



Politechnika Łódzka

Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

Łódź, 18.09.2023r.

Prof. dr hab. inż. Katarzyna Śliżewska
Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Marceliny Joanny Pyclik

pt: „Charakterystyka właściwości immunomodulujących *B. longum* spp. *longum*
CCM 7952 w leczeniu chorób o podłożu alergicznym”

wykonanej pod kierunkiem dr. hab. Sabiny Górskiej, prof. IITD PAN
w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej
Akademii Nauk we Wrocławiu

Podstawa Recenzji

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi uchwała Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu z dnia 15 czerwca 2023 r. oraz pismo Zastępcy Dyrektora ds. naukowych Instytutu, pani prof. dr hab. Jolanty Łukasiewicz z dnia 8 sierpnia 2023 r.

Recenzja sporządzona została na podstawie przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Istota i ranga podjętego problemu badawczego

Choroby alergiczne uznane zostały za choroby cywilizacyjne XX wieku. Prognozy Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej przewidują, że w 2025 r. ponad 50% mieszkańców naszego kontynentu będzie cierpieć na przynajmniej jeden typ alergii, bez względu na wiek, status społeczny czy położenie geograficzne. Alergię określa się jako zdolność organizmu do specyficznego i anormalnego reagowania

na obcy bodziec. Istnieje kilka teorii wskazujących jak dochodzi do rozwoju reakcji alergicznej, ale jedną z głównych przyczyn może być dysbioza mikrobiologiczna. Zasadne zatem wydaje się prowadzenie badań nad zwiększeniem różnorodności mikrobioty, która stymuluje kształtowanie się prawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Badania przedstawione w ocenianej pracy doktorskiej skupiają się na określeniu właściwości immunomodulujących wybranych szczepów bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* w terapii schorzeń o podłożu alergicznym.

Biorąc powyższe pod uwagę wybór tematu dysertacji uznaję za aktualny i uzasadniony. Uważam, że podjęta tematyka ma istotne znaczenie z punktu widzenia nauki i zdrowia publicznego.

Formalna ocena pracy

Rozprawa doktorska mgr inż. Marceliny Joanny Pyclik jest w formie monografii napisanej w języku polskim, ze streszczeniem w języku angielskim.

Praca liczy 144 strony tekstu. Układ pracy odpowiada zwyczajowo przyjętemu przy pracach badawczych na stopień naukowy i zawiera następujące części: spis skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, literatura. Przegląd piśmiennictwa omówiony jest na 35 stronach, materiały i metody na 17 stronach, a wyniki, dyskusja i wnioski na 40 stronach. Taki układ pracy jest prawidłowy i pozwala na klarowne przedstawienia wykonanych badań.

Zamieszczony wykaz literatury zawiera 388 pozycji najnowszego piśmiennictwa światowego i zajmuje 23 strony. Aktualność cytowanej literatury nie budzi zastrzeżeń. Tytuł pracy – „Charakterystyka właściwości immunomodulujących *B. longum* spp. *longum* CCM 7952 w leczeniu chorób o podłożu alergicznym” odzwierciedla jej treść, cel i zakres prowadzonych badań. Należy podkreślić, że strona graficzna monografii została przygotowana starannie.

Stwierdzam, że praca spełnia wymagania formalne stawiane rozprawom dysertacyjnym na stopień doktora.

Merytoryczna ocena pracy

Rozprawę doktorską otwiera spis treści, spis skrótów oraz streszczenie w języku polskim i angielskim (rozdział 1-4). Wstęp literaturowy (rozdział 5) stanowi szczegółowe

wprowadzenie do zagadnień podejmowanych w części eksperymentalnej i dobre uzasadnienie wyboru tematyki dysertacji. W pierwszej części wstępu Doktorantka dokonała charakterystyki alergii, klinicznych objawów i mechanizmu reakcji alergicznej oraz metod leczenia alergii. Kolejna część wprowadzenia została poświęcona bakteriom z rodzaju *Bifidobacterium*, opisano ich rolę w rozwoju układu odpornościowego, właściwości probiotyczne oraz antygeny powierzchniowe *Bifidobacterium*.

