



Łódź, 7 stycznia 2025 r.

**WYDZIAŁ BIOLOGII
i OCHRONY
ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. UŁ
Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej
Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź
magdalena.druszczyńska@biol.uni.lodz.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Lidii Fiedorowicz
pt. „Znaczenie zmienności genetycznej i fenotypowej *Mycobacterium tuberculosis* w procesie
transmisji gruźlicy”**

Gruźlica (TB) pozostaje jednym z najpoważniejszych globalnych wyzwań zdrowotnych, szczególnie w kontekście narastającej lekooporności i wysokiej zakaźności szczepów *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Pomimo znacznego postępu w badaniach nad patogenezą i epidemiologią tej choroby, wciąż istnieją istotne luki w zrozumieniu mechanizmów, które sprawiają, że niektóre szczepy *M. tuberculosis* rozprzestrzeniają się szybciej i skuteczniej niż inne. Wykrycie czynników molekularnych i fenotypowych sprzyjających skutecznej transmisji jest kluczowe dla prewencji powstawania nowych ognisk choroby oraz opracowania skuteczniejszych strategii kontrolnych. Zrozumienie specyficznych cech patogenów, takich jak szybkość wzrostu, zdolność przetrwania w komórkach gospodarza czy obecność mutacji związanych z lekoopornością, ma fundamentalne znaczenie dla skutecznego monitorowania epidemiologicznego oraz projektowania nowych terapii. Problem różnic genetycznych i fenotypowych pomiędzy szczepami wysokotransmisyjnymi i niskotransmisyjnymi stanowi obecnie jeden z kluczowych obszarów badań, który może przynieść przełomowe rezultaty w walce z gruźlicą.

Recenzowana rozprawa doktorska mgr Lidii Fiedorowicz, wykonana pod kierunkiem prof. dr. hab. Jarosława Dziadka oraz dr Aliny Minias w Instytucie Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, wpisuje się w ten nurt badań, koncentrując się na identyfikacji molekularnych mechanizmów leżących u podstaw zróżnicowania szczepów *M. tuberculosis* pod względem ich

zdolności do transmisji i adaptacji w organizmie gospodarza. Podjęty temat jest nie tylko w pełni uzasadniony z punktu widzenia poznawczego, ale również niezwykle istotny w wymiarze praktycznym, ponieważ wyniki tych badań mogą przyczynić się do poprawy działań profilaktycznych, wczesnego wykrywania ognisk epidemicznych oraz optymalizacji terapii, czyli realnie wspierać globalne wysiłki zmierzające do ograniczenia zapadalności i śmiertelności związanej z TB, co stanowi jeden z priorytetów współczesnej medycyny i zdrowia publicznego.

Ocena formalna i merytoryczna rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska to 146-stronicowa monografia przygotowana na podstawie wyników badań eksperymentalnych. Jej struktura jest typowa dla tego typu prac, składają się na nią rozdziały (1. Wstęp, 2. Cele pracy, 3. Materiały, 4. Metody, 5. Wyniki, 6. Dyskusja, 7. Wnioski, 8. Streszczenie, 9. Abstract, 10. Literatura) podzielone na mniejsze sekcje, tworzące spójną i logiczną całość.

