



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI
WYDZIAŁ LEKARSKI
KLINIKA IMMUNOLOGII I ALERGII
Prof. dr hab. n. med. Janina Łucja Grzegorzczak
Główny specjalista ds. badań laboratoryjnych

ul. Pomorska 251 bC5
92-213 Łódź
tel.: +48 42 272 53 77
e-mail: janina.grzegorzczak@umed.lodz.pl

Łódź 10.07. 2020

RECENZJA PRACY
NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK ŚCISŁYCH I PRZYRODNICZYCH
W DYSCYPLINIE
NAUKI BIOLOGICZNE.

Mgr WERONIKI GONCIARZ
Stacjonarne Studia Doktoranckie
Mikrobiologii, Biotechnologii i Biologii Eksperymentalnej
Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej
Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii
Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytetu Łódzkiego.

pt.” Patogeneza zakażeń *Helicobacter pylori*
na modelu kawii domowych oraz modelach komórkowych *in vitro* ”.

Głównym elementem patogenezы wielu chorób – zarówno zwierząt jak i ludzi - jest proces zapalny indukowany drobnoustrojami. Reakcja zapalna spowodowana infekcją prowadzi do uruchomienia kaskady reakcji immunologicznych, których

nasilenie przekłada się na ujawnienie klinicznych objawów choroby. Bakteriami powszechnie występującymi u ludzi są pałeczki *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) a do zakażenia dochodzić może drogą ustną, kałowo-ustną czy żołądkowo – ustną. Uznanymi czynnikami sprzyjającymi szerzeniu się tych zakażeń są m.in. nieprawidłowa dieta i niedobór witamin a także warunki socjo-ekonomiczne czy predyspozycje genetyczne. Istotną rolę *H. pylori* wykazano w rozwoju choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy, która jest wynikiem kolonizacji nabłonka żołądka i ma charakter zakaźny a późną konsekwencją może być rozwój zmian nowotworowych. Związane jest to z zaburzeniem mechanizmów efektorowych odpowiedzi immunologicznej gospodarza, aktywacją komórek i zapoczątkowaniem przewlekłego stanu zapalnego w błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy. Skutkować to może powstaniem wrzodów czy indukcją karcynogenezy komórek gospodarza, ale także prowadzić do rozwoju ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej, zaburzeń procesu autoimmunizacji i chorób poza układem pokarmowym.

Do chwili obecnej nie wiadomo, dlaczego zakażenia *H. pylori* mają zróżnicowany przebieg. Z jednej strony brak jest objawów klinicznych (zakażenia bezobjawowe), z drugiej – przetrwałe procesy zapalne dotyczące błony śluzowej żołądka objawiające się wrzodami czy chorobą nowotworową.

Częstotliwość zakażeń oraz ich współdziałanie w zapoczątkowaniu i rozwoju reakcji zapalnej a także złożony patomechanizm są trudnym problemem w obszarze zdrowia publicznego. Dlatego też znajomość mechanizmów rozwoju miejscowej jak i uogólnionej przewlekłej reakcji zapalnej z uwzględnieniem czynników patogenu i gospodarza, może mieć istotne znaczenie dla przewidywania i zapobiegania konsekwencjom tych zakażeń.

Mimo licznych badań aspekty zakażeń *H. pylori* człowieka są w dalszym ciągu niewyjaśnione. Jest to związane z ograniczeniami, jakimi są zakażenia bezobjawowe oraz możliwość bezinwazyjnego pobrania materiału biologicznego. Poszukiwanie i wykorzystanie modeli doświadczalnych do wyjaśnienia złożonych zjawisk odpornościowych na poszczególnych etapach zakażenia pałeczkami *H. pylori* u ludzi oraz następstw tych infekcji, stanowi bardzo istotną przesłankę do wyjaśnienia - na poziomie komórkowym - zaburzeń mechanizmów odpornościowych i towarzyszących im zmian patologicznych.

Powyższe założenia były przesłanką do sformułowania przez Doktorantkę ambitnego celu badań – Cyt.

„... oceny efektów oddziaływania pałeczek *H. pylori* oraz dobrze zdefiniowanych rozpuszczalnych komponentów tych bakterii na komórki bariery nabłonkowej żołądka, w kontekście uszkodzenia tej bariery, rozwoju reakcji zapalnej, inicjowania procesów naprawczych i procesów odpornościowych.

Cel ten był realizowany w dwóch blokach tematycznych:

*Część I dotyczyła oceny efektów oddziaływania *H. pylori* na barierę nabłonkową żołądka w zakresie:*

- *Kolonizacji i utrwalenia zakażenia*
- *Destabilizacji bariery nabłonkowej żołądka*
- *Zaburzenia procesów naprawczych (publikacje I – III).*

*Część II obejmowała ogólnoustrojowe konsekwencje zakażenia *H. pylori* i dotyczyła:*

- *Indukcji wytwarzania przeciwciał potencjalnie autoreaktywnych w następstwie mimikry antygenowej (publikacje IV i V).” – str. 79-80 rozprawy*

Cel pracy realizowany był przez Doktorantkę w badaniach *in vivo* na modelu doświadczalnego zakażenia *H. pylori* u kawii domowych a także badaniach *in vitro* na modelach komórkowych pierwotnych komórek nabłonka żołądka oraz fibroblastach kawii domowej.