Przegląd piśmiennictwa jest bardzo obszernym opracowaniem, zamieszczonym na 35 stronach, które zajmuje ok. 32% objętości pracy, z wyłączeniem spisu literatury, rycin i tabel oraz dorobku naukowego. W mojej opinii wprowadzenie do rozprawy stanowi bardzo dobre i wyczerpujące wprowadzenie do tematyki rozprawy doktorskiej, a omówione zagadnienia są zilustrowane przejrzystymi rycinami. Wskazuje to na dużą wiedzę Autorki oraz gruntowną znajomość zagadnień związanych z tematyką pracy doktorskiej.

Cel pracy został przedstawiony w rozdziale nr. 6. Główny cel pracy został określony jako określenie właściwości immunomodulujących szczepu *Bifidobacterium longum* spp. *longum* CCDM 7952 w terapii schorzeń o podłożu alergicznym. Cel ten został rozszerzony o podanie trzech celów cząstkowych, tj.: (1) Określenie *in vitro* profilu cytokinowego jaki indukują szczepy *Bifidobacterium* z wykorzystaniem szeregu linii komórek immunologicznych i nabłonkowych oraz splenocytów uzyskanych od myszy uwrażliwionych na owoalbuminę (OVA); (2) Określenie możliwości wykorzystania wybranego szczepu *Bifidobacterium* w leczeniu alergii wziewnej z wykorzystaniem mysiego modelu alergii wziewnej indukowanej OVA z uwzględnieniem wpływu termicznej inaktywacji bakterii; (3) Określenie właściwości immunodelujących antygenów powierzchniowych wybranego szczepu *Bifidobacterium*, które mogą być odpowiedzialne za obserwowane właściwości biologiczne. Nie mam zastrzeżeń merytorycznych do sformułowanych celów, ale brakuje mi określenia hipotez badawczych i zakresu badań, które mogą być konsekwentnie weryfikowane w wyniku realizacji pracy.

Rozdział 7 w dysertacji przedstawia metodologię badań, która zawiera dane dotyczące materiałów badawczych, dokładny opis eksperymentów, zastosowanych metod analitycznych i statystycznej analizy wyników badań. Na uwagę zasługuje

zaprezentowanie wielu informacji w formie czytelnych tabel, ryciny oraz klarowne i bardzo dokładne przedstawienie opisu metod badawczych.

W rozdziale 8 szczegółowo opisano uzyskane wyniki, które zaprezentowano głównie na rycinach, w postaci średnich arytmetycznych z zaznaczeniem standardowego błędu pomiaru (SEM) oraz analizowanych różnic statystycznych. Stanowi to rzetelną dokumentację przeprowadzonych eksperymentów i analiz. Każde zagadnienie badawcze zostało przedstawione w osobnym rozdziale co nadaje pracy przejrzystość i ułatwia jej czytanie. Pierwszy podrozdział opisywanych wyników dotyczył charakterystyki właściwości fizykochemicznych szczepów *Bifidobacterium*, tj.: wielkość i ładunek komórek żywych i termicznie inaktywowanych oraz przeżywalności komórek w PBS w temperaturze 4°C. Dla większości komórek badanych szczepów stwierdzono obniżenie przeżywalności komórek bifidobakterii w PBS po 48 godzinnej inkubacji, za wyjątkiem szczepu *Bifidobacterium animalis* CCDM 218 (skrót w pracy Ban 218), który w temperaturze 4°C zwiększył swoją liczebność o rząd wielkości. Jak Doktorantka może się do tego odnieść, proszę o krótki komentarz podczas obrony. Następnie Doktorantka bardzo dokładnie opisała wyniki badań dotyczące charakterystyki właściwości immunomodulujących termicznie inaktywowanych szczepów *Bifidobacterium*, w tym: wpływ bifidobakterii na komórki układu odpornościowego, pochłanianie bifidobakterii przez komórki nabłonka oraz przekazanie ich komórkom prezentującym antygen oraz badanie roli receptorów TLR i NOD w rozpoznawaniu bifidobakterii. Za szczególnie interesujące i ważne z punktu widzenia naukowego uważam badania *in vivo* określające właściwości immunomodulujące szczepu *Bifidobacterium longum* spp. *longum* CCM 7952 w mysim modelu alergii indukowanym owoalbuminą oraz określenie właściwości immunomodulujących wybranych antygenów powierzchniowych. Jako Recenzent mam pytanie. Gdzie zostały przeprowadzone badania *in vivo* na myszach BALB/c i jaki był udział Doktorantki w tych badaniach?