Wstęp pracy przedstawia obszerny, uporządkowany i szczegółowy opis zagadnień związanych z gruźlicą, obejmujący zarówno epidemiologię choroby na świecie i w Polsce, jak i mechanizmy patogenezы oraz metody leczenia. Autorka prezentuje aktualny stan wiedzy naukowej, co pozwala na wnikliwe przyjrzenie się współczesnym wyzwaniom związanym z tą chorobą. Przytaczanie statystyk z całego świata pozwala lepiej zrozumieć skalę zjawiska, a dokładne dane statystyczne dotyczące Polski podsumowują sytuację lokalną i czynią ją również zrozumiałą w szerszym, globalnym kontekście. W kolejnych podrozdziałach *Wstępu* Doktorantka wyjaśnia mechanizmy zakażenia prątkami gruźlicy i przebieg odpowiedzi odpornościowej gospodarza, co pozwala na zrozumienie nie tylko samego cyklu życiowego patogenu, ale i roli komórek układu odpornościowego oraz cytokin w walce z zakażeniem. *Wstęp* zawiera także szczegółową charakterystykę prątków lekoopornych, zwieńczoną wyjaśnieniem, dlaczego walka z gruźlicą staje się coraz większym wyzwaniem, zwłaszcza w kontekście nieregularnego przyjmowania leków i przerwanej terapii przez pacjentów. Na uwagę zasługuje także omówienie różnych czynników – biologicznych, immunologicznych, środowiskowych i socjoekonomicznych – które wpływają na epidemiologię gruźlicy. Tak szeroka perspektywa pozwala spojrzeć całościowo na problem gruźlicy i zrozumieć, dlaczego eliminacja gruźlicy wymaga działań wykraczających poza samą farmakoterapię. *Wstęp* rozprawy stanowi solidny fundament do dalszych części pracy, prezentując kompendium aktualnej wiedzy o tej chorobie. Tekst jest napisany przejrzysto, a liczne odwołania do literatury źródłowej podkreślają wysoki poziom merytoryczny rozdziału.

Po interesującym wprowadzeniu w tematykę rozprawy mgr Lidia Fiedorowicz przedstawiła *Cele pracy*, jasno formułując główny cel badawczy, którym była identyfikacja różnic

genetycznych i fenotypowych między szczepami prątków gruźlicy charakteryzującymi się wysoką oraz niską zdolnością transmisji oraz ocena wpływu tych różnic na zdolność szczepów do rozprzestrzeniania się. Realizacja tego celu została osiągnięta poprzez zdefiniowane cele szczegółowe, obejmujące m.in. badania asocjacyjne genomów *M. tuberculosis*, analizę poziomu wewnątrzkomórkowego pochłaniania i przeżywania prątków w makrofagach oraz ocenę aktywności sekrecyjnej komórek linii THP-1 zakażonych żywymi prątkami gruźlicy. Tak szeroko zakrojone podejście badawcze podkreśla wieloaspektowy charakter prowadzonych analiz, umożliwiając prześledzenie kolejnych etapów postępowania naukowego w sposób spójny i logiczny.

Poszczególne eksperymenty recenzowanej rozprawy zostały zaprojektowane w sposób przemyślany i całkowicie adekwatny do zaplanowanych zadań badawczych. W rozdziale 3 (*Materiały*) zawarto wykaz badanych szczepów, referencyjnego szczepu *M. tuberculosis* H₃₇Rv, jak i bogatej kolekcji szczepów klinicznych (zarówno wysokotransmisyjnych, jak i niskotransmisyjnych) uzyskanych z Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Skrupulatny opis wykorzystanych w pracy odczynników i zestawów komercyjnych od razu sygnalizuje złożoność planowanych w pracy eksperymentów i zapowiada bogactwo uzyskanych wyników. W tym miejscu proszę o wyjaśnienie, co decydowało o zakwalifikowaniu szczepu *M. tuberculosis* do grupy wysokotransmisyjnych lub niskotransmisyjnych? Jakie dane epidemiologiczne i/lub wyniki badań genetycznych były niezbędne, aby można było dokonać takiej klasyfikacji? Rozdział 4 (*Metody*) stanowi wzorowy opis zastosowanych procedur. Każdy etap został opisany z zachowaniem wszelkich szczegółów, co potwierdza wysoką staranność wykonanej przez Doktorantkę pracy eksperymentalnej. Poszczególne metody opisano w sposób chronologiczny i zrozumiały. Z łatwością można prześledzić, jak kolejne etapy weryfikują wyniki wcześniejszych analiz, co jest kluczem do uzyskania spójnych wniosków. Recenzentowi zabrakło jedynie informacji o liczbie niezależnych powtórzeń, aby upewnić się o pełnej replikowalności danych; proszę Doktorantkę o uzupełnienie.

