



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Dr hab. Dorota Wojnicz
Katedra i Zakład Biologii
i Parazytologii Lekarskiej
Uniwersytetu Medycznego
we Wrocławiu

Wrocław, 18.09.2018

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Agaty Zerki

pt. „Badanie swoistości rekombinowanych ligandów EBA merozoitów zarodźca
Plasmodium”

wykonanej w Laboratorium Glikobiologii Zakładu Immunochemii

Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

promotor: dr hab. Ewa Jaśkiewicz

Recenzję przygotowano na zlecenie Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu zgodnie z uchwałą nr 52/2018 Rady Naukowej Instytutu podjętą w dniu 07.12.2017 r.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska stanowi spójny tematycznie cykl pięciu publikacji dotyczących kluczowego etapu rozwoju *Plasmodium* spp., w którym dochodzi do inwazji erytrocytów przez merozoity zarodźca. W etapie tym istotną rolę odgrywają białkowe ligandy merozoitów, które rozpoznają swoje receptory na powierzchni krwinek czerwonych gospodarza. Doktorantka w swoich badaniach skoncentrowała się na charakterystyce liganda EBA-140, jego właściwościach immunogennych i antygenowych. Uważam, że otrzymane wyniki znacząco uzupełnią wiedzę na temat specyficznych oddziaływań między pasożytem, a jego gospodarzem.

W skład cyklu wchodzi następujące publikacje:

1. **Zerka A**, Kaczmarek R, Jaśkiewicz E. Ewolucja *Plasmodium falciparum* – z punktu widzenia zarodźca malarii. Postepy Hig. Med. Dosw. 2015; 69:1519-1529.
2. **Zerka A**, Rydzak J, Lass A, Szostakowska B, Nahorski W, Wroczyńska A, Myjak P, Krotkiewski H, Jaskiewicz E. Studies on Immunogenicity and Antigenicity of

Baculovirus-Expressed Binding Region of *Plasmodium falciparum* EBA-140 Merozoite Ligand. Arch. Immunol. Ther. Exp. 2016; 64:149-156.

3. **Zerka A**, Olechwie A, Rydzak J, Kaczmarek R, Jaskiewicz E. Baculovirus-expressed *Plasmodium reichenowi* EBA-140 merozoite ligand is host specific. Parasitol. Int. 2016; 65(6):708-714.
4. **Zerka A**, Kaczmarek R, Czerwinski M, Jaskiewicz E. *Plasmodium reichenowi* EBA-140 merozoite ligand binds to glycophorin D on chimpanzee red blood cells, shedding new light on origins of *Plasmodium falciparum*. Parasit. Vectors 2017; 10(1):554.
5. Jaskiewicz E, Peyrard T, Kaczmarek R, **Zerka A**, Jodlowska M, Czerwinski M. The Gerbich blood group system: old knowledge, new importance. Transfus. Med. Rev. 2018; 32(2):111-116.

W skład rozprawy przedstawionej do recenzji wchodzi pięć publikacji – dwie przeglądowe opublikowane w 2015 i 2018 roku w czasopismach ze współczynnikiem IF = 0.769 oraz IF = 5.745, trzy oryginalne opublikowane w latach 2016-2017 w czasopismach o współczynnikach IF = 2.04, IF = 1.744 oraz IF = 3.035. Łączna wartość IF publikacji wchodzących w skład niniejszej rozprawy doktorskiej wynosi 13.333. Osiągnięcie tak wysokiego sumarycznego IF wskazuje na to, że badania zostały właściwie zaplanowane i przeprowadzone przez Doktorantkę oraz przedstawiają wysoki poziom naukowy, co zostało pozytywnie ocenione przez recenzentów tych czasopism. Mnie pozostaje zatem jedynie uznać, że publikacje stanowią oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i potwierdzają ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Wszystkie przedstawione przez Doktorantkę prace stanowią zbiorowe opracowania, w czterech z nich jest Ona pierwszym autorem. Wkład Doktorantki w tych publikacjach został oceniony na 80%, 60%, 70%, 75%, 10%, co znalazło potwierdzenie w oświadczeniach współautorów, które zostały zawarte w końcowej części rozprawy. Doktorantka odegrała znaczącą rolę w zaplanowaniu prac doświadczalnych będących przedmiotem tych publikacji, w opracowaniu i analizie wyników oraz przygotowaniu manuskryptów do publikacji. W odniesieniu do prac przeglądowych Doktorantka dokonała przeglądu piśmiennictwa oraz odegrała istotną rolę w opracowaniu manuskryptu.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska obejmuje: (i) listę prac wchodzących w skład rozprawy; (ii) listę pozostałych prac i patentów niewchodzących w skład rozprawy; (iii) wykaz otrzymanych grantów i nagród; (iv) streszczenie w języku polskim i angielskim;