Ocena układu pracy, struktury podziału treści kolejnych rozdziałów, kompletności tez.

Podstawą przedstawionej do oceny rozprawy jest zamieszczonych 5 oryginalnych prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach anglojęzycznych.

*Publikacje I – III dotyczą części pierwszej realizacji celu postawionego przez Doktorantkę i obejmują ocenę efektów oddziaływania *H. pylori* na barierę nabłonkową żołądka.*

Współczynniki wpływu IF odpowiednio: 5,203; -2,77; -4,183.

*Publikacje IV-V dotyczą drugiej części badań obejmujących problematykę ogólnoustrojowych konsekwencji zakażenia *H. pylori*.*

Współczynniki wpływu IF odpowiednio: 3,41;- 2,25.

Podkreślić należy, że Doktorantka jest pierwszym autorem w 4-ch publikacjach, co świadczy o dużej samodzielności i dojrzałości w pracy naukowej.

Merytoryczna ocena pracy: Cel pracy został sformułowany przejrzysto a rozwiązanie postawionego problemu opisane zostało w załączonych opublikowanych pracach o wysokich współczynnikach wpływu.

Zwracają uwagę zastosowane bardzo nowoczesne i trudne metody badawcze (str. 88- 107) obejmujące takie techniki jak:

- ✓ Hodowla *H. pylori* i otrzymywanie ekstraktu glicynowego

- ✓ Hodowle komórkowe pierwotnych komórek nabłonka żołądka wyprowadzane z tkanki żołądka kawii domowej i fibroblastów opisane w **publikacjach I, II i III**
- ✓ Hodowle genetycznie modyfikowanych monocytów ludzkich opisane w **publikacji V**.
- ✓ Opracowanie modelu komórkowego z wyciszonym genem IL-33 –**publikacja V**
czy też dotyczące oceny efektywności transfekcji siRNA na liniach komórkowych – **publikacja III**
- ✓ Testy komercyjne ELISA czy TUNEL do oceny apoptozy.
- ✓ Testy serologiczne oraz molekularne.

Wyniki badań przedstawione w rozprawie doktorskiej wskazują na wielowątkowy i bardzo zróżnicowany wpływ *H. pylori* na rozwój oraz kontrolę reakcji zapalnej. Przeprowadzona przez Doktorantkę dyskusja (str. 193 – 221) zawiera omówienie uzyskanych wyników, uwzględniając aktualną wiedzę. Doktorantka z dużą erudycją cytuje piśmiennictwo w odniesieniu do własnych badań. Na szczególne podkreślenie zasługuje koncepcja prowadzonych doświadczeń, zastosowane metody badawcze i analityczne, wielowątkowe podejście do rozwiązania postawionego celu naukowego. Sprawia to, że uzyskane wyniki badań są wiarygodne i nieprzypadkowe.

Imponujący jest też dorobek naukowy Doktorantki.

Podsumowując ocenę pracy doktorskiej mgr Weroniki Gonciarz stwierdzam, że praca jest nowatorska a jej przedmiotem jest ważny poznawczo problem naukowy dotyczący patogenezы zakażeń H. pylori na modelu kawii domowych oraz modelach komórkowych in vitro.

*Zastosowany do badań nowoczesny model eksperymentalny – w oparciu o uzyskane, opublikowane wyniki - pozwolił na wyciągnięcie wniosku wskazującego na zależność pomiędzy efektywnością kolonizacji H. pylori a rozwojem reakcji zapalnej, nasileniem stresu oksydacyjnego i apoptozy oraz rolę tych procesów w zaburzeniu integralności bariery nabłonkowej żołądka. Może to sugerować, iż u osób zakażonych H.pylori czynniki te mogą modulować przebieg reakcji zapalnej w rozwoju wielu chorób. **W tym miejscu proszę Doktorantkę o komentarz.** Z tej*

perspektywy badania mogą mieć ważny aspekt praktyczny pozwalający dogłębniej wyjaśnić mechanizmy komórkowe i być przyczynkiem do poszukiwania skutecznych, spersonalizowanych terapii.

Pragnę również podkreślić niezwykle elegancką formę edycji przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej. Napisanie obszernego wprowadzenia oraz omówienia wyników zawartych w publikacjach i sformułowanie wniosków (niezależnie od załączonych publikacji) stanowi dodatkową wartość.

Przedstawiona do recenzji praca stanowi nowoczesne ujęcie problemu i spełnia wymogi stawiane rozprawie na stopień dr nauk.

Wnoszę zatem do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Weroniki Gonciarz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, biorąc pod uwagę oryginalność pracy, nowoczesne, świetne metodologicznie przygotowanie i opracowanie a także formę edycji, stawiam wniosek o jej wyróżnienie.

Prof. dr hab. n. med. Janina Łucja Grzegorzczak



Łódź, 10.07.2020