



Łódź, 13.07.2020.

Dr hab. Maciej Cedzyński  
Instytut Biologii Medycznej PAN,  
Pracownia Immunobiologii Zakażeń,  
ul. Lodowa 106  
93-232 Łódź  
e-mail: mcedzynski@cbm.pan.pl

### Ocena rozprawy doktorskiej Mgr Weroniki Gonciarz

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

Patogeneza zakażeń *Helicobacter pylori* i ich następstw, a także mechanizmy odpowiedzi gospodarza są badane od kilkudziesięciu lat, jednak wiele zagadnień nadal wymaga wyjaśnienia. Znaczący postęp wiedzy w tym zakresie jest zasługą Pracowni Gastroimmunologii Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej Uniwersytetu Łódzkiego, z której wywodzi się Doktorantka, Pani mgr Weronika Gonciarz.

Infekcje, których czynnikiem etiologicznym jest *H. pylori* są powszechne – w niektórych populacjach odsetek osób zakażonych przekracza 80%. Zakażenie może mieć charakter bezobjawowy, jednak w wielu przypadkach jego konsekwencją mogą być zmiany atroficzne, wrzody żołądka lub dwunastnicy, a nawet rak żołądka. Długotrwałe utrzymywanie się drobnoustroju w organizmie ludzkim jest następstwem między innymi mimikry molekularnej i modulowania odpowiedzi odpornościowej gospodarza. Zagadnienia te były przedmiotem badań prowadzonych przez Doktorantkę.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma charakter spójnego tematycznie zbioru artykułów w języku angielskim, w skład którego wchodzi 4 prace oryginalne i 1 artykuł przeglądowy. Wszystkie zostały opublikowane w czasopismach uwzględnionych w Journal Citation Reports, a ich pięcioletni współczynnik wpływu (impact factor) wynosi od 2,225 do 5,203 (sumarycznie: 17,798, 510 punktów MNiSW). Doktorantka jest pierwszym autorem każdego z 4 artykułów oryginalnych i drugim w dwuautorskim artykule przeglądowym. Jej wiodący udział (wynoszący od 50% do 64% w pracach oryginalnych i 40% w przeglądowej) został potwierdzony oświadczeniami Współautorów. Ponadto, wyniki będące przedmiotem rozprawy, prezentowane były w postaci 35 doniesień na konferencjach naukowych. Na uwagę zasługuje także bogaty dorobek naukowy Mgr Weroniki Gonciarz, niezwiązany bezpośrednio z rozprawą doktorską, obejmujący 6 opublikowanych artykułów, których sumaryczny pięcioletni IF przekracza 15 (420 punktów MNiSW), a także liczne doniesienia konferencyjne czy publikacje w wydawnictwach studenckich i popularnonaukowych.

Rozprawa została uzupełniona typowymi rozdziałami, jak Wprowadzenie, Cele pracy, Materiały i metody, Dyskusja, Podsumowanie wyników, Wnioski końcowy i wykazem cytowanej literatury, a



także dwujęzycznym streszczeniem i wyjaśnieniem używanych skrótów. W obszernym rozdziale „Wprowadzenie”, Autorka szczegółowo omówiła zagadnienia związane z epidemiologią, rozpoznawaniem, leczeniem i profilaktyką zakażeń *H. pylori*. Szczególnie ważne są podrozdziały dotyczące czynników patogenności tych bakterii, odpowiedzi gospodarza na infekcję i uczestniczących w niej czynników. Doktorantka scharakteryzowała też Kawię domową jako doświadczalny model często wykorzystywany w badaniach dotyczących zakażeń *H. pylori*. Wprowadzenie rozpoczyna się związłym rysem historycznym. Na str. 61, wśród głównych funkcji żołądka, Autorka wymienia trawienie cukrów. Proszę o krótkie wyjaśnienie tego zagadnienia.

Celem pracy było zbadanie wpływu *H. pylori* i niektórych rozpuszczalnych komponentów tych bakterii na uszkodzenie bariery nabłonkowej żołądka, rozwój reakcji zapalnej, a także na indukcję procesów naprawczych i odpowiedzi odpornościowej. Cel ten został jasno sformułowany, w postaci dwóch głównych obszarów badawczych (odnoszących się do zjawisk miejscowych i ogólnoustrojowych), a jego przyjęcie jest dobrze uzasadnione.

