



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

Kraków, dn. 16 sierpnia 2024 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Łukasza Suprewicza  
pt. „Immunoprotekcyjne właściwości ludzkiej gelsoliny osoczowej w  
zakażeniach grzybiczych”**

*Promotor:* **prof. dr hab. n. med. Robert Bucki**

*Promotor pomocniczy:* **dr hab. n. med. Ewelina Piktel**

Przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr Łukasza Suprewicza jest ocena wpływu ludzkiej gelsoliny osoczowej na wrodzoną odpowiedź immunologiczną. Gelsolina dzięki swoim właściwościom immunomodulującym i przeciwzapalnym, może odgrywać kluczową rolę w ograniczaniu uszkodzeń tkanek spowodowanych przez nadmierną odpowiedź immunologiczną, typową dla ciężkich przypadków COVID-19 oraz zakażeń *Candida auris*. W ramach rozprawy doktorskiej zbadano mechanizm działania gelsoliny na poziomie molekularnym oraz jej właściwości przeciwzapalne w stosunku do neutrofilów i komórek śródbłonna, a także protekcyjne działanie w stosunku do komórek tworzących barierę krew-mózg poddanych działaniu białka S1 wirusa SARS-CoV-2.

Z uwagi na narastający problem zakażeń grzybiczych, szczególnie tych spowodowanych przez lekooporny gatunek *Candida auris*, który charakteryzuje się zdolnością do unikania odpowiedzi immunologicznej, a także w kontekście pandemii COVID-19, w czasie której odnotowano wzrost zakażeń grzybiczych, podjęty temat pracy doktorskiej jest aktualny i bardzo istotny. W obliczu nowych wyzwań terapeutycznych, które stanowią ważne zadania dla zdrowia publicznego, istnieje potrzeba opracowania nowych, skutecznych terapii przeciwgrzybiczych i przeciwwirusowych. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wnosi istotny wkład w to zagadnienie. Przedstawione w pracy badania wpisują się w tematykę z dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

**CHARAKTERYSTYKA FORMALNA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

Rozprawa doktorska mgr Łukasza Suprewicza stanowi spójny tematycznie cykl trzech publikacji, na który składają się jedna praca przeglądowa i dwie prace oryginalne, o łącznej wartości Impact Factor równej 15,9 oraz łącznej liczbie punktów MEiN wynoszącej 340.

Wykaz prac stanowiących cykl do rozprawy doktorskiej:



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

Praca przeglądowa

- Publikacja nr 1

Suprewicz, Ł., Fiedoruk, K., Czarnowska, A., Sadowski, M., Strzelecka, A., Galie, P.A., Janmey, P.A., Kułakowska, A., Bucki, R. Blood-brain barrier function in response to SARS-CoV-2 and its spike protein. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, 2023: 57, 1, s. 14-25. DOI: 0.5603/PJNNS.a2023.0014; IF: 2,9 MEiN: 140 pkt.

Prace oryginalne

- Publikacja nr 2

Suprewicz, Ł., Skłodowski, K., Walewska, A., Deptuła, P., Sadzyńska, A., Eljaszewicz, A., Moniuszko, M., Janmey, P.A., Bucki, R. Plasma Gelsolin Enhances Phagocytosis of *Candida auris* by Human Neutrophils through Scavenger Receptor Class B. *Microbiology Spectrum*, 2023: 11, 2, 13 pp. DOI: 10.1128/spectrum.04082-22; IF: 3,7 MEiN: 100 pkt.

- Publikacja nr 3

Suprewicz, Ł., Tran, K.A., Piktel, E., Fiedoruk, K., Janmey, P.A., Galie, P.A., Bucki, R. Recombinant human plasma gelsolin reverses increased permeability of the blood–brain barrier induced by the spike protein of the SARS-CoV-2 virus. *Journal of Neuroinflammation*, 2022: 19, 16 pp. DOI: 10.1186/s12974-022-02642-4; IF: 9,3 MEiN: 100 pkt.

Analiza charakteru udziału Doktoranta w prace wchodzące w skład cyku, przeprowadzona na podstawie dołączonych oświadczeń Autora rozprawy doktorskiej, wskazuje na Jego znaczący udział w ich przygotowaniu. Doktorant był zaangażowany m.in. w współtworzenie koncepcji prac, zebranie i przegląd piśmiennictwa, przeprowadzenie części eksperymentalnej, analizę, interpretację i graficzną prezentację danych oraz redakcję manuskryptów.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska liczy 112 stron i składa się z następujących części: spisu treści, wykazu publikacji wchodzących w skład cyklu, wykazu skrótów, wprowadzenia, omówienia prac składających się na rozprawę doktorską, wyników, wniosków, piśmiennictwa, trzech publikacji stanowiących cykl, streszczenia w języku polskim i angielskim, oświadczenia autora, oświadczeń współautorów, uchwały Komisji Bioetycznej oraz dodatkowo wykazu dorobku naukowego Doktoranta. Rozprawa doktorska napisana jest poprawnym językiem polskim, bez istotnych błędów stylistycznych, czy interpunkcyjnych.

