

Poznań, 31 lipca 2025 roku

Dr hab. n. med. Ewa Wysocka
Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Wydział Medyczny
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej

w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki o zdrowiu
przygotowanej przez

mgr Katarzynę Leszko

pt. „Ocena stężenia interleukiny 35 i przeciwciał skierowanych przeciwko wybranym antygenom
wirusa Epsteina-Barr w przebiegu mononukleozy zakaźnej u dzieci.”

Promotor: dr hab. n. med. Beata Żelazowska-Rutkowska

Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej

Wydział Nauk o Zdrowiu

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Zgodnie z Uchwałą Komisji nr 1/2025 z dnia 05.05.2025 r. na Wydziale Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, zacytowaną w piśmie Prodziekana ds. Nauki i Ewaluacji Kolegium Nauk o Zdrowiu prof. dr hab. Bożeny Dobrzyckiej, przedstawiono do oceny rozprawę doktorską mgr Katarzyny Leszko pt. „Ocena stężenia interleukiny 35 i przeciwciał skierowanych przeciwko wybranym antygenom wirusa Epsteina-Barr w przebiegu mononukleozy zakaźnej u dzieci.”

Rozprawa doktorska liczy 94 strony i składa się z następujących części: Spis treści, Wykaz stosowanych skrótów, Wstęp, Cel badań, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim, Streszczenie w języku angielskim, Literatura, Wykaz Tabel, Wykaz Rycin, Zgoda komisji bioetycznej.

Rozprawa doktorska dotyczy znaczenia klinicznego interleukiny 35 i przeciwciał skierowanych przeciwko wybranym antygenom wirusa Epsteina-Barr (herpeswirus 4, z rodziny *Herpesviridae*) we krwi dzieci z rozpoznaniem mononukleozy zakaźnej.

Mononukleozą zakaźną u osób immunokompetentnych najczęściej jest chorobą samoograniczającą się, o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu, nieprzechodzącą w fazę przewlekłą. Przeciwciała anty-EBV występują we krwi około 90-95% osób dorosłych na całym świecie. Obraz kliniczny choroby zależy od wieku człowieka w chwili zakażenia. Pierwotne zakażenie u dzieci, w pierwszych latach życia, może przebiegać bezobjawowo lub skąpoobjawowo. Pełnoobjawowa mononukleozą zakaźną jest raportowana u dzieci starszych i młodzieży/młodych dorosłych. U osób z niedoborami odporności obserwuje się ciężki przebieg choroby, w tym z zapaleniem wątroby (około 50% przypadków). Zgony w przebiegu mononukleozy są bardzo rzadkie. Następstwem zakażenia pierwotnego jest przetrwanie wirusa w formie latentnej w limfocytach B (głównie) i komórkach nabłonkowych (w mniejszym stopniu). Z zakażeniem wirusem Epsteina-Barr wiążemy rozwój chorób limfoproliferacyjnych oraz raka jamy ustnej, nosowo-gardłowej i żołądka, a także ryzyko reaktywacji zakażenia w przypadku dysfunkcji układu immunologicznego gospodarza.

Interleukina 35 z rodziny IL-12 bierze udział w istotnych etapach odpowiedzi zapalnej, zarówno komórkowej jak i humoralnej – jest opisywana jako cytokina potencjalnie przeciwzapalna i ochronna. Niewiele prac naukowych raportuje jej rolę w rozwoju infekcji wirusowych, zwłaszcza w przebiegu mononukleozy zakaźnej u dzieci. Doktorantce i Pani Promotor gratuluję wyboru tematu pracy badawczej i jej kontekstu laboratoryjno-klinicznego.