W rozdziale *Wyniki* Doktorantka przedstawiła rezultaty uzyskane w ramach kolejnych etapów prowadzonych badań. Zostały one zaprezentowane w sposób klarowny i uporządkowany, przy użyciu 11 rycin i 5 tabel, co znacząco ułatwia ich analizę i interpretację. Każda część została wzbogacona o szczegółowe opisy, dzięki czemu przedstawione rezultaty są nie tylko czytelne, ale również atrakcyjne pod względem odbioru merytorycznego. Autorka rozpoczęła część wynikową od charakterystyki szczepów wysokotransmisyjnych i niskotransmisyjnych, a następnie szczegółowo omówiła takie aspekty jak profile lekooporności, kinetyka wzrostu w różnych warunkach, testy kompetycji, zdolność do przeżywania w makrofagach oraz wyniki analizy transkryptomicznej. Taki wieloaspektowy sposób podejścia nadaje pracy interdyscyplinarnego

charakteru, co jest jej dużym atutem. Na uwagę zasługuje fakt, że Autorka nie unikała odniesienia się do trudności napotkanych w trakcie badań, takich jak ograniczenia wynikające z niemożności uzyskania rekombinantów dla niektórych klinicznych szczepów *M. tuberculosis*. Konsekwentne analizowanie każdego odstępstwa od oczekiwań świadczy o jej rzetelnym podejściu badawczym i gotowości do wyjaśniania wyników odbiegających od przyjętych hipotez. W nawiązaniu do tej części pracy, warto rozważyć kilka kwestii: w jaki sposób ustalono, że dane fenotypowe (np. kinetyka wzrostu, lekooporność, przeżycie w makrofagach) korelują bądź nie korelują z poziomem transmisyjności szczepów? Które z badanych parametrów fenotypowych uznano za najbardziej miarodajne? Jakie potencjalne ograniczenia w interpretacji wyników zostały wzięte pod uwagę?

W rozdziale *Dyskusja* Doktorantka podjęła wartościową próbę osadzenia przedstawionych danych w kontekście najnowszych publikacji naukowych. Mimo wielowątkowości tego rozdziału, Recenzent zauważa, że w niektórych aspektach brakuje bardziej pogłębionej konfrontacji własnych wyników z badaniami innych grup, co ogranicza możliwość pełniejszego zrozumienia, dlaczego wyniki są zbieżne bądź odmienne, oraz jakie mogą wynikać z tego implikacje. Obserwowane różnice Autorka często tłumaczy ograniczeniami metodycznymi lub niewystarczającą liczbą analizowanych prób. W takich przypadkach przydatne byłoby bardziej szczegółowe omówienie, np. wskazanie potencjalnych błędów w protokołach badawczych lub możliwych źródeł błędu statystycznego, co dodatkowo wzbogaciłoby ten rozdział. Jednocześnie warto podkreślić, że w *Dyskusji* wyraźnie wskazano potencjalne ograniczenia pracy, takie jak wielkość kolekcji szczepów czy złożoność zjawiska transmisji w populacji. Na uwagę zasługuje również fakt, że Autorka nie ograniczyła się jedynie do czysto akademickich rozważań, w przekonujący sposób przedstawiając, że uzyskane wyniki mogą w przyszłości przyczynić się do doskonalenia metod nadzoru epidemiologicznego.

Rozdział 7 *Wnioski* stanowi zwięzłe podsumowanie przeprowadzonych badań. W opinii Recenzenta, wnioski te mogłyby być bardziej szczegółowe i precyzyjne, zwłaszcza w kontekście obszernej i bogatej części wynikowej pracy. Uzupełnienie ich o bardziej rozwinięte wnioski natury naukowej pozwoliłoby lepiej ukazać przełożenie zgromadzonego materiału doświadczalnego na kluczowe aspekty badawcze. O ile celem Doktorantki mogło być syntetyczne ujęcie wniosków, warto byłoby rozważyć ich rozwinięcie, aby w pełni oddać potencjał zgromadzonych danych i przeprowadzonych analiz.

