

Formularz recenzji rozprawy doktorskiej
Rada Dyscypliny Nauki biologiczne
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Imię i nazwisko kandydata: Magdalena Maciuszek

Tytuł rozprawy doktorskiej: Badania mechanizmów regulujących polaryzację makrofagów ryb

Promotor: Prof. dr hab. Magdalena Chadzińska

Recenzent: dr hab. Anna Rymuszka, prof.KUL

1. **Wartość naukowa rozprawy**

a. **Oryginalność badań:**

Makrofagi z uwagi na zaangażowanie w modulację wielu istotnych procesów życiowych, nie tylko immunologicznych, jak np. reakcja zapalna, ale także neuroendokrynnych czy metabolicznych, są kluczowymi komórkami odgrywającymi istotną rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu. Komórki te cechuje złożoność oraz wielostronność w działaniu, która wynika z ich plastyczności, czyli zdolności do przechodzenia z jednego fenotypu w drugi w zależności od oddziałujących na nie lokalnych bodźców środowiskowych (np. cząsteczek sygnałowych uwalnianych przez inne komórki czy uszkodzoną tkankę). Polaryzacja makrofagów i ich podział na: klasycznie aktywowane, prozapalne (lub M1), i alternatywnie aktywowane (lub M2) występuje także u ryb, przy czym jak dotąd nie udało się wyróżnić subpopulacji (M2a, M2b, M2c) alternatywnie spolaryzowanych makrofagów. Mimo intensywnych badań zjawisko polaryzacji makrofagów w odpowiedzi na sygnały z ich mikrośrodowiska pozostaje nadal słabo zrozumiane, stąd tematyka i zadania badawcze, które podjęła się zrealizować Doktorantka są w pełni uzasadnione i wpisują się w aktualny nurt badań z zakresu immunomodulacji i neuroendokrynologii. Badania te są wieloaspektowe i miały na celu określenie wpływu lipopolisacharydu (LPS), wybranych cytokin: interferonu gamma (INF- γ 2), interleukiny 4/13B (IL-4/13B), hormonów steroidowych (kortyzolu i 17 β -estradiolu (E2)) oraz środowiskowych czynników endokrynnie czynnych (17 α -etynyloestradiolu (EE2) i 4-tert-oktylofenolu (4-tert-OP)) na aktywność i polaryzację makrofagów oraz przebieg reakcji zapalnej u karpia. Warto podkreślić ich nowatorski aspekt, gdyż jak słusznie zauważyła Autorka, wciąż niewiele wiadomo na temat mechanizmów regulujących zjawisko polaryzacji rybich makrofagów, czy wpływu na nie hormonów steroidowych. Niewątpliwe prace z zakresu tematyki będącej przedmiotem niniejszej rozprawy mogą przyczynić się do bardziej

dogłębnego poznania biologii makrofagów tej grupy zwierząt oraz określenia czynników mogących wpływać na ich polaryzację/plastyczność. Zatem badania podjęte przez mgr Magdalenę Maciuszek uważam za oryginalne i niezwykle istotne.

b. Wartość naukowa rozdziałów/artykułów:

Przedłożona do recenzji rozprawa ma prawidłowy układ i stanowi jednolity cykl czterech, wieloautorskich prac naukowo-badawczych opublikowanych w 2019 i 2020 roku w recenzowanych, renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku IF (Fish and Shellfish Immunology IF za 2019 3,37 (dwie publikacje), International Journal of Molecular Sciences IF 4,556, Fish Physiology and Biochemistry IF 2,249). Sumaryczny współczynnik wpływu IF dla tych prac wynosi 13,545 i odpowiada łącznie 450 punktom MEiN, co z pewnością jest godne podkreślenia. Ponadto, rozprawa zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, hipotezę badawczą wraz z celem pracy i zadaniami badawczymi, krótkie omówienie wyników każdej z prac, dyskusję, podsumowanie, wnioski końcowe, bibliografię oraz oświadczenia współautorów publikacji o swoim udziale w pracach. Warto zauważyć, że Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich opublikowanych pracach i jak wynika z Jej deklaracji, brała czynny udział w realizacji badań, analizie i merytorycznej ocenie otrzymanych wyników, oraz przygotowaniu manuskryptów, co z pewnością pozwoliło Jej na zdobycie odpowiedniego warsztatu naukowego i krytycznego podejścia niezbędnego w pracy naukowej. Potwierdza to przedstawiona do oceny opisowa część rozprawy, która w syntetyczny sposób dostarcza wszystkich informacji pozwalających na stwierdzenie oryginalności i istotności rozwiązywanego przez Autorkę problemu naukowego. Dysertacja jest wnikliwym kompendium wiedzy w uprawnionej dziedzinie naukowej, z trafnie postawianą hipotezą i celami badawczymi, które zostały zweryfikowane na podstawie uzyskanych wyników i na tle prac badawczych innych autorów.