We wstępie Autorka przedstawiła informacje dotyczące infekcji wirusem Epsteina-Barr (EBV) i jej konsekwencji u człowieka. Wskazała wszystkie niezbędne elementy zakażenia pierwotnego, latentnego i reaktywacji, z uwzględnieniem ich patomechanizmów. Tą część rozprawy Kandydatka zilustrowała cennymi rycinami i tabelą 1. Przedstawiła charakterystykę białek EBV, trafnie podsumowując własnym opracowaniem w tabeli 2. Doktorantka wyczerpująco opisała mononukleozę zakaźną: jej epidemiologię, objawy i przebieg choroby oraz zasady rozpoznawania. Przedstawiła rolę medycyny laboratoryjnej w diagnostyce mononukleozy zakaźnej, omawiając badania podstawowe dla oceny stanu ogólnego pacjenta oraz testy serologiczne nieswoiste i swoiste, ze wskazaniem ich znaczenia diagnostycznego i ograniczeń (wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne). Autorka, przejrzyście i odpowiednio do informacji zawartych we wcześniejszych rozdziałach, omówiła swoiste testy diagnostyczne oceniające przeciwciała skierowane przeciwko antygenom EBV oraz rolę badań metodami molekularnymi (np. PCR). Doktorantka umiejętnie przedstawiła niezbędne informacje dotyczące interleukiny 35 (IL-35), zaznaczając jej rolę w procesie odpowiedzi zapalnej – szczególnie schemat sygnałowy dla IL-35 i jej oddziaływanie na komórki układu odpornościowego. Należy docenić przeanalizowanie przez Autorkę udziału IL-35 w patobiochemii innych chorób i syntetyczne przedstawienie tych informacji w tabeli 5.

Wstęp (Rozdział I) stanowi dobrą podstawę przyjętych przez Doktorantkę założeń, uzasadniających sformułowane cele rozprawy doktorskiej. W Rozdziale II. Autorka przedstawia cel główny tj. ocenę stężenia IL-35 w surowicy dzieci chorujących na mononukleozę zakaźną oraz pięć celów szczegółowych: 1- oznaczanie przeciwciał skierowanych przeciwko antygenowi kapsydowemu EBV; 2- oznaczanie przeciwciał skierowanych przeciwko wybranym szczegółowym antygenom EBV; 3- ocenę stężenia interleukiny 35 w grupie dzieci chorych na mononukleozę zakaźną i dzieci zdrowych; 4- ocenę podstawowych parametrów laboratoryjnych jako elementów oceny stanu ogólnego i powikłań choroby; 5- analizę związku stężenia IL-35 z pozostałymi mierzonymi parametrami, w zależności od przebiegu zakażenia EBV.

Rozdział III. Materiał i metody zawiera skromne dane kliniczne badanej populacji: dzieci hospitalizowanych z powodu mononukleozy zakaźnej i dzieci zdrowych. Cennym uzupełnieniem byłyby kryteria kwalifikacji do utworzonych grup badanych, w tym grupy porównawczej (kontrolnej) oraz wskazanie w tym rozdziale, w tekście, miejsca wykonywania badań laboratoryjnych – domyślnie w Zakładzie Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej, w Uniwersyteckim Dziecięcym Szpitalu Klinicznym w Białymstoku. Doktorantka zastosowała w pracy właściwe, nowoczesne metody badawcze. Uznaniem budzi fakt zaplanowania i przeprowadzenia oznaczeń wielu swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom EBV. W części dotyczącej metod analizy statystycznej Kandydatka wskazała, że w zależności od występowania rozkładu normalnego ocenianych parametrów - zastosowała testy parametryczne lub nieparametryczne. Jakimi testami dokonano porównań i oceny korelacji, których efekty przedstawiono w tabelach i na rycinie w Rozdziale IV. Wyniki? Analizując sposób przedstawienia danych (w formie mediany oraz pierwszego i trzeciego kwartylu) można przypuszczać, jaki rodzaj rozkładu uzyskała Autorka oraz jakiego rodzaju testów użyła.

Emp

W Rozdziale IV. Wyniki, niedosyt recenzenta budzi charakterystyka kliniczno-laboratoryjna badanej populacji i wyodrębnionych grup badanych, szczególnie w zakresie przedstawienia wyników badania morfologii krwi i podstawowych parametrów biochemicznych oraz ich porównania między grupami. Wówczas, większego znaczenia mogłyby nabrać przedstawione następnie w tabelach: „Charakterystyka wybranych parametrów hematologicznych i biochemicznych...” oraz „Korelacje IL-35 z wybranymi parametrami...”. Cennym uzupełnieniem byłoby wyjaśnienie braku 100% osób dla części ocenianych parametrów (Tabela 15). Doktorantka w odmienny sposób przedstawiła różnice pomiędzy grupami K, O, P, w zakresie: wyników WBC, Neut, Limf, Mono, AST, ALT oraz PLT, CRP. Recenzent z ciekawością przeanalizowałby przedstawienie analizy statystycznej tych samych parametrów dwoma sposobami. Podsumowując przeprowadzoną analizę krzywych ROC, warto doprecyzować jakich dwóch grup badanych dotyczy ocena oraz przedstawić więcej uzyskanych w tej analizie danych m.in. czułość i swoistość przy określonym punkcie odcięcia różnicującym dwie badane grupy.

