



UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU

II Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy

ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok

tel. 85 831 6501, fax 85 831 6522

e-mail: lung@umb.edu.pl

Prof. dr hab. med. Robert M. Mróz
Kierownik II Kliniki Chorób Płuc i Gruźlicy
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, dnia 30.06.2022



**Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym
dr n. med. Patrycji Nejman-Gryz**

Tytuł osiągnięcia naukowego:

**“Udział aktywnych biologicznie substancji pochodzenia nabłonkowego w patofizjologii
zapalenia dróg oddechowych u chorych z obturacyjnymi chorobami układu
oddechowego”**

Dane o Kandydatce

Dr n. med. Patrycja Nejman-Gryz uzyskała VII.2000 – dyplom magistra biologii, na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w lipcu 2000 roku, stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, nadany uchwałą Rady I Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie uzyskała w marcu 2005 roku na podstawie rozprawy doktorskiej: „Wpływ inhibitora fosfodiesterazy IV na przebieg doświadczalnej astmy atopowej – badania na modelu świnki morskiej”. Promotorem w przewodzie doktorskim była dr hab. Hanna Grubek-Jaworska.

Od sierpnia 2004 roku do września 2011 zatrudniona była jako starszy asystent w Klinice Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, w Samodzielnym Publicznym Centralnym Szpitalu Klinicznym w Warszawie, a od września tego roku do chwili obecnej zatrudniona jest tam jako adiunkt.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego dr Patrycja Nejman-Gryz zgłosiła cykl 7 oryginalnych publikacji pełnotekstowych, które ukazały się w latach 2017-2021 w czasopismach zagranicznych (Cytokine, Journal of Clinical Medicine, Journal of Asthma, Advances in Experimental Medicine and Biology, COPD Journal of Chronic Obstructive, Pulmonary Disease, Cells). Cykl zgłoszony jako osiągnięcie naukowe został zatytułowany: "Udział aktywnych biologicznie substancji pochodzenia nabłonkowego w patofizjologii zapalenia dróg oddechowych u chorych z obturacyjnymi chorobami układu oddechowego". Łączny współczynnik oddziaływania (impact factor) publikacji w nim zawartych wynosi IF 18,409, w tym jako pierwszy lub korespondencyjny autor 14,043. Łączna punktacja MEiN 520+25+30.

Wszystkie załączone prace koncentrują się na zagadnieniach roli cytokin produkowanych przez komórki nabłonka dróg oddechowych w patofizjologii obturacyjnych chorób układu oddechowego i co podkreśla habilitantka w autoreferacie: *„Przeprowadzone badania pozostają w ścisłym związku z moimi obecnymi i wcześniejszymi zainteresowaniami naukowymi koncentrującymi się wokół immunologicznego podłoża mechanizmów odgrywających rolę w patogenezie astmy i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POCHP)”*.

W pierwszej, dzięki zastosowaniu indukowanej płwociny podjęto próbę określenia ekspresji podjednostki IL17RA na makrofagach typu M2 (CD206+) u pacjentów z astmą w porównaniu do osób zdrowych. W preparatach cytologicznych mikroskopowo oceniono udział poszczególnych typów komórek napływowych (makrofagów, neutrofilów, eozynofilów i limfocytów), a także wykonano barwienie immunofluorescencyjne w celu oceny ekspresji receptorów dla IL17RA i CD206. Ponadto immunoenzymatycznie oznaczono stężenia IL-25 oraz IL-17A w supernatantach płwocin.

Według Habilitantki, fakt że w grupie chorych na astmę z atopią stwierdzono podwyższoną liczbą makrofagów typu M2 z ekspresją receptora IL17RA i znacznie wyższe stężenia IL-25, bez jednoczesnej ekspresji IL17RA u osób zdrowych, brak wpływu leczenia steroidami lub preparatami anti-IgE na stężenia IL-25 czy IL-13 w płwocinie, podwyższony poziom IL-17A, u chorych, leczonych omalizumabem wskazywać może na rolę makrofagów typu M2 CD206+ jako komórek efektorowych dla receptora IL17RA u chorych na astmę oskrzelową. Według autorów pracy może to mieć związek z Th2 zależnym środowiskiem oraz

z podwyższonym stężeniem IL-13 i IL-25 i eozynofilów w drogach oddechowych osób chorych na astmę.

W kolejnej, drugiej pracy podjęto próbę określenia potencjalnego związku pomiędzy periostiną a TSLP w przebiegu odpowiedzi typu Th2 w obturacyjnych chorobach płuc. Określono stężenia periostiny i TSLP w surowicy krwi oraz płwocinie indukowanej pacjentów z astmą i POChP w odniesieniu do grupy kontrolnej; oznaczono ekspresję obu markerów na poziomie mRNA w osadzie z płwociny indukowanej.

