

Warszawa, dnia 25.05.2022

RECENZJA

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne Tomasza Macieja Grzywy pt. „Zbadanie roli komórek erytroidalnych wykazujących ekspresję cząsteczki CD71 (CECs) w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Jakuba Gołąba

Recenzowana rozprawa doktorska stanowi cykl trzech publikacji zawierający jedną pracę oryginalną opublikowaną w *Communications Biology* (2021) i dwie prace przeglądowe opublikowane w *Pharmacology & Therapeutics* (2021) oraz *Cancers* (2021), w którym Doktorant podjął się oceny roli komórek erytroidalnych wykazujących ekspresję cząsteczki CD71 (CECs) w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego. Łączny współczynnik oddziaływania (*impact factor*, IF) prac wchodzących w skład cyklu publikacji wynosi 25,217, a liczba punktów MEiN 360.

Głównymi celami pracy była ocena roli komórek CEC w regulacji odpowiedzi immunologicznej oraz określenie czy immunoregulatorowe właściwości komórek CEC zmieniają się w trakcie dojrzewania komórek erytroidalnych. Szczegółowe cele pracy obejmowały ocenę wpływu ostrej niedokrwistości niehemolitycznej na odpowiedź układu odpornościowego, w tym właściwości immunoregulatorowych mysich komórek CEC indukowanych niedokrwistością, określenie aktywności arginazy 1 (ARG1), ARG2 oraz reaktywnych form tlenu (RFT) w mysich komórkach CEC indukowanych niedokrwistością i ich udziału w regulacji odpowiedzi immunologicznej, określenie zmian w ekspresji ARG1, ARG2 oraz RFT w mysich komórkach CEC znajdujących się w różnych stadiach dojrzewania. Doktorant oceniał ponadto właściwości immunoregulatorowe ludzkich komórek CEC indukowanych niedokrwistością oraz ludzkich komórek CEC ze szpiku kostnego, określał rolę ARG oraz RFT w regulacji odpowiedzi immunologicznej przez ludzkie komórki CEC oraz badał zmiany w ekspresji ARG1 i ARG2 oraz właściwości immunoregulatorowe ludzkich komórek CEC znajdujących się w różnych stadiach dojrzewania. Wszystkie założone cele pracy Doktorant zrealizował w oparciu o nowoczesne i doskonale dobrane techniki genetyczne i immunologiczne szczegółowo opisane w publikacji w *Communications Biology* (2021). Uzyskane wyniki badań zostały udokumentowane licznymi rycinami.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki wskazują na istotną rolę mysich i ludzkich komórek CEC w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego poprzez wpływ na supresję limfocytów T, niezależnie od czynnika indukującego ekspansję komórek CEC. Doktorant wykazał, że komórki CEC ulegają ekspansji w śledzionach myszy z niedokrwistością, a mysie komórki CEC indukowane niedokrwistością hamują aktywację i proliferację limfocytów w mechanizmie zależnym od ARG i RFT prowadząc do upośledzenia odpowiedzi T-komórkowej. Doktorant udowodnił ponadto, że mysie komórki CEC charakteryzują się wysoką aktywnością ARG2 i RFT, a niską ARG1, a aktywność ARG1, ARG2 i RFT jest najwyższa w komórkach CEC znajdujących się na wczesnych stadiach dojrzewania, a następnie ulega obniżeniu w trakcie dalszego różnicowania erytroidalnego. W odniesieniu do ludzkich komórek CEC Doktorant zaobserwował, że u chorych z niedokrwistością komórki CEC ulegają ekspansji prowadząc do upośledzenia produkcji IFN- γ przez limfocyty T, a komórki CEC izolowane ze szpiku kostnego zdrowych dawców hamują proliferację limfocytów T. W badaniach na ludzkich modelowych liniach erytroidalnych wykazano, że komórki te hamują proliferację limfocytów T w mechanizmie zależnym od ARG i RFT, a ludzkie komórki CEC różnicowane z PBMCs hamują aktywację, produkcję IFN- γ oraz proliferację limfocytów T w mechanizmie zależnym od ARG i RFT. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorant jako pierwszy opisał wpływ ostrej niedokrwistości na odpowiedź immunologiczną w mysim modelu, rolę i mechanizmy komórek CEC indukowanych niedokrwistością w regulacji odpowiedzi immunologicznej oraz wykazał, że właściwości immunoregulatorowe komórek CEC ulegają zmianom w trakcie ich różnicowania i są najsilniejsze w komórkach CEC znajdujących się we wczesnych stadiach dojrzewania. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki mogą mieć w przyszłości ważne implikacje kliniczne poprzez zastosowanie strategii modulujących powstawanie i dojrzewanie komórek CEC i w konsekwencji wpływ na ich mechanizmy immunoregulatorowe.

Na cykl publikacji składają się również dwie prace przeglądowe, w których Doktorant wykazał się szeroką wiedzą teoretyczną z zakresu przedmiotu pracy. W publikacji pt. „*The role of CD71+ erythroid cells in the regulation of the immune response*” (*Pharmacology & Therapeutics* 2021) opisano rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi układu odpornościowego w warunkach fizjologicznych i patologicznych u myszy i ludzi oraz mechanizmy regulacji odpowiedzi odpornościowej przez komórki CEC, w tym hydrolizę L-argininy przez arginazę (ARG), wytwarzanie transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β), regulację przez cząsteczki tworzące tak zwane punkty kontroli układu odpornościowego, wydzielanie immunomodulujących cytokin oraz wytwarzanie RFT. Z kolei w pracy pt.

„*Tumor Immune Evasion Induced by Dysregulation of Erythroid Progenitor Cells Development*” (*Cancers* 2021) Doktorant przeanalizował zaburzenia w procesie powstawania oraz różnicowania komórek CEC w różnych typach nowotworów, opisał rolę komórek CEC w procesach immunoregulacji oraz porównał ich funkcje z innymi z komórkami supresorowymi pochodzenia szpikowego (*myeloid-derived suppressor cells*, MDSCs) i limfocytami T regulatorowymi. Doktorant przedyskutował również rolę komórek CEC w regulacji odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz systemowej odpowiedzi odpornościowej u chorych na nowotwory.

Reasumując uważam, że rozprawa doktorska Tomasza Macieja Grzywy spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). Doktorant zrealizował założone cele pracy. Praca ma szereg aspektów poznawczych i może mieć ważne implikacje kliniczne, jak również stanowi podstawę do dalszych badań. Jestem przekonana, że praca doktorska Tomasza Grzywy stanowi samodzielne rozwiązanie przez Niego ważnego problemu naukowego. Doktorant przy realizacji pracy wykazał się nie tylko znajomością wielu technik badawczych z zakresu immunologii i biologii molekularnej, ale również szeroką wiedzą teoretyczną z zakresu przedmiotu pracy, co odzwierciedlają Jego dwie publikacje przeglądowe w czasopiśmie *Pharmacology & Therapeutics* (2021) oraz *Cancers* (2021). Na podstawie powyższych argumentów mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego recenzję pracy i prosić Wysoką Radę o dopuszczenie Tomasza Macieja Grzywy do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Z uwagi na fakt, że wyniki oryginalnych badań Doktoranta zostały po raz pierwszy opisane w literaturze medycznej i opublikowane w renomowanym czasopiśmie *Communications Biology* (2021) wnioskuję o wyróżnienie przedstawionej pracy doktorskiej.