

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Dagmary Wójkowskiej**  
**„ Rola limfocytów Th17 w patogenezie doświadczalnego modelu**  
**stwardnienia rozsianego”**

Mgr Dagmara Wójkowska w swej pracy doktorskiej podjęła się ambitnego i niezwykle ważnego z punktu widzenia neuroimmunologii zagadnienia - pogłębienia wiedzy na temat roli limfocytów Th17 w oparciu o model doświadczalny stwardnienia rozsianego jakim jest EAE- doświadczalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego.

Pytania na jakie doktorantka szukała odpowiedzi sprowadzają się generalnie do trzech zagadnień sformułowanych w celach pracy czyli:

- oceny ekspresji receptorów CCR6, CXCR2 i CXCR6 na limfocytach Th17 a także produkcji IL-17 oraz CXCL16 przez te limfocyty w EAE
- oceny czynników odpowiedzialnych za adhezję limfocytów Th17 do komórek śródbłonna mózgowego w modelu in vitro ze szczególnym uwzględnieniem roli cytokin IL-17 oraz TNF-alfa w ekspresji cząsteczki adhezji komórkowej naczyń VCAM-1 oraz wpływu powyższych cytokin na uwalnianie przez śródbłonek chemokin CCL2 oraz CXCL1
- identyfikacji czynników wpływających na chemotaksję limfocytów Th17 oraz zwiększoną migrację tych komórek przez model bariery krew-mózg

Cele pracy oceniam jako nowatorskie, poparte wcześniejszymi wynikami badań oraz logicznie uporządkowane

Praca liczy 96 stron. We wprowadzeniu autorka, wykazując się umiejętnością doboru istotnych faktów naukowych, przedstawiła cechy charakterystyczne doświadczalnego

autoimmunologicznego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego a także udział i poznane fakty związane z rolą limfocytów Th17 w tym modelu doświadczalnym stwardnienia rozsianego. Dobór metod przy pomocy których doktorantka postanowiła znaleźć odpowiedź na zadane w pracy pytania oceniam jako bardzo profesjonalny. Należy podkreślić duży wkład pracy i umiejętności badawczych, które są niezbędne przy ich wykonywaniu. Dotyczy to zarówno indukcji EAE, izolacji komórek jednojądrzastych z krwi, śledziony, węzłów chłonnych i ośrodkowego układu nerwowego, hodowli endotelium mózgowego pochodzenia mysiego, oznaczania stężeń chemokin metodą ELISA, oceny cytometrycznej markerów komórkowych, oceny ekspresji receptorów adhezyjnych a także oceny migracji limfocytów Th17 przez endotelium mózgowo pochodzenia mysiego. Także analiza statystyczna uzyskanych wyników nie budzi wątpliwości.

Wykonane badania zaprezentowane przez autorkę w dysertacji doktorskiej wykazały ekspresję receptorów CCR6, CXCR2 oraz CXCR6 na limfocytach Th17. Jednocześnie autorka stwierdziła zwiększoną produkcję IL-17 oraz chemokiny CXCL16 w mózгах badanych zwierząt. Otrzymane wyniki wskazują na rolę limfocytów Th17 w zapoczątkowaniu zapalenia w OUN i napływie innych komórek zapalnych wnikających do tkanki mózgowej. Doktorantka potwierdziła, że TNF-alfa oraz IL-17 wzmacniają adhezję limfocytów Th17 do śródbłonka mysiego. Na samym śródbłonku, w zastosowanym modelu in vitro, autorka wykazała ekspresję cząsteczki adhezji komórkowej naczyń VCAM-1 oraz produkcję chemokin CCL2 oraz CXCL1 przez śródbłonek po stymulacji TNF-alfa i IL-17. Autorka udowodniła także iż spontaniczna chemotaksja i migracja przez komórki bEnd.3 limfocytów Th17 w kierunku chemokin CCL2, CCL5, CCL20 lub IL-17 jest zależna od ich stężenia a sam proces migracji wymaga udziału kilku mediatorów stanu zapalnego. Doktorantka wyniki przedstawiła nie tylko w formie opisowej lecz także na 23 rycinach, co czyni pracę bardzo czytelną.

Wnioski zawarte są w 10 punktach, w mojej opinii niepotrzebnie w takiej aż liczbie.

Powinny odpowiadać na 3-4 główne cele pracy.

Jak wynika z przedstawionych danych, stężenie CXCL16 w surowicy krwi było niższe u myszy z EAE w porównaniu z grupą kontrolną, stad wniosek w podpunkcie 5 „, w fazie przedklinicznej EAE i w EAE wzrasta produkcja IL-17 i CXCL16 w mózgach i krwi myszy” nie jest precyzyjny.

Dyskusja wskazuje na bardzo dobre opanowanie tematu naukowego pracy. Jest napisana w sposób wyważony i kompetentny. Omawia najważniejsze uzyskane wyniki i się do nich odnosi sięgając także do wcześniejszych badań w tym zakresie. Bibliografia obejmuje 86 pozycji starannie dobranych, głównie anglojęzycznych.

W podsumowaniu mogę stwierdzić, iż rozprawa doktorska mgr Dagmary Wójkowskiej pt.: „ Rola limfocytów Th17 w patogenezie doświadczalnego modelu stwardnienia rozsianego” stanowi samodzielne rozwiązanie przez autorkę problemu naukowego a także wykazuje jej stosowną ogólną wiedzę teoretyczną. Wnioskuje o nadanie autorce stopnia doktora nauk medycznych a także o wyróżnienie w/w pracy.

Kierownik  
Zakładu Neuroimmunologii Klinicznej  
Prof. dr hab. med. Jacek Lesy