



Rzeszów, dnia 19 kwietnia 2021

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr. Sebastiana Wawrockiego

pt. „*Analiza molekularna i funkcjonalna interleukiny 18 (IL-18), jej receptora (IL-18R) i białka wiążącego IL-18 (IL-18BP) w aktywnej gruźlicy i latentnym zakażeniu gruźliczym*”

sporządzona na podstawie pisma Przewodniczącej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne pani prof. dr hab. Agnieszki Marczak z dnia 25.02.2021 r.

Zgodnie z publikacją Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie z okazji Światowego Dnia Gruźlicy (24.03.2021) <https://www.igichp.edu.pl/2021/04/14/swiatowy-dzien-gruzlicy-24-03-2021> wg szacunków Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w 2019 roku na gruźlicę zachorowało na świecie 10,0 mln osób, zapadalność, mniejsza niż w latach poprzednich, wynosiła 130 przypadków choroby na 100 000 ludności. W 54 krajach świata, głównie w europejskim i amerykańskim regionie WHO, zapadalność na gruźlicę wynosiła poniżej 10 zachorowań na 100 000 ludności; w 30 krajach – od 150 na 400 a w 5 krajach – powyżej 500 (Republika Południowej Afryki, Republika Środkowoafrykańska, Lesoto, Filipiny, Korea Północna). Gruźlica była najczęstszą przyczyną zgonów na świecie wywołanych przez pojedynczy czynnik zakaźny. W 2019 roku 1,2 mln chorych na gruźlicę, nie zakażonych HIV, zmarło z jej powodu (w 2000 roku – 1,7 mln). Ponadto zmarło 208 tys. chorych na gruźlicę i zakażonych HIV (2000 rok – 678 tys.).

Walkę z gruźlicą na świecie utrudnia rozpowszechnienie w wielu krajach gruźlicy wywołanej przez prątki odporne na najsilniejsze leki przeciwprątkowe. Około 25% ludności świata może być zakażona prątkiem gruźlicy. Osoby zakażone *M. tuberculosis* stanowią rezerwuuar nowych przypadków choroby, ponieważ od 5 do 10% takich osób może w jakimś momencie swego życia, zwykle w ciągu pierwszych lat po zakażeniu, zachorować na aktywną gruźlicę. Największe ryzyko

zachorowania mają osoby zakażone HIV, 18 razy większe niż pozostała populacja. Inne czynniki ryzyka przejścia utajonego zakażenia prątkiem gruźlicy w aktywną chorobę, powszechne na świecie, to cukrzyca, niedożywienie, palenie papierosów i nadmierne picie alkoholu.

W 2019 roku w 29 krajach Unii Europejskiej i Europejskiego Obszaru Gospodarczego (UE/EOG) stwierdzono łącznie 49 752 przypadki gruźlicy. W większości krajów UE/EOG zapadalność na gruźlicę zmniejszyła się w ciągu ostatnich 5 lat. 54,7% ogółu chorych na gruźlicę stanowiły osoby z czterech krajów: Francji, Polski, Rumunii i Wlk Brytanii; z samej Rumunii – 23,4%. Zapadalność na gruźlicę wynosiła przeciętnie 9,6 przypadków na 100 000 ludności i była niższa niż w latach poprzednich.

Na gruźlicę płuc zachorowało 34975 osób, które stanowiły 70,3% wszystkich zarejestrowanych chorych. Pewne (potwierdzone bakteriologiczne) rozpoznanie gruźlicy płuc uzyskano w 81,3 % przypadków tej postaci choroby. 22,1% chorych miało tylko gruźlicę pozapłucną, 7,1% gruźlicę płuc i pozapłucną łącznie. Największe odsetki gruźlicy pozapłucnej stwierdzono w Islandii (46,2%) i Wlk. Brytanii (42,9%).

W 2019 roku na gruźlicę zachorowało w Polsce 5321 osób, o 166 mniej niż w roku 2018. Zapadalność na gruźlicę wszystkich postaci w 2019 roku wynosiła 13,9 przypadków na 100 000 ludności. Dominująca postać gruźlicy, jaką jest gruźlica płuc, stanowiła w 2019 roku 95,4% wszystkich zachorowań. Odnotowano 5075 przypadków gruźlicy płuc – zapadalność 13,2 na 100 000. W 2018 roku gruźlica była przyczyną zgonu 519 osób – umieralność wynosiła 1,4 na 100 000. Najwięcej osób zmarłych z powodu gruźlicy było w wieku od 45 do 64 lat (257). Nie odnotowano żadnego zgonu z powodu gruźlicy u dzieci i młodzieży.

