



Dr hab. n. med. Agnieszka Owczarczyk-Saczonek

Olsztyn, 18.12.2022

Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych

Drogą Płciową i Immunologii Klinicznej,

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

Recenzja pracy doktorskiej Oktawii Osieckiej

na podstawie cyklu publikacji pt. „*Rola białka SLPI w patofizjologii ludzkich granulocytów*”

Promotor: Prof. dr hab. Joanna Cichy

1. **Osiecka O**, Skrzeczynska-Moncznik J, Morytko A, Mazur A, Majewski P, Bilska B, Kapinska-Mrowiecka M, Kosalka-Wegiel J, Pastuszczak M, Pyza E, Cichy J. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor Is Present in Circulating and Tissue-Recruited Human Eosinophils and Regulates Their Migratory Function. *Front Immunol.* 2022 Jan 12;12:737231. (IF 7.561, Pkt. MNiSW/KBN: 140).
2. Cassetta L, Bruderek K, Skrzeczynska-Moncznik J, **Osiecka O**, Hu X, Rundgren IM, Lin A, Santegoets K, Horzum U, Godinho-Santos A, Zelinsky G, Garcia-Tellez T, Bjelica S, Taciak B, Kittang AO, Höing B, Lang S, Dixon M, Müller V, Utikal JS, Karakoç D, Yilmaz KB, Górka E, Bodnar L, Anastasiou OE, Bourgeois C, Badura R, Kapinska-Mrowiecka M, Gotic M, Ter Laan M, Kers-Rebel E, Król M, Santibañez JF, Müller-Trutwin M, Dittmer U, de Sousa AE, Esendağlı G, Adema G, Loré K, Ersvær E, Umansky V, Pollard JW, Cichy J, Brandau S. Differential expansion of circulating human MDSC subsets in patients with cancer, infection and inflammation. *J Immunother Cancer.* 2020 Sep;8(2):e001223. (IF 12.469, Pkt. MNiSW/KBN: 140).





3. Skrzeczynska-Moncznik J, Zabiegło K, **Osiecka O**, Morytko A, Brzoza P, Drozd L, Kapinska-Mrowiecka M, Korkmaz B, Pastuszczak M, Kosalka-Wegiel J, Musiał J, Cichy J. Differences in Staining for Neutrophil Elastase and its Controlling Inhibitor SLPI Reveal Heterogeneity among Neutrophils in Psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2020 Jul;140(7):1371-1378.e3. (IF 8,551, Pkt. MNiSW/KBN: 140).
4. Skrzeczynska-Moncznik J, Zabiegło K, Bossowski JP, **Osiecka O**, Włodarczyk A, Kapinska-Mrowiecka M, Kwitniewski M, Majewski P, Dubin A, Cichy J. Eosinophils Regulate Interferon Alpha Production in Plasmacytoid Dendritic Cells Stimulated with Components of Neutrophil Extracellular Traps. *J Interferon Cytokine Res.* 2017 Mar;37(3):119-128. (IF 1,167, Pkt. MNiSW/KBN: 70).
5. Majewski P, Majchrzak-Gorecka M, Grygier B, Skrzeczynska-Moncznik J, **Osiecka O**, Cichy J. Inhibitors of Serine Proteases in Regulating the Production and Function of Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol.* 2016 Jun 30;7:261. (IF 6.429, Pkt. MNiSW/KBN: 140).

Oktawia Osiecka jest absolwentką kierunku biologia i geologia Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi oraz prawa Wydziału Prawa i Administracji na Uniwersytecie Jagiellońskim. Obecnie jest uczestniczką Studiów doktoranckich na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii na Uniwersytecie Jagiellońskim w zakresie nauk biologicznych, dyscyplina: biochemia. Ponadto jest zatrudniona na stanowisku naukowo-technicznych w projekcie dr Aleksandra Grabca „*Epigenetyka paradontozy: metylacja DNA w rozwoju choroby i jako potencjalny cel terapeutyczny*” w Zakładzie Mikrobiologii WBBiB UJ oraz na stanowisku inżynierijno-technicznym w projekcie dr Mai Sochalskiej „*Celowe hamowanie ekspresji białek anty-apoptotycznych z rodziny Bcl-2 jako potencjalna terapia paradontozy. Analiza in vitro i in vivo*” w Zakładzie Mikrobiologii WBBiB UJ. Aktywnie działa naukowo, czego dowodem są wystąpienia na konferencjach międzynarodowych poświęconych zagadnieniom immunologii. Działalność dydaktyczna polega na prowadzeniu ćwiczeń z immunologii, opiece nad studentami w ramach pracowni specjalistycznej, oraz uczestnictwa w akcjach popularyzatorskich biochemii, biofizyki i biotechnologii dla młodzieży.