(v) wprowadzenie, w którym Doktorantka przedstawia problem badawczy, cel naukowy swoich badań oraz ich znaczenie, omawia poszczególne prace wchodzące w skład rozprawy, podsumowuje osiągnięcie naukowe oraz podaje spis literatury; (vi) oświadczenia o udziale procentowym współautorów; (vii) kserokopie pięciu publikacji wchodzących w skład rozprawy. Ponadto w rozprawie doktorskiej Doktorantka omawia nieopublikowane badania związane z zaprezentowanym osiągnięciem naukowym i przedstawia swoje plany badawcze.

Ocena merytoryczna części eksperymentalnej i dyskusji wyników została już wcześniej wykonana przez anonimowych recenzentów renomowanych czasopism. Opublikowanie przez Doktorantkę i współpracowników wyników badań własnych świadczy o ich wysokiej wartości naukowej, dlatego ponowna ich ocena jest niepotrzebna. W związku z tym, moja recenzja pracy doktorskiej obejmuje głównie ocenę wyboru tematyki badawczej, zasadności i spójności zestawienia artykułów oraz możliwości uzyskania uogólnionych wniosków wpływających z analizy prac wchodzących w skład rozprawy.

Temat pracy jest nowatorski ze względu na niewielką liczbę danych w literaturze naukowej, które w sposób szczegółowy wyjaśniają mechanizmy inwazji zarodźców na erytrocyty gospodarza, w tym człowieka i szympansa. Uważam, że temat ten w pełni oddaje problematykę badawczą rozprawy. Cele badań postawione przez Doktorantkę są interesujące, a otrzymane wyniki wartościowe. Za szczególne osiągnięcie naukowe można uznać identyfikację receptora na erytrocytach szympanskich dla liganda EBA-140 *P. reichenowi*.

Prace stanowiące niniejszą rozprawę są tematycznie spójne i szczegółowo opracowane. Metodyka i wyniki zawarte w tych publikacjach zostały już ocenione przez recenzentów czasopism, w których ukazały się i merytorycznie nie budzą żadnych zastrzeżeń.

Pierwsza praca jest pracą przeglądową (Zerka i wsp. 2015), w której Doktorantka przedstawiła w sposób przejrzysty dotychczasowy stan wiedzy na temat ewolucji pierwotniaków z rodzaju *Plasmodium*. Doktorantka w artykule tym zaprezentowała teorie wyjaśniające pojawienie się *P. falciparum* – gatunku, który powoduje największą śmiertelność wśród ludzi. W artykule omówione zostały również mechanizmy odpowiedzialne za swoiste rozpoznawanie erytrocytów ludzkich przez merozoity *P. falciparum*. Ponadto w pracy Doktorantka opisała skutki wzajemnej presji ewolucyjnej, polegającej m.in. na zmianie struktury antygenów grupowych krwi czy pojawienia się lekooporności u zarodźców.

Druga publikacja (Zerka i wsp. 2016a) dotyczy właściwości immunogennych rekombinowanych białek Regionu II (RII) liganda EBA-140 *P. falciparum*. Doktorantka

i współautorzy wykazali, że rekombinowany RII jest rozpoznawany przez przeciwciała pochodzące z surowic pacjentów zarażonych zarodźcem. Ponadto wykazano, że przeciwciała obecne w surowicy królików immunizowanych RII liganda EBA-140 blokowały wiązanie rekombinowanego białka RII do ludzkich erytrocytów. Uzyskany wynik może świadczyć o ochronnej funkcji tych przeciwciał wobec inwazji erytrocytów przez zarodźca.