Celem Światowej Organizacji Zdrowia jest zmniejszenie do 2030 roku, w porównaniu z sytuacją z roku 2015, globalnej liczby zgonów z powodu gruźlicy o 90% i zapadalności na gruźlicę o 80% („End TB Strategy”).

Pandemia COVID-19 i jej społeczno-ekonomiczne konsekwencje utrudniają zwalczanie gruźlicy. Możliwe jednak, że nowe osiągnięcia w badaniach nad gruźlicą doprowadzą ostatecznie do poprawy sytuacji epidemiologicznej choroby. Dzięki koordynacji działań podejmowanych przez kraje, woli politycznej i ogromnych nakładów finansowych od wykrycia patogenu wywołującego COVID-19 do wprowadzenia szczepionki ograniczającej tę chorobę minęło tylko 11 miesięcy. Być może nowe technologie zostaną wykorzystane w produkcji szczepionki przeciwko gruźlicy

o lepszych właściwościach niż BCG. Badana jest także skuteczność nowych leków i krótszych schematów lekowych. Trwają badania nad testami wykrywającymi gruźlicę w stadium subklinicznym.

W recenzowanej pracy doktorskiej jej Autor podejmuje próbę poszerzenia wiedzy o molekularnych i funkcjonalnych wyznacznikach udziału interleukiny IL-18 w inicjowanych przez *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) procesach odpornościowych i w zweryfikowaniu hipotezy o potencjalnej wartości oznaczania IL-18 i białek kompleksu funkcjonalnego tej cytokiny w diagnozowaniu gruźlicy aktywnej i latentnej.

Wiele pytań dotyczących diagnostyki gruźlicy aktywnej i latentnej pozostaje nadal bez odpowiedzi. Dlatego też tematyka opiniowanej rozprawy doktorskiej wydaje się być szczególnie istotna i jest znacząca nie tylko pod względem naukowym, ale także może mieć w przyszłości przełożenie praktyczne.

Dysertacja doktorska pana mgr. Sebastiana Wawrockiego została wykonana pod kierownictwem promotora pani dr hab. Magdaleny Druszczyńskiej, profesora UŁ, z Katedry Immunologii i Biologii Infekcyjnej Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego. Praca składa się z cyklu sześciu publikacji monotematycznych, których pierwszym autorem jest Doktorant. Cztery publikacje są pracami eksperymentalnymi a dwie przeglądowymi. Należy w tym miejscu zauważyć, że ww. cykl został opublikowany w czasopiśmie naukowym z wysokim *Impact Factor'em* (całkowity IF: 12,933), a równie znacząca jest punktacja MEiN : 370.

Spośród cyklu ww. prac w pięciu z nich udział Doktoranta był istotny (60-80%). Badania, którymi kierował Doktorant, były finansowane w latach 2016-19 z grantu Narodowego Centrum Nauki Preludium, którego uzyskanie było także zasługą Doktoranta. Ponadto badania te były finansowane z dotacji celowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2017-19. Umiejętność pozyskiwania środków na prowadzenie badań naukowych jest zatem cenną i wyróżniającą cechą Doktoranta.

Cykl publikacji został rzeczowo zebrany w jedną całość przedstawioną w formie opracowania zawierającego wstęp, założenia, cele pracy, skrót metodologii, omówienie wyników oraz streszczenia w wersjach polskiej i angielskiej.

Pierwsza praca to artykuł przeglądowy, w którym Doktorant wraz ze współautorami opisał biologiczną aktywność IL-18 oraz jej potencjalną istotność w infekcjach prątkami gruźlicy.

Druga publikacja dotyczy mediatorów zapalenia, jakimi są inflamasomy (kompleks białkowy aktywowany w komórkach odpornościowych w wyniku pobudzenia receptorów rozpoznających wzorce molekularne) i ich roli w zakażeniach wywołanych prątkami gruźlicy.

W trzeciej publikacji (pierwszej z prac doświadczalnych) opisano brak zależności pomiędzy częstością występowania dwóch wariantów polimorficznych w obrębie promotora genu dla IL-18 (IL-18/-607 CIA i IL-18/-137 G/C), a zachorowalnością na gruźlicę.