Osiągnięcie naukowe spełnia warunki określone w Ustawie z dnia z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003r. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) i stanowi cykl aż pięciu oryginalnych prac, powiązanych tematycznie - „*Rola białka SLPI w patofizjologii ludzkich granulocytów*”. We jednej, oryginalnej pracy Kandydatka jest pierwszym autorem o IF aż 7.561, w pozostałych trzecim lub czwartym. Podany cykl publikacji do recenzji ma wysoki IF ponad 36 i MNiSW/KBN: 630.

Nieprawidłowa aktywność epidermalnej proteazy serynowej jest związana z patogenezą wielu zapalnych chorób skóry, takich jak zespół Nethertona, atopowe zapalenie skóry (AZS), łuszczyca, trądzik różowaty, zagrażającej życiu eozynofilowej ziarniniakowości z zapaleniem naczyń i chorób świądowych. Najczęstszą wśród nich jest AZS, która dotyka do 25% dzieci i 2–3% dorosłych, ma złożoną patogenezę obejmującą czynniki genetyczne, immunologiczne i środowiskowe, które prowadzą do dysfunkcji bariery skórnej i dysregulacji układu odpornościowego. Udowodniono również rolę aktywności naskórkowej proteazy serynowej w patogenezie tej choroby, nie tylko w zmianach chorobowych, ale także w zmianach nieuszkodzonych u pacjentów z AZS. Ponadto występowanie korelacji pomiędzy aktywnością proteazy serynowej w naskórku a całkowitym poziomem immunoglobuliny E (IgE) w surowicy, chemokina regulowaną aktywacją i grasicą (TARC) oraz liczbą eozynofili we krwi obwodowej. Być może rola wydzielniczego inhibitora proteaz leukocytarnych (SLPI) może okazać się kluczowa w terapii AZS.

Eksperymenty wykazały, że IFN- γ , ważna cytokina prozapalna, zmniejsza wytwarzanie przez komórki nabłonka dróg oddechowych wydzielniczego inhibitora proteazy leukocytarnych (SLPI), co powoduje zwiększoną nadwrażliwość i oporność na steroidy. Ponadto SLPI hamuje tryptazę komórek tłuszczowych, co może być szansą na opracowanie strategii ukierunkowanych na szlak IFN- γ /SLPI nie tylko w chorobach alergicznych z tym endotypem, ale także dla mastocytóz.

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja stanowi opracowanie wyników uzyskanych z pięciu powyższych prac oryginalnych, stanowiąc logiczną całość. Rozprawa ma klasyczny podział na rozdziały – wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cele





pracy, materiał i metody, metodologia badań, wyniki dyskusja, wnioski końcowe i podsumowanie, bibliografia, spis tabel, spis rycin, zgodnie z wymogami formalnymi zawartymi w Ustawie o stopniach i tytułach naukowych. Napisana jest w przystępny sposób a jej logiczny układ ułatwia czytelnikowi śledzenie realizacji celów postawionych w pracy oraz analizę uzyskanych wyników. Niezmiernie cenny jest załączony na początku pracy Wykaz Skrótów stosowanych w pracy. Praca zawiera 143 strony tekstu, 30 rycin i 10 tabel. W pracy znajduje się odniesienie do 214 pozycji piśmiennictwa krajowego i zagranicznego, z czego aż 112 zostało opublikowanych w ostatnich 10 latach. Piśmiennictwo cytowane jest poprawnie.

Wstęp wprowadza czytelnika we właściwy temat pracy. Doktorantka opisuje fizjologiczną rolę neutrofilów i eozynofilów oraz ich znaczenie w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych i alergicznych. Poświęca wiele miejsca głównej, badanej cząsteczce SLPI, wydzielniczemu inhibitorowi proteaz leukocytarnych, charakteryzując jej znaczenie w patologii. Reasumując, rozdział ten zawiera istotną wiedzę świadczącą o merytorycznym przygotowaniu Doktorantki i stanowiącą podstawy teoretyczne badań.

W kolejnym rozdziale Doktorantka formułuje cele pracy: określenie występowania i lokalizacji białka SLPI w głównych typach ludzkich leukocytów krwi obwodowej, określenie przyczyn odmiennej immunoreaktywności subpopulacji neutrofilii względem SPLI i głównego substratu SLPI, tj. ludzkiej elastazy neutrofilowej (HNE), analiza wpływu białka SLPI na tworzenie sieci neutrofilowych (NETs), indukowanych przez różne czynniki oraz w różnych warunkach środowiskowych, oraz ocena roli białka SLPI w procesie migracji ludzkich granulocytów.