W trzeciej pracy (Zerka i wsp. 2016b) wchodzącej w skład cyklu Doktorantka wykorzystując technikę cytometrii przepływowej oraz technikę powierzchniowego rezonansu plazmonowego wykazała, że rekombinowany RII liganda EBA-140 szympaniego zarodźca *P. reichenowi* rozpoznaje erytrocyty szympanie, natomiast nie wiąże się do erytrocytów ludzkich. Ponadto Doktorantka wykazała, że obecność cząsteczki kwasu sjałowego w receptorze jest konieczna w oddziaływaniu pomiędzy nim, a ligandem EBA-140 *P. reichenowi*.

Wyniki przedstawione w czwartej publikacji (Zerka i wsp. 2017) stanowią zwieńczenie prac eksperymentalnych. Dzięki wykorzystaniu rekombinowanego RII liganda EBA-140 *P. reichenowi* zidentyfikowano receptor na erytrocytach szympanich, którym okazała się być glikoforyna D.

Tematyka piątej publikacji, która jest pracą przeglądową (Jaskiewicz i wsp. 2018), dotyczy charakterystyki układu grupowego Gerbich w skład, którego wchodzi glikoforyny C i D – receptory rozpoznawane przez ligandy EBA-140 merozoitów *P. falciparum* oraz *P. reichenowi*. Warto podkreślić, że Autorzy tej publikacji zawarli w niej również wyniki badań własnych.

W streszczeniu zawartym w rozprawie doktorskiej Doktorantka zawarła podsumowanie zagadnień omawianych w rozprawie oraz wnioski z przeprowadzonych badań. Są one poprawnie sformułowane i w pełni uzasadnione.

Rozprawa doktorska zawiera piśmiennictwo obejmujące 24 pozycje literatury, wymienione według kolejności cytowania w tekście rozprawy.

Z obowiązku recenzenta należy wymienić drobne uchybienia zauważone podczas lektury niniejszej rozprawy, takie jak:

1. Tytuł drugiej publikacji umieszczonej na liście prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (str. 7) został skrócony, w oryginale tytuł ten jest dłuższy
2. W wykazie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej praca 1 jest napisana po polsku, zatem i tytuł powinien być przedstawiony w języku polskim
3. W nazwach czasopism zamieszczonych na str. 7 znajdują się błędy literowe

4. Nazwy gatunkowe *Plasmodium falciparum* i *Plasmodium reichenowi* w tytułach prac powinny zostać napisane kursywą (str. 7, 23, 24)
5. W tekście opisującym publikację drugą (str. 19) Doktorantka użyła niewłaściwego sformułowania, będącego jak sądzę, jedynie skrótem myślowym: „Wykazałam, że surowica ta wiąże rekombinanty RII liganda EBA-140 ludzkiego *Plasmodium falciparum*”. To składowe surowicy jakimi są przeciwciała mogą ulec połączeniu z ligandami.

Te drobne uwagi nie zmieniają jednak mojej wysokiej oceny recenzowanej pracy.

W podsumowaniu stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Agaty Zerki charakteryzuje się trafnością wyboru tematu. W analizowanym cyklu publikacji Doktorantka wykazała się umiejętnością sformułowania celów zaplanowanych badań naukowych oraz wypływających z nich wniosków. Zawarty w rozprawie cykl publikacji jest spójny tematycznie i przyczynia się do lepszego poznania omawianej tematyki, dlatego też jest cennym uzupełnieniem dostępnego piśmiennictwa naukowego. Praca ma więc dużą wartość poznawczą i stanowi podstawę do kontynuowania badań naukowych w tej dziedzinie.

We wniosku końcowym stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymagania określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dziennik Ustaw 65, poz. 595 z późn. zm.), stawiane pracom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie mgr inż. Agaty Zerki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie zgłaszam wniosek o wyróżnienie pracy ze względu na nowatorski charakter tematyki przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników oraz wysoką sumaryczną wartość IF cyklu publikacji zawartych w niniejszej rozprawie.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Wydział Lekarski
KATEDRA I ZAKŁAD BIOLOGII
I PARAZYTOLOGII LEKARSKIEJ
adiunkt.
Dorota Wojnicz
dr hab. Dorota Wojnicz