Recenzowaną rozprawę kończy *Streszczenie* przygotowane w języku polskim i angielskim, napisane poprawnie, dobrze oddające wszystkie treści zawarte w dysertacji oraz rozdział *Literatura*, w którym wykorzystano 208 pozycji właściwie dobranej literatury naukowej

opublikowanej w latach 1999-2023. Wszystkie pozycje bibliograficzne zostały zacytowane w tekście poprawnie.

Pytania od Recenzenta:

Z dużym zainteresowaniem zapoznałam się z przedstawioną pracą, która podejmuje niezwykle ważny temat związany z mechanizmami transmisyjności szczepów *M. tuberculosis* oraz ich potencjalnym znaczeniem dla diagnostyki i terapii. Ze względu na interdyscyplinarny charakter badań i bogactwo poruszanych zagadnień, pozwolę sobie zadać kilka szczegółowych pytań, które mają na celu lepsze zrozumienie wyników, metodyki oraz możliwości praktycznego zastosowania zaprezentowanych rozwiązań.

1. Jak można wyjaśnić obserwowane różnice (bądź ich brak) w eksperymentach z makrofagami, skoro część szczepów wysokotransmisyjnych nie wykazywała przewagi wewnątrzkomórkowej? Czy można to powiązać z mechanizmami uniknięcia odpowiedzi immunologicznej innych niż wczesne etapy fagocytozy?
2. Czy zaobserwowane zmiany w ekspresji np. genów *mce2A/R*, *mmpl9*, *esxL* można powiązać z opublikowanymi wcześniej wynikami sugerującymi rolę tych genów w wirulencji/rozprzestrzenianiu się prątków?
3. Czy przedstawione wnioski płynące z pracy mogą mieć bezpośrednie zastosowanie w diagnostyce i kontroli epidemii gruźlicy? Czy proponowane podejście ułatwi w przyszłości szybszą identyfikację wysoce zakaźnych szczepów? Jakich dalszych badań wymagałoby wdrożenie opisanych metod w diagnostyce populacyjnej?
4. Jakie kolejne eksperymenty lub modele (np. zwierzęce) są – zdaniem Doktorantki – niezbędne, by pogłębić wnioski uzyskane w pracy?
5. Czy rozważano przeprowadzenie badań korelacyjnych z immunoprofilami pacjentów (np. poziomem cytokin w surowicy) albo geograficznym rozkładem szczepów w większej populacji, by potwierdzić uzyskane wyniki?


Podsumowanie i wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny dysertacja w pełni spełnia wszystkie ustawowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Wysoko oceniam zarówno wartość merytoryczną pracy, jak i jej warstwę językową. Szczególne uznanie budzi precyzyjne ujęcie problematyki badawczej oraz logiczna i spójna struktura dysertacji. Całość badawcza imponuje rozmachem, różnorodnością zastosowanych technik oraz konsekwencją w dążeniu do celu. Z pewnością jest to opracowanie, które nie tylko porządkuje dotychczasową wiedzę i pogłębia ją w zakresie prątków *M. tuberculosis*, ale także może stanowić inspirację dla dalszych prac naukowych w tym obszarze. Poszczególne rozdziały pracy zostały opracowane przez mgr Lidię Fiedorowicz z dużą starannością i dbałością o szczegóły, co świadczy o Jego wysokim poziomie rzetelności naukowej, głębokim zaangażowaniu w proces badawczy oraz rozwiniętych kompetencjach analitycznych. Praca dowodzi również

umiejętności interpretacji danych i ich krytycznej analizy, co jest niezwykle istotne w rozwoju kariery naukowej.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Lidii Fiedorowicz posiada istotną wartość poznawczą i w pełni spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.), a w związku z tym wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów postępowania doktorskiego. Doceniając wysoki poziom merytoryczny oraz oryginalność przedstawionej rozprawy, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Medycznej PAN w Łodzi o wyróżnienie niniejszej dysertacji, co będzie adekwatnym uznaniem dla znaczącego wkładu naukowego Autorki.

KATEDRA IMMUNOLOGII
I BIOLOGII INFEKCYJNEJ UŁ



dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. UŁ

.....
dr hab. Magdalena Druszczyńska, prof. UŁ