CHARAKTERYSTYKA MERYTORYCZNA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

**Wprowadzenie** do pracy liczące 10 stron przygotowane zostało w oparciu o obszerne przedstawienie literatury przedmiotu (84 pozycje piśmiennictwa głównie z ostatnich 10 lat).

Katedra Mikrobiologii

31-121 Kraków, ul. Czysta 18, tel. +48 12 633 25 67, faks +48 12 423 39 24

[www.km.cm-uj.krakow.pl](http://www.km.cm-uj.krakow.pl)



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

W ramach wprowadzenia Doktorant scharakteryzował gelsolinę osoczną, omówił potencjał diagnostyczny hipogelsolinemii, przedstawił wyzwania i perspektywy w zwalczaniu zakażeń grzybiczych, scharakteryzował gatunek *Candida auris*, opisał zakażenia grzybicze w przebiegu COVID-19, przybliżył możliwości wykorzystania gelsoliny osoczowej w praktyce klinicznej w tym w pozaszpitalnym zapaleniu płuc oraz leczeniu ciężkiego zapalenia płuc wywołanego przez COVID-19. Wprowadzenie zostało wzbogacone ryciną prezentującą różnorodne funkcje gelsoliny osoczowej w organizmie człowieka oraz tabelą przedstawiającą jednostki chorobowe, w których dochodzi do hipogelsolinemii i zmian stężenia we krwi innych markerów chorobowych. Analiza wstępu i cytowanego piśmiennictwa wskazuje na bardzo dobrą i ugruntowaną wiedzę Doktoranta.

W świetle przedstawionych we wprowadzeniu do pracy problemów, Doktorant postawił sobie za **cel główny** zbadanie funkcji, jaką pełni pGSN w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej podczas zakażeń grzybiczych. W związku z pandemią COVID-19 i związanego z nią silnego, ogólnoustrojowego procesu zapalnego oraz zauważalnego wzrostu zakażeń grzybiczych w obrębie OUN  **dodatkowym celem była** ocena roli pGSN jako potencjalnego czynnika przeciwzapalnego w odpowiedzi na uszkodzenie komórek endotelialnych tworzących barierę krew-mózg wywołane przez białko S1 wirusa SARS-CoV-2. Uwzględniając powyższe, sformułowano  **trzy cele szczegółowe** zakładające: (1) ocenę wpływu pGSN na procesy fagocytozy oraz generowanie zewnątrzkomórkowych pułapek neutrofilowych (NET) w odpowiedzi na obecność drożdżaków; (2) identyfikację molekularnych mechanizmów przeciwzapalnego działania pGSN w stosunku do neutrofilów i komórek śródbłonna poddanych działaniu mediatorów zapalnych; (3) ocenę przeciwzapalnego działania pGSN z wykorzystaniem modeli 2D oraz 3D bariery krew-mózg w odpowiedzi na działanie białka S wirusa SARS-CoV-2.

Rozdział  **materiały i metody badawcze** liczy 5 stron i przedstawia skrótowe omówienie materiałów i metod wykorzystanych w ramach dwóch prac oryginalnych wchodzących w skład cyklu. Szczegółowy opis metodyki badań w zastosowanych modelach eksperymentalnych został zawarty w dołączonych do rozprawy publikacjach i wskazuje na duży warsztat naukowy Doktoranta. Skrótowe przedstawienie tego rozdziału w recenzowanej rozprawie doktorskiej w mojej ocenie jest przejrzyste i wystarczające.

Rozdział  **wyniki** liczy 6 stron i jest skrótowym omówieniem wyników badań opisanych w dwóch pracach oryginalnych wchodzących w skład cyklu. Rozdział ten podzielono na



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

podrozdziały wskazując na konkretne wyniki działania gelsoliny na badane komórki, w tym: (1) pGSN nasila fagocytozę i wewnątrzkomórkowe zabijanie komórek *C. auris* przez ludzkie neutrofile; (2) pGSN hamuje wydzielanie NETów przez neutrofile; (3) pGSN zmniejsza proces zapalny wywołany przez *C. auris*; (4) receptory klasy B typu „scavenger” jako cel dla pGSN na ludzkich neutrofilach; (5) pGSN hamuje wzrost przepuszczalności BBB indukowany przez białko S1 SARS-CoV-2; (6) pGSN odwraca hamowanie migracji komórek hCMEC/D3 wywołane przez białko S1; (7) pGSN redukuje sekrecję cytokin prozapalnych wywołaną przez białko S1 SARS-CoV-2 na wczesnym etapie stymulacji komórek; (8) pGSN zapobiega inhibicji ekspresji białek tworzących ścisłe połączenia międzykomórkowe wywoływanej przez białko S1 SARS-CoV-2; (9) pGSN ogranicza aktywację NF-κB wyzwalaną przez białko S1 w komórkach śródbłonna. Zastosowane tytuły podrozdziałów w zakresie edycji nie są typowym układem dla podobnych opracowań.