Rozdział „Materiały i metody” stanowi uzupełnienie odpowiednich fragmentów publikacji I, II, III i V, wchodzących w skład ocenianej rozprawy. Przedstawione, zazwyczaj bardzo szczegółowe informacje umożliwią wykorzystanie pracy w celach dydaktycznych czy jako cenną pomoc w planowaniu doświadczeń przez innych badaczy. Zastosowane metody odpowiadają współczesnym standardom, a ich szeroki wachlarz świadczy o dużych umiejętnościach i wszechstronności Doktorantki. Wśród stosowanych przeciwciał, Autorka wymienia mysie przeciwciała przeciwko antygenom CD4 i CD8 świni. W związku z tym, proszę o wyjaśnienie czy podstawą ich wyboru (jako reagujących krzyżowo z odpowiednimi antygenami Kawii domowej) były dane literaturowe czy też własne doświadczenia wstępne i jakie inne przeciwciała były pod tym kątem analizowane.

W kolejnej części rozprawy, Mgr Weronika Gonciarz zamieściła kopie wspomnianych wcześniej artykułów, o których randze naukowej świadczą między innymi wysokie wartości impact factor czasopism, w których zostały opublikowane (sumaryczny, pięcioletni IF wynoszący niemal 18). Stanowią one spójną całość, a przedstawione w czterech artykułach oryginalne wyniki, potwierdzają, że cele pracy zostały w pełni zrealizowane. Publikacja o charakterze przeglądowym dotyczy problemu mimikry molekularnej, jest więc ściśle związana z tematyką rozprawy i znakomicie uzupełnia te doświadczalne. Warto podkreślić, że przeprowadzone badania były finansowane między innymi dzięki trzykrotnemu uzyskaniu przez Mgr Weronikę Gonciarz dotacji zadań badawczych dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich, przyznanych przez Dziekana Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Do najważniejszych osiągnięć Doktorantki, przedstawionych w rozprawie, należy zaliczyć wyjaśnienie niektórych mechanizmów wirulencji *H. pylori* w kontekście oddziaływania patogen-gospodarz. Opublikowane dane sugerują np., że wzrost wydzielania mucyny MUC5AC, będącej składnikiem śluzu, i nasilenie ekspozycji antygenów Lewis X/Y w odpowiedzi na infekcję (a także pod wpływem kwaśnego ekstraktu glicynowego, toksyny CagA czy ureazy) sprzyjają utrwaleniu zakażenia i przewlekaniu stanu zapalnego. Badania wykazały też, że efekt nasilenia adhezji pałeczek *H. pylori* może być hamowany za pomocą przeciwciał przeciwko MUC5AC i LeX/LeY (Gonciarz W. i wsp., *J. Biomed. Sci.*, 2019). Autorka, na podstawie analizy takich czynników jak



mieloperoksydaza, 4-hydroksynonenal czy metaloproteinaza MMP-9, udowodniła nasilenie stresu oksydacyjnego w wyniku zakażenia. Ostatni z wymienionych czynników nasilał apoptozę komórek nabłonka żołądka i fibroblastów Kawii domowej, indukowaną przez bakterie i ich badane komponenty (Gonciarz W. i wsp., *PLoS One*, 2019). Z drugiej strony, Doktorantka zaobserwowała, że uruchamiane są procesy naprawcze, w których znaczącą rolę odgrywa interleukina 33, służące przywróceniu homeostazy na drodze hamowania apoptozy oraz stymulacji migracji i proliferacji komórek (Gonciarz W. i wsp., *Int. J. Med. Sci.*, 2020). Należy wspomnieć także o stwierdzeniu w próbach surowicy osób z rozpoznaną chorobą niedokrwienną serca, obecności przeciwciał rozpoznających wspólną dla ludzkiego białka Hsp60 i bakteryjnego HspB sekwencję, wyznaczoną dzięki analizie bioinformatycznej. Stosując model Kawii domowej, Autorka udowodniła, że doświadczalne zakażenie zwierząt *H. pylori* skutkuje indukcją wytwarzania przeciwciał o podobnej swoistości. Na tej podstawie można przypuszczać, że takie autoreaktywne immunoglobuliny mogą, poprzez nasilenie procesów zapalnych, przyczyniać się do rozwoju choroby niedokrwiennej serca (Gonciarz W. i wsp., *APMIS*, 2019). Na uwagę zasługuje fakt, że większość wniosków zawartych w publikacjach i rozprawie została poparta wynikami zarówno badań *in vitro*, jak i *in vivo*. Niewątpliwie, omówione przez Autorkę prace warte są kontynuowania, np. przy wykorzystaniu innych modeli badawczych czy poszukiwaniu znaczenia autoreaktywnych przeciwciał w patogenezie chorób innych niż ChNS. Drugi z wymienionych kierunków może mieć w przyszłości aspekt praktyczny. Dlatego chciałbym zapytać czy i jakie tego typu badania planuje Doktorantka.

