

Prof. dr hab. Mieczysława Irena Boguś
Muzeum i Instytut Zoologii PAN
Warszawa

**OCENA
PRACY DOKTORSKIEJ**

mgr Bartłomieja Iwańskiego

pt.: „Wybrane mechanizmy odpowiedzi immunologicznej barciaka większego (*Galleria mellonella*) po podaniu egzotoksyny A *Pseudomonas aeruginosa*”

Gram-ujemna pałeczka ropy błękitnej, *Pseudomonas aeruginosa*, to patogen szczególnie niebezpieczny dla osób o obniżonej odporności. Mechanizmy leżące u podstaw patogeniczności tej lekoopornej, oportunistycznej bakterii, występującej w glebie, zbiornikach wody i na roślinach, można tanio i bezpiecznie badać z użyciem modeli owadów takich jak larwy mola woskowego *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae). Możliwość hodowania tego owada w temperaturze 37°C oraz wysokie podobieństwo pomiędzy układem immunologicznym owadów a mechanizmami wrodzonej odporności ssaków, jak również brak problemów natury etycznej, sprawiły, że larwy mola woskowego są obecnie powszechnie używane w laboratoriach na całym świecie.

Podjęcie przez Doktoranta badań mających na celu identyfikację roli, jaką podczas zakażenia pełni egzotoksyna A (exoA), główny czynnik wirulencji *P. aeruginosa*, jest w pełni uzasadnione. Prezentowana praca wnosi nowe, ważne informacje dotyczące komórkowej odpowiedzi larw *G. mellonella* na exoA takie jak spadek ilości hemocytów (głównie plazmatocytów i granulocytów) i zmiany morfologiczne wskazujące na indukcję przez exoA śmierci apoptycznej oraz nekrozę hemocytów. Podanie owadom exoA powoduje również upośledzenie odpowiedzi humoralnej w postaci zahamowania aktywności oksydazy fenowej

oraz lizozymu, spadek poziomu apolipoforyny III (apoLp-III) i zmiany w profilu izoform tego białka a także nieobecność w hemolimfie peptydów antymikrobowych.

Zaprezentowane badania zostały bardzo dobrze zaprojektowane i starannie wykonane przy użyciu nowoczesnych technik. Na podkreślenie zasługuje fakt, że dwie prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w czasopiśmie *Journal of Invertebrate Pathology*, które jest obecnie uważane za najlepsze na świecie w tej dyscyplinie.

Recenzowana praca stanowi zbiór trzech opublikowanych prac powiązanych tematycznie. W każdej z tych trzech publikacji mgr Bartłomiej Iwański jest pierwszym oraz korespondencyjnym autorem. Publikacje poprzedzone są zwięzłym wstępem (4 strony), dobrze sformułowaną hipotezą i celem badań oraz omówieniem wyników (10 stron) a także dyskusją (niepełne 6 stron), podsumowaniem z wnioskami (2 strony), cytowaną literaturą (68 pozycji) i streszczeniem w języku polskim i angielskim. W omówieniu wyników, oprócz wyników opublikowanych, znalazły się również wyniki nieopublikowane dotyczące zmian ilościowych i jakościowych izoform apoLp-III w tkankach badanego owada. W rozprawie doktorskiej umieszczone zostały ponadto oświadczenia współautorów każdej z opublikowanych prac wchodzących w skład rozprawy określające indywidualny wkład każdego z nich.

Na szczególne podkreślenie zasługuje znaczny dorobek naukowy Doktoranta w skład, którego wchodzi 4 publikacje z bazy *Journal Citation Reports* o łącznym współczynniku IF równym 10,127 oraz łącznej ilości punktów MEiN równej 470, co jest wynikiem bardzo wysokim, zwłaszcza w przypadku doktorantów. Doktorant wygłosił ponadto 9 referatów o zasięgu krajowym i 2 referaty o zasięgu międzynarodowym oraz był kierownikiem i wykonawcą indywidualnego projektu badawczego przyznanego przez Wydziałową Komisję ds. Badań Naukowych Młodych Pracowników Naukowych i Doktorantów UMCS. Prowadził także działalność popularyzującą naukę w ramach Nocy Biologów i Dni Otwartych UMCS oraz współprowadził zajęcia dydaktyczne.