Habilitantka stwierdziła statystycznie wyższe stężenia periostiny i TSLP zarówno na poziomie białka jak i mRNA w indukowanej płwocinie chorych na astmę w stosunku do chorych na POChP i kontroli. Poziom białka obu markerów korelował dodatnio z liczbą eozynofilów w płwocinie i stężeniami IL-4 i IL-13. Dodatkowo stężenie periostiny silnie pozytywnie korelowało ze stężeniem TSLP na poziomie białka i mRNA u chorych na astmę oskrzelową. W tej grupie, u większości chorych eozynofilia w płwocinie współwystępowała z podwyższonymi poziomami periostiny i TSLP. Wysokie stężenia całkowitego IgE i eozynofili zarówno we krwi, jak i w płwocinie, również charakteryzowała chorych na astmę..

Według autorów periostina i TSLP mogą być ważnymi składnikami patofizjologii astmy atopowej. To kolejne dane potwierdzające przydatność periostiny jako biomarkera eozynofilowego zapalenia dróg oddechowych Th2 w przebiegu astmy.

Zagadnienie periostiny jako biomarkera astmy oskrzelowej było również tematem publikacji nr 3. W prospektywnym badaniu nie wykazano istotnej różnicy między stężeniami periostiny w kondensacie wydychanego powietrza u dzieci z astmą, zarówno z astmą typu Th2 jak i w innych typach astmy. Stężenia periostiny w surowicy ujemnie korelowało z BMI i wiekiem w obu grupach: badanej i kontrolnej. Badacze wychodząc z założenia, że u dzieci z łagodną astmą ani EBC, ani surowica nie są odpowiednim materiałem do pomiaru stężenia periostiny w kontekście rodzaju zapalenia w drogach oddechowych, w oparciu o dodatkowe badania najwyższe poziomy periostiny stwierdzili u chorych z jednocześnie wysoką eozynofilią i wysokim poziomem FeNO.

Kolejne prace dotyczą udziału TSLP, IL-33, IL6 i IL-17A w patogenezie astmy i POChP.

Celem prac było kolejno:

- Ocena ekspresji receptorów dla TSLP (TSLPR) i dla IL-33 (ST2 receptor) na makrofagach typu M2 pochodzących z płwociny indukowanej u chorych na astmę, w oparciu o metodę immunofluorescencji z użyciem przeciwciał dla CD206 (marker dla makrofagów typu M2) oraz przeciwciał dla TSLPR i ST2 (Praca Nr 4).

- oznaczenie stężeń TSLP w różnych materiałach (surowica krwi, płwocina indukowana, kondensat powietrza wydychanego) u chorych na astmę i POChP przy użyciu dwóch różnych zestawów ELISA (Praca Nr 5)

- ocena ekspresji IL-33 w błonie śluzowej oskrzeli pacjentów z astmą i POChP w porównaniu do stężeń IL-33 i ekspresji mRNA w różnych próbkach z dróg oddechowych (Praca Nr 6).

- zbadanie potencjalnego wpływu interakcji między nabłonkiem a makrofagami na ekspresję TSLP, IL-33 i IL-17A poprzez komórki dendrytyczne w astmie i POChP (Praca Nr 7).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono:

- Podwyższoną ekspresję receptorów dla TSLP i IL-33 na makrofagach typu M2 i zwiększoną ekspresję receptora dla TSLP na makrofagach typu M1 u chorych na astmę oskrzelową. Wyższa ekspresja obu badanych receptorów korelowała z dłuższym czasem trwania choroby i upośledzeniem funkcji płuc. Ponadto podwyższona liczba makrofagów typu M1 z jednoczesną ekspresją TSLPR pozytywnie korelowały ze stężeniem całkowitego IgE u pacjentów atopowych (Praca Nr 4).

- Istotne różnice poziomu TSLP w tej samej próbce biologicznej w zależności od zestawu ELISA użytego do pomiaru, nawet do 50-krotnej wartości. Największe różnice stwierdzono dla surowicy i płwociny, wartości stężeń TSLP w kondensacie nie odbiegały od siebie znacznie (Praca Nr 5).

- Wykrywalność IL-33 w surowicy, IS i EBC nie tylko u chorych na astmę, ale również u chorych na POChP. Najwyższe stężenia IL-6 i IL-33 stwierdzono w płwocinie indukowanej w obu grupach chorych. Stężenia IL-33 na poziomie białka i mRNA były dużo niższe od stężeń IL-6. Poziomy, jak również stopień ekspresji tkankowej IL-6 w próbkach błony śluzowej oskrzeli były statystycznie wyższe u chorych na POChP w stosunku do pozostałych grup badanych. Natomiast, ekspresja IL-33 w próbkach z oskrzeli była wysoka zarówno w astmie

jak i w POChP. Poziomem IL-6 w płwocinie korelował dodatnio z liczbą paczkołat chorych na POChP (Praca Nr. 6)

- Zwiększoną ekspresję mRNA dla TSLP w kokulturze nabłonka i makrofagów w grupie astmatyków oraz w mniejszym stopniu mRNA dla IL-33 i IL-17A. Wykazano istotne różnice w ekspresji mRNA badanych cytokin między obturacyjnymi chorobami płuc a grupą kontrolną oraz między astmą a POChP. Najwyższą ekspresję mRNA dla TSLP i największą liczbę receptorów dla TSLP, IL-33 i IL-17A stwierdzono w komórkach dendrytycznych pochodzących od chorych na astmę oskrzelową. Zmian ekspresji mRNA dla TSLP, IL-33, ani IL-17A nie potwierdzono w przypadku chorych na POChP. W tej grupie chorych stwierdzono podwyższoną liczbę receptorów dla TSLP i IL-17A na komórkach dendrytycznych (Praca Nr. 7).