W rozdziale „Dyskusja”, Mgr Weronika Gonciarz omówiła własne osiągnięcia na tle danych literaturowych. Ponownie, stanowi on rozszerzenie i uzupełnienie artykułów będących podstawą rozprawy. Rozdział ten świadczy o umiejętności interpretacji wyników i docieklivosti naukowej. Co ważne jest on podzielony na sekcje, z których każda dotyczy obszaru badań opisanego w jednej (lub niekiedy dwóch) publikacji/-ach, dzięki czemu treść jest spójna i uporządkowana. Każda z tych części kończy się krótkim, rzeczowym podsumowaniem. W podrozdziale 6. Części I („Ograniczenie efektywności procesów regeneracji bariery nabłonkowej żołądka w środowisku pałeczek *H. pylori* i ich komponentów”), Autorka powołuje się na publikację oznaczoną nr II, natomiast omówione w nim wyniki pochodzą także z publikacji III.

„Podsumowanie wyników”, to syntetyczne zestawienie najważniejszych osiągnięć pracy, zgodnie z przyjętym podziałem na obszary badawcze. Cennym elementem tego rozdziału jest rycina 3, zatytułowana „Konsekwencje zakażenia *H. pylori* na modelu kawii domowych *in vivo* oraz modelach komórkowych *in vitro*”, stanowiąca graficzne, trafne podsumowanie uzyskanych wyników i ich interpretacji. Na rycinie tej pojawił się błąd edytorski („kolnizacja” zamiast „kolonizacja”), dlatego przed ewentualną publikacją, konieczna będzie korekta. Krótki „Wniosek końcowy” ponownie potwierdza umiejętność interpretacji otrzymanych danych, którą wykazuje się Mgr Weronika Gonciarz.

Wykaz cytowań zawiera 457 pozycji, co świadczy o wnikliwym przestudiowaniu literatury związanej z tematyką pracy. Należy jednak zwrócić uwagę, że jedynie 5 z nich (wszystkie pochodzące z Pracowni Gastroimmunologii, w tym 1 komunikat konferencyjny) zostały opublikowane w latach 2018-2020. Proszę Doktorantkę o odniesienie się do tej kwestii.



Przedstawiona rozprawa świadczy o umiejętności prowadzenia badań za pomocą bardzo różnorodnych technik i dojrzałości naukowej Autorki. Rozdziały uzupełniające zbiór 5 bardzo dobrych publikacji napisane są w sposób ciekawy i przystępny. Niestety, część opisowa, zwłaszcza rozdział „Wprowadzenie” zawiera stosunkowo liczne błędy edytorskie (np. „test urazowy” zamiast „test ureazowy”). Ich szczegółowy wykaz został przekazany Doktorantce. Zdarzają się także, choć znacznie mniej liczne, błędne określenia typu „reakcja łańcuchowej polimerazy” czy brak wyjaśnienia skrótu 4HNE (4-hydroksynonenal).

Mimo wspomnianych niedociągnięć, rozprawa zatytułowana „**Patogeneza zakażeń *Helicobacter pylori* na modelu kawii domowych oraz modelach komórkowych *in vitro***” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i spełnia wymagania dotyczące rozpraw doktorskich zawarte w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. W związku z powyższym, zwracam się do Wysokiej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw Stopni Naukowych w Dyscyplinie Nauki Biologiczne z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Weroniki Gonciarz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na bardzo szeroki zakres przeprowadzonych badań i wartość uzyskanych wyników, potwierdzoną rangą publikacji włączonych do rozprawy, zwracam się także z wnioskiem o jej wyróżnienie.

Z wyrazami szacunku,

dr hab. Maciej Cedzyński, prof. IBM PAN

  
Kierownik  
Pracowni Immunobiologii Zakażeń