Uzyskane wyniki posłużyły przeprowadzeniu dyskusji w odniesieniu do rezultatów innych badaczy. Autorka podkreśliła potencjalną ochronną rolę IL-35 w przebiegu zakażeń wirusowych dotyczących układu oddechowego oraz niejednoznaczną – w przypadku zajęcia wątroby procesem zapalnym. Przeprowadzona przez Kandydatkę dyskusja i zacytowane wyniki badań innych autorów sugerują, że cenne byłoby przedstawienie danych klinicznych dotyczących np. manifestacji narządowej mononukleozy zakaźnej w badanych grupach (uszkodzenie wątroby) oraz uwzględnienie tych informacji w analizie wyników stężenia IL-35 i swoistych przeciwciał przeciwko antygenom EBV. Ciekawość recenzenta budzi porównanie wyników uzyskanych przez Doktorantkę z wynikami oznaczeń w populacji chińskiej (w tej publikacji dodatkowo: u osób z mononukleozą zakaźną w podgrupach z zajęciem wątroby i bez zajęcia tego narządu w przebiegu choroby) – Autorka ograniczyła się do stwierdzenia, że wyniki różniły się. Kandydatka udowodniła potrzebę oceny cytokin we krwi pacjentów z mononukleozą dla coraz lepszego zrozumienia odpowiedzi immunologicznej i przebiegu choroby. W obliczu niedostatku prac badawczych dotyczących stężenia IL-35 u pacjentów z mononukleozą zakaźną, Doktorantka przeanalizowała wyniki oceny tej interleukiny we krwi pacjentów w przebiegu innych zakaźnych chorób o etiologii wirusowej (m.in. grypa typu A, wirusowe zapalenie wątroby typu B i C, COVID-19). Autorka konkluduje, że sugerowany przez badaczy efekt działania IL-35 może być zależny od rodzaju zakażenia wirusowego – korzystny (ochronny) w infekcjach ograniczonych do zajęcia układu oddechowego. W zakażeniach związanych z zajęciem wątroby, rola IL-35 może być bardziej skomplikowana – ochrona komórek i tkanek poprzez „wyciszenie” procesu zapalnego może ułatwiać przetrwanie infekcji. Zachęcam Kandydatkę do kontynuowania badań nad udziałem IL-35 (i innych cytokin) w rozwoju mononukleozy zakaźnej, z uwzględnieniem zajęcia narządów wewnętrznych w przebiegu choroby.

Doktorantka przeprowadziła cenną dyskusję dotyczącą zaangażowania przeciwciał skierowanych przeciwko konkretnym antygenom EBV w procesie diagnostycznym mononukleozy zakaźnej. Dokonała analizy profili serologicznych u osób zakażonych EBV przedstawionych przez różnych autorów, w odniesieniu do wyników własnych. Ta część rozprawy doktorskiej przybliży użyteczność kliniczną oceny przeciwciał przeciwko antygenom EBV w przebiegu mononukleozy zakaźnej. Omawiając wyniki prac przeprowadzonych przez m.in. Gorgievski-Hrisoho i wsp., Ming i wsp., Cai i wsp., Biggs i wsp., Kandydatka wskazuje, że autorzy analizowali również wartości parametrów hematologicznych i biochemicznych - w przyszłości warto podjąć z nimi głębszą dyskusję w tym obszarze. Wyjaśnienia mógłby wymagać fakt nie stwierdzenia przez Autorkę przeciwciał przeciw gp85 i gp350, w obliczu ciekawych informacji o tych białkach podanych we Wstępie, u pacjentów z mononukleozą zakaźną w wieku od 2 do 17 r.ż.