We wnioskach sformułowanych na podstawie powyższych prac Habilitanka i współautorzy podnosząc fakt pionierskiego charakteru badań konkludują:

– w pracy oceniającej związek pomiędzy alarminami nabłonkowymi a makrofagami oskrzelowymi (Praca Nr 4):

1. ekspozycja czasowa na cytokiny wydzielane miejscowo w drogach oddechowych jest jednym z czynników wpływających na status polaryzacji makrofagów,
2. w patofizjologii astmy zarówno makrofagi CD206 dodatnie, jak i CD206 ujemne (typu M2 bądź M1) są zdolne do odpowiedzi do TSLP

- w badaniu porównującym tkankową ekspresję IL-33 w ścianach oskrzeli ze stężeniami IL-33 w kondensacie i płwocinie chorych na POChP (Praca Nr 6):

1. aktywacja IL-33 odgrywa ważną rolę w patomechanizmach zarówno astmy jak i POChP.

- w badaniu oceniającym wpływ interakcji między komórkami dendrytycznymi i komórkami nabłonka hodowanymi wspólnie z makrofagami na ekspresję TSLP, IL-33 i IL-17A w przebiegu astmy i POChP (Praca Nr 7):

1. Odmienne regulacja funkcji komórek dendrytycznych w obturacyjnych chorobach płuc może być związana ze złożonymi interakcjami komórka-komórka, ze szczególnym uwzględnieniem dysfunkcji nabłonka dróg oddechowych.

2. Możliwy jest związek pomiędzy funkcjami komórek dendrytycznych a szlakiem IL-17A, a komórki te mogą być potencjalnym źródłem TSLP i IL-33 w drogach oddechowych.

3. U pacjentów chorych na astmę kokultura komórek dendrytycznych z komórkami nabłonka i makrofagami charakteryzuje się podwyższoną ekspresją mRNA dla TSLP.

4. Komórki dendrytyczne pacjentów z astmą i POChP różnią się wzorem odpowiedzi immunologicznej i interakcjami z komórkami strukturalnymi.

- W pracy metodologicznej Habilitantka wskazuje na ważne aspekty odnośnie doboru metod do badania a także daje istotne wskazówki odnośnie potencjalnego porównywania wyników badań prowadzonych przy użyciu różnych testów (Praca Nr. 5)

Poza pracami stanowiącymi podstawę habilitacyjnego osiągnięcia naukowego w dorobku Habilitantki znajdują się głównie prace dotyczące aspektów mechanizmów immunologicznego podłoża chorób obturacyjnych: astmy i POChP z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, indukowanej płwociny, płukania oskrzelowo-pęcherzykowego.

Habilitantka brała udział licznych projektach naukowych:

1. „Badanie aparatu fotosyntetycznego roślin wyższych”
2. „Oddziaływanie nanostruktur węglowych na układ oddechowy w warunkach *in vivo*”
3. „Poszukiwanie immunologicznych markerów korelujących z nadreaktywnością oskrzeli w obturacyjnych chorobach płuc” – kierownik projektu
4. „Ocena przydatności molekularnej metody identyfikacji gatunku prątków, GenoType Mycobacterium CM/AS (HAIN, Germany) do różnicowej diagnostyki gruźlicy i mykobakterioz”
5. „The relationship between the expression of eotaxin (CCL11, CCL24, CCL26) in the mucosa of the nose and airways eosinophilia during certain allergic and nonallergic diseases of the lung”;

6. "Participation of TSLP, IL-33 and IL-25 in the interactions between respiratory epithelial cells, dendritic cells and macrophages in obstructive respiratory diseases"
7. „Opracowanie kandydata na lek „first in class” w terapii idiopatycznego włóknienia płuc w oparciu o substancje czynne blokujące chitotriozydazę”

Kandydatka posiada doświadczenie dydaktyczne uzyskane podczas wieloletniego nauczania studentów I i II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w zakresie chorób płuc od 2011 roku, a także prowadzenia zajęć fakultatywnych dla studentów kierunku lekarskiego I Wydziału Lekarskiego WUM.

Jest laureatem nagród Rektora Uniwersytetu Medycznego w Warszawie/ Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Dorobek własny dr Nejman-Gryz oceniany według parametrów naukowo-metrycznych i merytorycznych jest bogaty i cenny. Uważam, że Kandydatka w pełni udokumentowała swoją dojrzałość jako samodzielny pracownik naukowy.

Reasumując moja ocena wniosku dr Patrycji Nejman-Gryz jest **pozytywna**.

Uważam, że zgromadzony przez nią dorobek jak i przedstawiony cykl publikacji zgłoszony jako osiągnięcie naukowe **odpowiadają** wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z póź. zm.)¹,

Prof. dr hab. med. Robert M. Mróz