Ważną częścią rozprawy jest przeprowadzona na 12 stronach Dyskusja (rozdział 9), w którym omówione zostały uzyskane wyniki w oparciu o 86 pozycji literaturowych. Doktorantka dokonała klarownego podsumowania otrzymanych wyników i porównała je uzyskanymi przez innych autorów, co świadczy o dojrzałości naukowej i umiejętności krytycznego spojrzenia na pozyskane wyniki.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorantka prawidłowo sformułowała cztery wnioski. Świadczą one o realizacji wyznaczonego celu badań.

Oceniana rozprawa doktorska została przygotowana starannie pod względem merytorycznym i edytorskim, jednakże z obowiązku recenzenta podaję kilka drobnych błędów, na które zwróciłam uwagę podczas czytania pracy:

- W pracy stosowane jest stare nazewnictwo w odniesieniu do bakterii. Obowiązujące od 2021 r. nowe nazwy taksonomiczne można sprawdzić na stronie <https://lpsn.dsmz.de>.

- Błędne użycie nazwy „*Lactobacillus*”. Zgodnie z wytycznymi przedstawionymi w pracy Zheng i wsp 2020 (10.1099/ijsem.0.004107) bakterie należące do dawnego *Lactobacillus* (przed 2020 r.) powinny być określane jako „lactobacilli”.

- Niewłaściwie sformułowany tytułów rozdziału 8.4. oraz 8.5.

- Brak podania niektórych skrótów w spisie.

Powyższe uwagi mają jedynie charakter dyskusyjny lub porządkowy i nie umniejszają w moim poczuciu dużej wartości przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej mgr inż. Marceliny Joanny Pyclik.

Podsumowując, pragnę podkreślić, że poruszana w dysertacji tematyka jest aktualna i ważna. Wykonane badania i przeprowadzone analiza materiału empirycznego świadczą o tym, że Doktorantka wykazała się umiejętnościami prawidłowego planowania, realizowania badań, kompleksowym i analitycznym podejściem do rozwiązywanego problemu. Zakres badań był szeroki, a jego wykonanie pracochłonne. Realizacja badań wykonanych przez Doktorantkę świadczy o Jej dobrym przygotowaniu do prowadzenia badań w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych. Uważam, że oceniana dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i posiada istotną wartość poznawczą.

Wartym podkreślenia jest również całościowy dorobek naukowy mgr inż. Marceliny Joanny Pyclik, który obejmuje: 8 publikacji (wszystkie o wysokim współczynniku oddziaływania Impact Factor), 3 patenty, 12 prezentacji ustnych na konferencjach naukowych. Ponadto brała udział 6 projektach badawczych (w jednym z nich pełniła funkcję kierownika), odbyła 5 staży naukowych i pięciokrotnie została nagradzana otrzymując odpowiednie stypendia.

Wniosek końcowy

Podsumowując swoją ocenę stwierdzam, iż rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marceliny Joanny Pyclik zatytułowana „Charakterystyka właściwości immunomodulujących *B. longum* spp. *longum* CCM 7952 w leczeniu chorób o podłożu alergicznym” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto mając na uwadze wysokie walory merytoryczne pracy oraz analizy i interpretacji uzyskanych wyników badań, wnioskuję o wyróżnienie.

Katarzyna Ślizewska