

prof. dr hab. n. med. Ewa Brzezińska-Błaszczyk
Zakład Immunologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Rudnickiej pt.: "Komórkowe i humoralne reakcje cytotoksyczne w zakażeniach *Helicobacter pylori*"

Dane epidemiologiczne jednoznacznie wskazują, że zakażenie pałeczką *Helicobacter pylori* w populacji ludzkiej jest bardzo częste. W krajach rozwijających się odsetek osób zakażonych tą bakterią wynosi nawet do 90% populacji, w krajach rozwiniętych odsetek ten stanowi 20 - 50%. W większości przypadków wytwarza się pewien stan równowagi pomiędzy bakterią a gospodarzem, tak więc zakażenie *Helicobacter pylori* nie indukuje żadnych procesów patologicznych. Jednakże u 15 - 20% osób zakażonych obserwuje się rozwój procesów zapalnych w obrębie błony śluzowej żołądka. Upośledzenie funkcji bariery tkankowej oraz działanie czynników patogenności *Helicobacter pylori* powodują dalszy rozwój zapalenia, a przewlekłe zapalenie błony śluzowej żołądka może prowadzić do zmian o charakterze zanikowym. W 10 - 15% przypadków zakażenie *Helicobacter pylori* prowadzi do rozwoju wrzodów żołądka lub dwunastnicy, a u 3% osób zakażonych tą bakterią do powstania raka żołądka. Wiele danych wskazuje, że zakażenie *Helicobacter pylori* zwiększa ryzyko rozwoju drobnokomórkowego chłoniaka tkanki limfatycznej błony śluzowej żołądka typu MALT. Biorąc powyższe pod uwagę jest zupełnie oczywiste, że zakażenia wywołane tym patogenem są istotnym problemem klinicznym.

W odpowiedzi na zakażenie rozwijane są różnorodne mechanizmy obronne, zarówno odporności wrodzonej jak i nabytej. Wskazuje się, że wiele patogenów wywołujących zakażenia przewlekłe posiada zdolność modulowania aktywności komórek odpornościowych. Tym samym patogeny mogą oddziaływać na przebieg odpowiedzi immunologicznej, a w konsekwencji mogą więc wpływać na skuteczność mechanizmów obronnych. Przewlekły charakter zakażeń *Helicobacter pylori* wskazuje, że także te bakterie mogą modulować procesy odpornościowe gospodarza.

Jak się obecnie wydaje kluczowe znaczenie dla powstrzymania rozwoju zakażenia *Helicobacter pylori* mają przede wszystkim mechanizmy odporności wrodzonej z udziałem

monocytów, makrofagów, neutrofilów, a także komórek NK; ważne są jednak również mechanizmy odporności nabytej. Zmniejszanie czy też hamowanie przez antygeny *Helicobacter pylori* aktywności komórek współuczestniczących w rozwoju procesów immunologicznych może ograniczać zdolność mechanizmów obronnych do eradykacji patogenu, co w konsekwencji może skutkować utrwaleniem zakażenia i prowadzić do rozwoju procesów patologicznych. Biorąc powyższe pod uwagę, wydaje się uzasadnione podjęcie badań mających na celu określenie właściwości immunomodulacyjnych antygenów *Helicobacter pylori*.

Rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Rudnickiej została przygotowana według tzw. nowej procedury i w istocie stanowi spójny tematycznie zbiór 5 artykułów oryginalnych, opublikowanych w renomowanych recenzowanych anglojęzycznych czasopismach naukowych. Przyjęcie takiej formuły rozprawy doktorskiej należy przyjąć z uznaniem. Trzeba podkreślić, że w 4 opublikowanych pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Łączny wskaźnik Impact Factor opublikowanych prac wynosi 8,848, a łączna punktacja MNiSW wynosi 100. Zdaniem recenzenta powyższe dane jednoznacznie dokumentują osiągnięcia Doktorantki i poziom Jej rozprawy doktorskiej.

Przedłożona mi do oceny dysertacja zawiera 5 rozdziałów. W rozdziale pierwszym przedstawione są informacje wprowadzające - wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej, wykaz pozostałych publikacji Doktorantki oraz zestawienie udziału w konferencjach naukowych, źródła finansowania, streszczenie w języku polskim i w języku angielskim oraz wykaz stosowanych w dysertacji skrótów i symboli. We wstępie, stanowiącym rozdział drugi, Autorka szczegółowo przedstawia aktualną wiedzę na temat pałeczek *Helicobacter pylori*, epidemiologii i transmisji zakażeń tym patogenem, przebiegu zakażenia, czynnikach wirulencji tego drobnoustroju. W tym rozdziale Doktorantka omawia również reakcje odpornościowe w zakażeniach *Helicobacter pylori*, a także komórki NK i ich rolę w procesach odpornościowych, w tym ewentualny udział komórek NK w odpowiedzi przeciwwzakaźnej na *Helicobacter pylori*. Wstęp jest napisany niezwykle ciekawie i świadczy o głębokiej wiedzy Doktorantki w zakresie omawianych zagadnień. Jest logicznie skonstruowany i doskonale wprowadza czytelnika w tematykę pracy badawczej prowadzonej przez Autorkę. Rozdział trzeci dysertacji to wprowadzenie do części doświadczalnej. Doktorantka przedstawia założenia i cele pracy, 8 cząstkowych zadań badawczych oraz materiał i stosowane w pracach metody. Celem pracy było określenie właściwości immunomodulacyjnych antygenów powierzchniowych *Helicobacter pylori*, głównie

białkowych, zawartych w ekstrakcie glicynowym wzorcowych pałeczek tego patogenu oraz LPS z ekspresją determinantów antygenowych Le^{XY}. Badano wpływ tych antygenów na aktywność monocytów i makrofagów, a także na aktywność cytotoksyczną i sekrecyjną komórek NK. Rozważając dane epidemiologiczne na temat częstości zakażeń *Helicobacter pylori* jestem przekonana, że tematyka pracy jest bardzo aktualna i niezwykle ważna.