2. Wartość merytoryczna rozprawy

Rozprawa opiera się na czterech publikacjach anglojęzycznych, które poddane zostały wcześniejszej ocenie przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów. To pozwoliło recenzentowi skupić się przede wszystkim na ocenie zawartości merytorycznej i spójności badań zaprezentowanych i omówionych w poszczególnych częściach przedłożonego opracowania.

Interesująco napisany wstęp umiejętnie wprowadza w problematykę będącą przedmiotem badań. Autorka krótko przedstawia najważniejsze informacje na temat układu odpornościowego ryb, charakteryzuje przebieg reakcji zapalnej, po czym skupia się na dogłębnym omówieniu funkcji, podziałów i roli makrofagów. Wyjaśnia podobieństwa i różnice stwierdzone pomiędzy polaryzacją monocytów/makrofagów komórek ssaczy, a rybich. Szczegółowo opisuje na czym polega neuroendokrynną regulacją reakcji odpornościowych i nakreśla stan wiedzy na temat wpływu hormonów steroidowych i stresu, a także środowiskowych związków endokrynnie czynnych (EDC, ang. *endocrine disruptors compounds*) na komórki i funkcje układu immunologicznego. Treści, sposób opracowania wyselekcjonowanych informacji naukowych, zilustrowanie ich pomocnymi, niezwykle starannie przygotowanymi przejrzystymi rycinami, świadczą o bardzo dobrej znajomości i zrozumieniu przez Doktorantkę zagadnień odnoszących się do obszaru rozprawy. Pozwoliło to z pewnością na klarowne sformułowanie hipotezy badawczej i określenie celu badań, który został osiągnięty poprzez realizację pięciu dobrze zaplanowanych zadań badawczych. Z analizy załączonych opublikowanych prac wynika, że dobór klasycznych, jak i nowoczesnych technik badawczych był właściwy i pozwolił na osiągnięcie miarodajnych, wartościowych, prawidłowo statystycznie opracowanych wyników. Szeroko zakrojone wielowątkowe badania zarówno *in vitro*, *in vivo* oraz *ex vivo* bez wątplenia wymagały ogromnego nakładu pracy, który wart jest podkreślenia. Podobnie sposób opracowania i interpretacji otrzymanych wyników oraz dbałość o przedstawienie wyczerpujących, pełnych danych, świadczą o dojrzałości naukowej Doktorantki. Dyskusja, będąca zasadniczą, najdłuższą częścią rozprawy jest wielowątkowa, a przy tym rzeczowa i konstruktywna. Otrzymane wyniki są szeroko omówione na tle bogatej literatury, a ich interpretacja odnosi się nie tylko do badań wykonywanych na rybach, ale także innych gatunkach zwierząt, co znacznie podnosi jej wartość. Zaobserwowane efekty i wyciągnięte z wykonanych badań wnioski są w logiczny, klarowny sposób sformułowane i jak najbardziej zasadne.

3. **Poprawność redakcyjna rozprawy**

Rozprawa mgr Magdaleny Maciuszek od strony redakcyjnej została przygotowana bardzo starannie. Układ pracy jest prawidłowy i pozwala sprawnie poruszać się po całości tak obszernego opracowania. Rozprawa liczy 168 stron, na których, oprócz licznych graficznych interpretacji wyników zawartych w pracach już