W kolejnej, czwartej publikacji skoncentrowano się na ocenie poziomów mRNA dla IL-18 i IFN-u oraz dla białek hamujących aktywność prozapalną IL-18, czyli białka wiążącego tę cytokinę (IL-18BP) oraz IL-37 wykazującej powinowactwo do receptora dla IL-18 (IL-18R), w leukocytach pełnej krwi obwodowej pacjentów z aktywną i latentną gruźlicą oraz u osób zdrowych.

Piąta w cyklu a trzecia z kolei praca doświadczalna była kontynuacją oceny przydatności IL-18 jako biomarkera gruźlicy. Wyniki wskazują, że w surowicy pacjentów z aktywnym zakażeniem obserwuje się wyższe stężenia: IL-18 wolnej i związanej z białkiem, samego białka wiążącego IL-18, IFN- γ i chemokiny IP-10 oraz niższy poziom IL-37 w porównaniu do osób zdrowych i osób z utajoną formą zakażenia. Wykazano również, że stężenie IL-18 i IL-18BP jest nasilone, natomiast IFN- γ obniżone w nadsączach hodowlanych leukocytów krwi obwodowej, stymulowanych antygenami prątków gruźlicy, osób z aktywną gruźlicą, co Doktorant tłumaczy obecnością zjawiska immunosupresji w czynnej gruźlicy.

W ostatniej, szóstej publikacji wykazano, że nasilony surowiczy poziom IL-18 i IL-18BP jest charakterystyczny dla pacjentów z zaawansowaną gruźlicą. Natomiast surowicze wysokie stężenie IL-18BP bez wzmożonego stężenia cytokiny obserwuje się wśród chorych z łagodnym i umiarkowanym stadium choroby.

Dla mnie jako lekarza, specjalisty chorób zakaźnych, szczególnie istotne jest pytanie czy efekty działalności naukowo-badawczej Doktoranta są możliwe do zastosowania w diagnostyce gruźlicy, a zwłaszcza jej utajonych zakażeń. Istotna jest także możliwość wykorzystania oceny

poziomu chemokiny IP-10 w różnicowaniu nieprątkowego zapalenia płuc, a także zastosowanie biomarkerów IL-18 oraz IL-18 BP w diagnostyce oraz rokowaniach zakażeń prątkiem M.tb.

Podsumowując, należy podkreślić, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska charakteryzuje się wysokim poziomem merytorycznym a nadto jej tematyka pozostaje nadal aktualna. Badania Doktoranta mają charakter nowatorski i w sposób wyczerpujący odpowiadają na pytanie dotyczące roli interleukiny 18 (IL-18) oraz surowiczych białek kompleksu IL-18/IL-18BP/IL-37 i chemokiny IP-10 w patomechanizmie gruźlicy aktywnej, utajonego zakażenia M.tb oraz w różnicowaniu nieprątkowego zapalenia płuc. Wyniki stwarzają nadzieję na uzyskania testów pomocnych w diagnostyce gruźlicy.

Dokonując ogólnej oceny rozprawy stwierdzam, że ma ona charakter nowatorski oraz że została bardzo dobrze zaplanowana i wykonana za pomocą starannie dobranych metod. Wyniki zostały opracowane przy wykorzystaniu prawidłowych analiz statystycznych, zaprezentowane spójnie i czytelnie. Podkreślenia zasługuje fakt opublikowania wszystkich sześciu prac w znaczących periodykach naukowych.

Doktorant, jako główny autor tych publikacji, wykazał się dużą znajomością tematu i dojrzałością naukową w ich sporządzeniu. Ponadto Doktorant dysponuje bogatym dorobkiem naukowym nie ujętym w opiniowanym cyklu publikacji, co świadczy jak najlepiej o perspektywach jego rozwoju naukowego w przyszłości. Imponujący są w tym miejscu sumaryczny IF 30,985 oraz suma liczby punktów MNiSW:690. Podkreślić także trzeba aktywność naukową Doktoranta na konferencjach naukowych, która w pięciu przypadkach została zauważona i nagrodzona.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do recenzji dysertacja spełnia wymogi formalne pracy doktorskiej i w związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysockiej Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. Stopni Naukowych w Dyscyplinie Nauki Biologiczne wnioski o dopuszczenie Pana mgr. Sebastiana Wawrockiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc także pod uwagę fakt opublikowania wszystkich prac objętych opiniowaną dysertacją w czasopismach naukowych o znaczącej i niepodważalnej renomie (IF: 12,933; MEiN: 370) wnioskuję o wyróżnienie pracy.