Rozdział czwarty zawiera publikacje będące podstawą rozprawy doktorskiej; wymagane oświadczenia współautorów prac o ich udziale w tych publikacjach zawarte są na końcu dysertacji. Istotną częścią rozdziału czwartego jest ogólne podsumowanie uzyskanych wyników i ich dyskusja z danymi z piśmiennictwa, a także uogólniony wniosek końcowy i literatura. W toku pracy doktorantka wykazała, że LPS *Helicobacter pylori* typu Le^{XY} zaburza dojrzewanie makrofagów i indukuje zmiany o charakterze apoptozy w komórkach limfocytów, co prowadzi do zahamowania ich aktywności proliferacyjnej; wskazała ponadto, że determinanty antygenowe Le^{XY} w LPS tego patogenu mają istotne znaczenie w pobudzaniu monocytów krwi obwodowej do wytwarzania cytokin prozapalnych TNF i IL-8. Obserwacje te są niezwykle ciekawe. Doktorantka udokumentowała ponadto, że naturalna aktywność cytotoksyczna komórek NK osób zakażonych *Helicobacter pylori* jest słabsza niż u osób niezakażonych, a obserwowana różnica może być uwarunkowana dominacją komórek NK o fenotypie CD56^{bright}, a także wpływem regulatorowej IL-10. Przeprowadzone badania pozwoliły również ustalić, że antygeny *Helicobacter pylori* mogą odmiennie regulować aktywność cytotoksyczną i sekrecyjną komórek NK. Antygeny białkowe zawarte w ekstrakcie glicynowym *Helicobacter pylori* pobudzają ekspansję komórek NK z ekspresją receptora dla IL-2 o fenotypie CD3⁻CD56⁺CD25⁺, wykazujących aktywność cytotoksyczną zależną od wytwarzania IL-2 oraz IFN- γ . W obecności LPS *Helicobacter pylori* nie ma ekspansji komórek NK o fenotypie CD3⁻CD56⁺CD25⁺ natomiast jest nasilona ekspansja komórek wydzielających IL-10. Obserwacje te są całkowicie nowatorskie. W oparciu o uzyskane wyniki Doktorantka wysnuwa ogólny wniosek końcowy, że antygeny *Helicobacter pylori* posiadają zdolność modulowania aktywności komórek odporności wrodzonej - monocytów, makrofagów i komórek NK, a także komórek odpowiedzi adaptacyjnej swoistej - limfocytów. Tak więc dominacja w środowisku reakcji zapalnej antygenów *Helicobacter pylori* takich jak LPS, które hamują lub nie pobudzają aktywności i/lub dojrzewania komórek immunokompetentnych, może przyczyniać się do rozwoju przewlekłego zakażenia i w konsekwencji do rozwoju procesów patologicznych. Należy podkreślić, iż dyskusja jest napisana bardzo interesująco i z dużą znajomością tematu. Sposób omówienia wyników

badan własnych i ich interpretacja w odniesieniu do wynikow otrzymanych przez innych autorow swiadcza o duzej dojrzalosci naukowej Doktorantki.

W podsumowaniu, dysertacja doktorska Pani mgr Karoliny Rudnickiej jest wyrozniajacym sie opracowaniem monograficznym o niezwykle wysokiej wartosci naukowej. Bez watpienia, wiele poczynionych obserwacji ma calkowicie nowatorski charakter i stanowi istotny wklad w poszerzenie wiedzy o mechanizmach obronnych rozwijanych w odpowiedzi na zakazenie paleczka *Helicobacter pylori*. Zwraca takze uwage niezwyklej staranności w opracowaniu edytorskim dysertacji, a takze sposob prezentacji tematyki prac i uzyskanych wynikow badan własnych opublikowanych wczesniej w 5 publikacjach oryginalnych. Zdaniem recenzenta monografia mgr Karoliny Rudnickiej winna stanowic wzorzec dla innych doktorantow przygotowujacych rozprawy doktorskie w podobnym trybie.

Stwierdzam, ze rozprawa doktorska mgr Karoliny Rudnickiej spelnia warunki okreslone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595, z pozn. zm.). Wnoskuje zatem do Wysokiej Rady Wydzialu Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Rudnickiej do dalszych etapow przewodu doktorskiego.

Biorac pod uwage bardzo wysoką oryginalność i wartosc naukową uzyskanych przez Doktorantkę wynikow zwracam sie równocześnie do Wysokiej Rady Wydzialu o wyroznienie pracy doktorskiej mgr Karoliny Rudnickiej.

KIEROWNIK
Zakladu Immunologii Doświadczalnej


Prof. dr hab. Ewa Brzezińska-Błaszczyk

Łódź, 2014.05.12