W rozdziale „Materiały i metody” w sposób czytelny zostały scharakteryzowane grupy badane i kontrolna, metody oceny badanych pacjentów. Doktorantka opisała metody badania SLPI i jej form zmutowanych (PCR), ich aktywności inhibitorowe, izolację frakcji PBMC i PMN z krwi obwodowej oraz ich podtypów, analizy cytometryczne, analizę immunofluorescencyjne z omówieniem barwień, analiza NETs, mikroskopia elektronowa, Westen blot, metody ELISA. Dużym atutem pracy jest wykorzystanie tak wielu, różnych metod badawczych oraz umiejętność współpracy z innymi jednostkami, biorącymi udział w badaniach, co jest dużym





atutem dla naukowca. Metody badawcze zostały dobrane prawidłowo i umożliwiły realizację postawionych sobie celów.

Projekty badawcze uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego (#87/B/2014, 1072.6120.7.2018, 1072.6120.30.2020, 1072.6120.355.2020).

Rozdział „Wyniki” zawiera opis rezultatów przeprowadzonych badań. Złożony jest głównie z rycin i tabel z załączonym krótkim komentarzem, który umożliwia pełne ich zrozumienie. Doktorantka wykazała obecność białka SLPI w granulocytach krwi obwodowej: neutrofilach, eozynofilach i neutrofilach niskiej gęstości (LDG), zarówno u zdrowych, jak i pacjentów z chorobami związanymi z zaangażowaniem granulocytów w patofizjologię, jednocześnie ze wzrostem SLPI w surowicy chorych. SLPI występuje głównie w krystalicznym rdzeniu ziarnistości eozynofilii i granulach neutrofilii. Ciekawym wynikiem jest stwierdzenie różnicy w immunoreaktywności dla ludzkiej elastazy i SLPI pomiędzy neutrofilami a LDG, co wynika z odmienności wiązania tych białek z cytoszkieletem. Ponadto neutrofile pobierają egzogenne SLPI bardziej efektywnie niż eozynofile, a SLPI selektywnie zwiększa liczbę migrujących obydwu typów granulocytów. Białko SLPI własności hamujące tworzenie NETs, niezależnie od aktywności antyproteazowej, obecności czynników stymulujących i glukozy, która jest czynnikiem sprzyjającym tworzeniu NETs.

W rozdziale „Dyskusja” Doktorantka dokonała analizy uzyskanych wyników, opierając dodatkowo swój tok myślenia na wynikach uzyskanych przez innych badaczy, z analizą dostępnego, aktualnego piśmiennictwa przedmiotu. „Dyskusja” jest przeprowadzona w sposób prawidłowy, logiczny i dojrzały, mimo tak młodego wieku Kandydatki. Przeprowadzone badania podkreślają znaczenie SLPI i NETs w patofizjologii zaburzeń autoimmunologicznych i alergicznych. Sformułowane przez Doktorantkę wnioski uważam za merytorycznie poprawne. Jednakże według recenzenta powinny być zawarte w odpowiednich do celów pracy punktach, aczkolwiek nie umniejsza to jej bardzo wysokiej wartości.

Istotnym atutem cyklu przedstawionego mi do recenzji pracy jest wysoki IF prac, aż pięciu artykułów wydrukowanych w cenionych pismach zagranicznych i polskich. Docenienie





ich przez recenzentów tychże czasopism uważam za bardzo istotne w ocenie tego cyklu i nie zgłaszam żadnych merytorycznych uwag. Dla mnie jako klinicysty, wnioski z powyższych prac są bardzo inspirujące i budzą nadzieję w opracowaniu terapii. Bardzo ciekawe jest wykazanie mechanizmu wpływającego SLPI na proces powstawania NETs. Jedyną uwagą jest stosowanie zamiennej pojęć granulocyty obojętnochłonne i neutrofile, osobiście zdecydowałam bym się na konsekwencję w stosowaniu terminu, ale oczywiście nie jest to błąd.

Wniosek:

Przedstawiony cykl prac składający się na rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko. Wybranie nowatorskiego, ciekawego tematu, prawidłowo dobrane metody badawcze oraz analizy statystyczne, dobór literatury, wskazują, że Oktawia Osiecka, jest osobą umiejacą prowadzić badania naukowe, oraz wyciągać odpowiednie wnioski. O wartości prac naukowych świadczą publikacje w renomowanych czasopismach medycznych, których całkowita punktacja IF wynosi ponad 36.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2003r. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). W związku z powyższym przedkładaam Radzie Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie Oktawii Osieckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na wysoką punktację IF wnioskuję o wyróżnienie.

Prof. dr hab. n. med. Agnieszka Owczarczyk-Saczonek

prof. dr hab. n. med.
Agnieszka Owczarczyk-Saczonek
lekarz specjalista
dermatolog-wenerolog
1352876