Rezultatem uzyskanych wyników i przeprowadzonej dyskusji są cztery wnioski podsumowujące realizację celów rozprawy doktorskiej: 1- IL-35 pełni rolę w patogenezie mononukleozy zakaźnej u dzieci; 2- i może być rozważana jako dodatkowy parametr diagnostyczny; 3- cytokina ta nie różnicuje ostrej i przewlekłej fazy zakażenia EBV u dzieci; 4- ocena swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko konkretnym antygenom EBV może stanowić uzupełnienie procesu diagnostycznego mononukleozy zakaźnej u dzieci. Niedosyt recenzenta budzi brak odniesienia się do wyników analizy związku stężenia IL-35 z pozostałymi mierzonymi parametrami. Zachęcam Doktorantkę do przygotowania publikacji do druku i kontynuacji badań w tym obszarze. Jestem przekonana, że wyniki działań naukowych na tym polu będą także inspiracją dla innych badaczy, w tym z uwagi na potencjalne odległe skutki w postaci EBV-zależnych nowotworów. To właśnie z wyników wielu badań naukowych tworzymy biochemiczny scenariusz choroby i podwaliny nowoczesnej terapii.

Streszczenia w języku polskim i angielskim prezentują wyczerpująco założenia, cel pracy, zastosowaną metodykę oraz podsumowanie wyników i wnioski.

Rozprawa doktorska została napisana z dbałością o poprawność języka polskiego. (Recenzent sugeruje niezmiennie stosowanie określenia „stężenie” w miejsce „poziom”, nawet jeżeli wiąże się to z nieustannym powtarzaniem tego terminu. Niektóre skróty nie zostały wyjaśnione w tekście ani w spisie skrótów np. BILF1, BHRF1, BLRF2, BXLF2, BFRF3 itd.).

Piśmiennictwo stanowi 210 pozycji - istotnych prac z obszaru badanego przez Doktorantkę, które pochodzą w ok. 36% z ostatnich 4 lat, 40% z lat 2011-2020, 18% z lat 2001-2010 i 6% z okresu do 2000 roku.

Podsumowując, przedłożona do recenzji rozprawa doktorska wzbogaca wiedzę dotyczącą odpowiedzi zapalnej w przebiegu mononukleozy zakaźnej u dzieci. Zachęca do prowadzenia badań nad rolą interleukin z rodziny IL-12, wśród nich IL-35, w odpowiedzi immunologicznej oraz nad oceną swoistych przeciwciał przeciw określonym antygenom wirusa Epsteina-Barr w przebiegu choroby. Autorka przedstawiła aktualny stan wiedzy, możliwości diagnostyki laboratoryjnej oraz wyzwania dotyczące mononukleozy zakaźnej. Uzasadniła cele swojej pracy badawczej. Doktorantka posłużyła się nowoczesnymi i właściwymi narzędziami medycyny laboratoryjnej. Kandydatka zrealizowała założone cele. Wykazała się umiejętnością statystycznej analizy uzyskanych wyników, ich przedstawienia i przedyskutowania. Wnioski sformułowane przez mgr Katarzynę Leszko odpowiadają postawionym celom. Nowością pracy jest przedstawienie użyteczności klinicznej interleukiny 35 i przeciwciał skierowanych przeciw konkretnym antygenom EBV, oznaczanych we krwi u dzieci chorych na mononukleozę zakaźną, w przewidywaniu ostrej i przewlekłej fazy choroby.

Przedstawione uwagi nie umniejszają wartości rozprawy doktorskiej, w opinii recenzenta mogą być elementem dyskusji towarzyszącej karierze badanego parametru w obszarze medycyny laboratoryjnej i mogą stanowić pomoc w przygotowaniu przez Doktorantkę wartościowej publikacji.

Rozprawa doktorska mgr Katarzyny Leszko pt. „Ocena stężenia interleukiny 35 i przeciwciał skierowanych przeciwko wybranym antygenom wirusa Epsteina-Barr w przebiegu mononukleozy zakaźnej u dzieci” spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742). Wnoszę do Wysokiego Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Katarzyny Leszko do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki o zdrowiu.

Kierownik
Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej
Ewa Wysocka
dr hab. n. med. Ewa Wysocka