opublikowanych, znajduje się osiem dodatkowych rycin oraz dwie podsumowujące tabele, dokładnie opisane i wyjaśnione, które znacznie ułatwiają czytelnikowi analizę otrzymanych przez Doktorantkę rezultatów. Wykaz odnośników literaturowych w liczbie 311 pozycji jest imponujący. Został on opracowany z dbałością o zachowanie jednolitej struktury, co świadczy o skrupulatności i staranności Autorki. Dysertacja napisana jest prawidłowo pod względem językowym. W części opisowej znaleziono niewielką liczbę literówek (np. str. 24, 27, 76, 134, 139), czy potknięć interpunkcyjnych (np. brak kropek na końcu zdania str. 28, 47) oraz niezręcznych określeń np. „zwoływane są neutrofile” (str. 13”), które to z racji pełnionej funkcji recenzenta nadmieniam. Podobnie jak potrzebę zachowanie spójności i zamieszczania pełnego opisu użytych skrótów (np. str. 18, receptory opioidowe KOR, DOR, MOR). Te drobne nieścisłości, na tle tak starannego, obszernego opracowania w niczym nie umniejszają mojej wysokiej oceny pracy od strony redakcyjnej.

4. **Uwagi krytyczne**

Analiza przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej nasunęła mi kilka spostrzeżeń i pytań.

1. We wstępie Doktorantka pisze iż w populacji makrofagów M2 ssaków wyróżnia się obecnie 3 podtypy: M2a, M2b, M2c. Ostatnio opisywany jest także podtyp M2d tzw. makrofagi związane z guzem (TAM). Czy Doktorantka spotkała się na etapie przeglądu literatury z opisem tego podtypu i co Jej wiadomo na ich temat.
2. Pewnym niedociągnięciem części opisowej rozprawy jest brak krótkiego opisu metodologii badań. Co prawda układ badań i metody są szczegółowo i bardzo dobrze opisane w opublikowanych pracach, jednakże niekiedy autorzy odwołują się do wcześniejszych prac, jak to ma miejsce np. odnośnie przygotowania paszy i doboru stężeń 17α -etynyloestradiolu (EE2) i 4t-OP (4-tert-oktylofenolu). Chciałabym ponadto zapytać z ilu ryb pobierano materiał do badań *in vitro*?
3. W rozprawie brakuje wykazu użytych skrótów, co byłoby bardzo pomocne przy analizie tak obszernego opracowania.
4. Ostatni wniosek końcowy dotyczący badań *in vivo* wydaje się być zbyt ogólny. Mimo wszystko należałoby doprecyzować, o jakie kluczowe mediatory uczestniczące w odpowiedzi komórkowej chodzi.

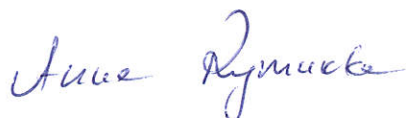
5. W tym miejscu ciekawa jestem opinii Doktorantki, co wynika z rezultatów badań, jak widzi przyszły kierunek badań, co należy kontynuować i rozwijać.

5. **Ocena końcowa:**

Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Maciuszek stanowi merytoryczne, dobrze przemyślane, starannie zaplanowane i prawidłowo wykonane opracowanie naukowe, które wyróżnia się starannością oraz bardzo dobrą organizacją obszernego i wielowątkowego materiału. Wyniki uzyskane w toku badań przedstawiają wysoką wartość poznawczą, ponieważ nie tylko potwierdzają interakcje pomiędzy układem dokrewnym a odpornościowym, ale także określają kierunek polaryzacji monocytów/makrofagów ryb w zależności od środowiska cytokinowego i hormonalnego. Mają ponadto walor praktyczny, gdyż wskazują, iż zanieczyszczenie środowiska wodnego proestrogennymi substancjami różnego pochodzenia, może wpływać na przebieg reakcji odpornościowych u ryb i przyczyniać się do zwiększenia ich podatności na zakażenia, a co za tym idzie, wpływać na ich dobrostan i żywotność.

Podsumowując, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Magdaleny Maciuszek spełnia warunki określone w art. 13.1 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 późn. zmianami) i **wnioskuje do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Pani Magdaleny Maciuszek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ponadto, biorąc pod uwagę pracochłonność przeprowadzonych eksperymentów, oryginalność i wartość merytoryczną uzyskanych wyników, które zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach i już są cytowane, **wnioskuje o wyróżnienie przedstawionej rozprawy.**



Lublin, 15.02.2021 r.

data sporządzenia recenzji

.....

podpis recenzenta