Oceniając rozprawę przedstawioną mi do recenzji stwierdzam, iż:

- rozprawa została napisana w sposób przejrzysty, zwięzły i zrozumiały,
- szata graficzna rozprawy jest staranna,
- zwięzły wstęp stanowi dobre teoretyczne wprowadzenie do zagadnień będących przedmiotem badań Autora
- zadania jakie sobie postawił Doktorant są jasno sformułowane,

- metody użyte w badaniach (szczegółowo opisane w publikacjach) zostały dobrane w sposób właściwy,
- wyniki nieopublikowanych badań udokumentowane rycinami zostały przedstawione w sposób nie budzący zastrzeżeń,
- w dyskusji Autor umiejętnie i w sposób rzeczowy konfrontuje uzyskane wyniki z danymi dostępnymi w literaturze fachowej,
- piśmiennictwo jest właściwie dobrane i obejmuje aktualną wiedzę dotyczącą poruszanych zagadnień.

W trakcie analizy rozprawy zauważyłam, że pewne jej fragmenty wymagają drobnych korekt:

- Strona 10: „AMPs owadzie wykazują duży stopień homologii ...” zastosowanie skrótu angielskiego APMs w tekście polskim nie brzmi dobrze;
- Strona 16: niezręczność stylistyczna „... hemocyty larw immunizowanych exoA w początkowych czasach (1-8 godz.)...” - nieodparcie nasuwa skojarzenia z dalekimi nauce „czasami ostatecznymi”. Lepiej brzmi „... w początkowej fazie eksperymentu (1-8 godz.)...”;
- Strona 24: „... po immunizacji koronatiną-1...” słowo immunizacja jest w tym przypadku niewłaściwe ponieważ badania koronatyny-1 nie dotyczyły uruchamiania odpowiedzi immunologicznej owadów potraktowanych tym szybko działającym, owadobójczym białkiem, wyizolowanym z grzyba *Conidiobolus coronatus*. Dodanie koronatyny-1 do hodowli *in vitro* hemocytów *G. mellonella* w bardzo krótkim czasie doprowadziło do uszkodzenia i rozpadu komórek. Bardzo niewielka ilość koronatyny-1, jaką udało się wyizolować, nie pozwoliła na przeprowadzenie pogłębionych badań nad wpływem tego białka na układ immunologiczny owadów;
- Strona 25: niezręczność stylistyczna „... exoA ma inny wpływ na różne białka...” . Jeśli Autorowi chodziło o to, że exoA w różny sposób oddziałuje na różne białka hemolimfy to należało to tak właśnie sformułować. Używając słowa „inny” należy doprecyzować na czym ta inność/odmienność polega.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej dysertacji, którą oceniam wysoko. Autor w przedstawionej rozprawie doktorskiej wykazał umiejętność rozwiązywania postawionych zadań naukowych, dobre opanowanie metod badawczych oraz znajomość

piśmiennictwa. Uzyskane przez Doktoranta wyniki stanowią Jego oryginalne osiągnięcia i znacząco poszerzają wiedzę na temat istotnych aspektów oddziaływania *exoA P. aeruginosa* na odpowiedź immunologiczną mola woskowego.

Stwierdzam, że przekazana mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Bartłomieja Iwańskiego pt.: „Wybrane mechanizmy odpowiedzi immunologicznej barciaka większego (*Galleria mellonella*) po podaniu egzotoksyny A *Pseudomonas aeruginosa*” w pełni odpowiada wymaganiom określonym w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym i wnioskuję o dopuszczenie Autora tej rozprawy do dalszych, przewidzianych ustawą, etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuję jednocześnie o wyróżnienie nagrodą Autora powyższej rozprawy doktorskiej.

Warszawa, 31.08.2023

Prof. dr hab. Mieczysława Irena Boguś