nasuwając moje pytanie o różnice w podłożu molekularnym lub funkcjonalnym zaburzeń psychicznych objętych przez Autorkę badaniami. W kolejnej publikacji z recenzowanego cyklu prac (*Psychiatry Res 2019; 272: 540-550*) Doktorantka wykazała znamienne wyższą ekspresję mRNA TLR3 i TLR7, lecz istotnie niższą ekspresję

mRNA TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 i TLR9 wśród chorujących na schizofrenię pacjentów w stosunku do poziomu ekspresji tych genów w zdrowej grupie kontrolnej. Równocześnie nie zaobserwowano żadnych różnic w poziomie ekspresji mRNA TLR5 i TLR8 w badanych grupach. Jakimi zmianami w aktywowanych procesach odporności wrodzonej mogą skutkować wykazane przez Doktorantkę zmiany w ekspresji receptorów Toll-podobnych? Czy możliwe jest, podobnie jak obserwowane w surowiczym poziomie katelicydyny LL-37, występowanie różnic w ekspresji poszczególnych receptorów TLR w różnych zaburzeniach psychicznych? W ostatniej stanowiącej dopełnienie recenzowanej dysertacji publikacji (*J Investig Med* 2019) Doktorantka wykazała zmiany w aktywności sekrecyjnej komórek jednojądrzastych krwi obwodowej chorych na schizofrenię. Komórki chorych w porównaniu do leukocytów osób zdrowych cechowały się znamienne niższą konstytutywną produkcją TNF, a, co ciekawe, po stymulacji PHA wykazywały istotnie wyższy poziom sekrecji IFN- $\gamma$  i produkowały kilkakrotnie więcej IL-17A oraz TNF. Szczególną uwagę wzbudza wybitna reaktywność leukocytów jednojądrzastych chorych na schizofrenię wykazana na podstawie zdolności syntezy cytokin w odpowiedzi na stymulację, znacznie przewyższająca reaktywność komórek osób zdrowych. Wykazane różnice pozwoliły Doktorantce na postawienie, słusznej w moim przekonaniu, hipotezy o istotnym znaczeniu sieci cytokinowej w patomechanizmie schizofrenii oraz w rozwoju procesów neurodegeneracyjnych towarzyszących tej chorobie.

Podsumowując, przedstawiona mi do oceny dysertacja podejmująca aktualną tematykę powiązań pomiędzy układem nerwowym a odpornościowym spełnia wszystkie warunki stawiane pracom na stopień naukowy doktora. Wysoki udział procentowy Doktorantki w pracach wchodzących w skład cyklu publikacji potwierdza Jej istotny udział w prowadzonych badaniach. Autorka wykazała wiele parametrów wskazujących na odmienne funkcjonowanie układu odpornościowego w chorobach psychicznych, celnie wskazując możliwość kontynuacji zrealizowanych badań niezbędnych do pogłębienia wiedzy w tym zakresie. Podkreślenia wymaga także dotychczasowy dorobek doktorantki liczący 15 publikacji (IF=20,860, 244 pkt MNiSW), spośród których w dwóch Doktorantka jest pierwszym autorem, oraz bogaty dorobek konferencyjny liczący 41 doniesień na zjazdach o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Elżbiety Kozłowskiej 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.) i wnioskuję do Wysockiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Pragnę dodać, że zarówno wysoka wartość merytoryczna pracy, duża różnorodność pozyskanego do badań materiału klinicznego świadcząca o dobrej organizacji warsztatu pracy Doktorantki, a także zastosowanie szerokiego wachlarza metod badawczych wraz z uważną analizą wyników i ich interpretacją uzasadniają mój dodatkowy wniosek o wyróżnienie mgr Elżbiety Kozłowskiej stosowną nagrodą.



dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. nadzw. UŁ