W rozdziale wyniki nie zamieszczono omawianych rycin. Ryciny zostały zacytowane w tekście rozdziału, natomiast czytający jest odsyłany do dołączonych w kolejnej części rozprawy publikacji. W tak przedstawionym opracowaniu istnieje pewna trudność w analizie i poszukiwaniu wskazanych rycin. Jednakże zabieg ten umożliwia skrótowe i zwarte omówienie wyników, szczególnie w sytuacji bardzo licznych i złożonych rycin zawartych w publikacjach wchodzących w skład cyklu, i z tego względu wydaje się ciekawym rozwiązaniem w tego typu opracowaniach.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska nie zawiera rozdziału **dyskusja**, którego w mojej ocenie brakuje. Rozdział, ten mimo zamieszczonych prac oryginalnych, które zawierają dyskusje wyników w nich opisanych, byłby cennym dodatkiem do rozprawy doktorskiej, przedstawiając pełne omówienia uzyskanych wyników w świetle aktualnego piśmiennictwa.

Dysertację doktorską kończy rozdział prezentujący cztery **wnioski** wyciągnięte na podstawie przeprowadzonych analiz: (1) Gelsolina osoczowa wykazuje działanie immunomodulujące wobec ludzkich neutrofilów - pobudza fagocytozę i hamuje NETozę; (2) Pobudzanie fagocytozy w ludzkich neutrofilach zależy od stymulowanego przez gelsolinę osoczną wzrostu ekspresji receptorów „scavengerowych” klasy B; (3) Gelsolina osoczowa zmniejsza wydzielanie cytokin i chemokin prozapalnych przez ludzkie neutrofile w odpowiedzi na *Candida auris*; (4) Gelsolina osoczowa ogranicza zwiększoną przepuszczalność bariery krew-mózg indukowaną przez białko S1 poprzez zmniejszenie wydzielania cytokin prozapalnych, hamowanie aktywacji czynnika transkrypcji NF-κB, zmniejszenie degradacji białek tworzących ścisłe połączenia



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI  
COLLEGIUM MEDICUM  
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

międzykomórkowe oraz stymulację migracji komórek. Wnioski zostały wyciągnięte w sposób zwięzły i poprawny, wskazując na dojrzałość naukową Doktoranta.

Podsumowując Mgr Łukasz Suprewicz zrealizował wszystkie założone cele badawcze, uzyskując wyniki o ogromnym znaczeniu naukowym i praktycznym. Wyniki badań wskazały po raz pierwszy, że gelsolina osoczowa wykazuje działanie immunomodulujące stymulując ekspresję receptorów „scavengerowych” typu I klasy B na powierzchni ludzkich neutrofilów, co skutkuje pobudzeniem fagocytozy. Ponadto zaobserwowano, że pGSN zmniejsza stan zapalny, hamując wydzielanie cytokin i chemokin o działaniu prozapalnym, ograniczając wytwarzanie zewnątrzkomórkowych pułapek neutrofilowych, a także zmniejszając zwiększoną przepuszczalność bariery krew-mózg, wywołaną przez białko S1 wirusa SARS-CoV-2. Otrzymane wyniki wskazują na nowy molekularny mechanizm działania gelsoliny i podkreślają jej potencjalne zastosowanie w opracowaniu nowych metod terapii przeciwwirusowych i przeciwgrzybiczych. Obserwacje te są szczególnie ważne w dobie narastających problemów z zakażeniami grzybami lekoopornymi *C. auris*, czy nowymi wirusami o potencjale pandemicznym.

**Biorąc pod uwagę powyższe, stwierdzam że, rozprawa doktorska mgr Łukasza Suprewicza spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2023 poz. 742) i na tej podstawie wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Pana mgr Łukasza Suprewicza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

**Jednocześnie, z uwagi na wysokie walory naukowe i aplikacyjne pracy, wagę podjętego tematu oraz fakt, iż wyniki rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w czasopiśmie zagranicznych o wysokim współczynniku oddziaływania, składam wniosek do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o wyróżnienie przedłożonej do recenzji rozprawy.**

Prof. dr hab. n. med. Monika Brzychczy-Włoch

Katedra Mikrobiologii

31-121 Kraków, ul. Czysta 18, tel. +48 12 633 25 67, faks +48 12 423 39 24

[www.km.cm-uj.krakow.pl](http://www.km.cm-uj.krakow.pl)