

Wrocław 18.05.2025

dr hab. Joanna Hildebrand, prof. UWr

Ocena
rozprawy doktorskiej mgr inż. Mateusza Pękacza
zatytułowanej „Badanie molekularnych interakcji antygeny Dr20/22
***Dirofilaria repens* w układzie pasożyt – żywiciel oraz**
wytypowanie nowego narzędzia diagnostycznego
dirofilariozy skórnej”
wykonanej w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Instytutu
Medycyny Weterynaryjnej, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie
pod kierunkiem dr. hab. Marcina Wiśniewskiego, prof. SGGW
oraz opieką promotora pomocniczego dr hab. inż. Anny Zawistowskiej-Deniziak

Podstawą do wykonania niniejszej recenzji jest uchwała nr 9/WET-2024/2025 Rady Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dnia 19 lutego 2025 r oraz Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z późniejszymi zmianami (Dz.U z 2024, poz.1571).

Ocena formalna

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Mateusza Pękacza składa się z cyklu trzech powiązanych tematycznie oryginalnych prac opublikowanych w latach 2022-2024 w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym oraz nieopublikowanych wyników badań przedstawionych w formie manuskryptu, zgodnie z art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

Autoreferat został przygotowany bardzo starannie. Zawiera wstęp nakreślający problem badawczy i charakterystykę nicieni z rodzaju *Dirofilaria*, cele naukowe pracy, opublikowane artykuły wraz z jednostronicowym opisem merytorycznym każdej z publikacji. Kolejne dwie części to rozdziały prezentujące wyniki nieopublikowane, o charakterze manuskryptu, z zamieszczonym uzasadnieniem podjęcia tej części badań. Całość uzupełniają wnioski



końcowe oraz bibliografia zawierająca 146 pozycji, a także spis treści i streszczenie w języku polskim i angielskim.

W skład przedstawionego osiągnięcia naukowego wchodzi następujące prace opublikowane w Scientific Reports (P1, P2) oraz BMC Veterinary Research (P3):

P1. Pękacz M., Basałaj K., Młocicki D., Kamaszewski M., Carretón E., Morchón R., Wiśniewski M., Zawistowska-Deniziak A. Molecular insights and antibody response to Dr20/22 in dogs naturally infected with *Dirofilaria repens*. (2024; IF 3,8);

P2. Pękacz M., Basałaj K., Kalinowska A., Klockiewicz M., Stopka D., Bąska P., Długosz E., Karabowicz J., Młocicki D., Wiśniewski M., Zawistowska-Deniziak A. Selection of new diagnostic markers for *Dirofilaria repens* infections with the use of phage display technology. (2022; IF 3,8);

P3. Pękacz M., Basałaj K., Miterpáková M., Rusiecki Z., Stopka D., Graczyk D., Zawistowska-Deniziak A. An unexpected case of a dog from Poland co-infected with *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis*. (2024; IF 2,3).

Współczynnik wpływu (IF) prac wchodzących w skład dysertacji wynosi 9,9 natomiast suma punktów zgodnie z wykazem Ministra Nauki 2024 r. wynosi 420. Wszystkie publikacje są wieloautorskie i we wszystkich Doktorant jest pierwszym autorem, a w jednej dodatkowo autorem korespondencyjnym, i jak wynika z informacji przedstawionych w oświadczeniach Doktoranta i współautorów, ze znaczącym udziałem w powstawaniu każdej z nich. Rola Doktoranta polegała na zaplanowaniu i wykonaniu eksperymentów, analizie wyników oraz przygotowaniu i edycji manuskryptów. zaplanowaniu i wykonaniu eksperymentów, analizie wyników oraz przygotowaniu i edycji manuskryptów.

Nieopublikowane wyniki przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej badań dotyczą dwóch tematów:

N1. Badanie właściwości immunomodulacyjnych antygenu Dr20/22 *D. repens* na modelu komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego wyizolowanych od człowieka.

N2. Wykorzystanie metody Real-Time PCR w wykrywaniu oraz różnicowaniu inwazji *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis* i *Acanthocheilonema reconditum* oraz określenie prewalencji wśród populacji bezdomnych psów i kotów w wybranych regionach Ukrainy.

W obu przypadkach badania zostały przedstawione w formie starannie przygotowanego manuskryptu o standardowej strukturze tj. podzielonego na podrozdziały: materiały i metody, wyniki i dyskusję.



Ocena merytoryczna

Parazytozy to grupa chorób o istotnym znaczeniu dla zdrowia publicznego. Pasożyty, czynnik etiologiczny parazytoz, to organizmy fascynujące z ewolucyjnego punktu widzenia, jednak ze względu na swoją różnorodność oraz specyfikę biologii sprawiające często trudności w badaniach jak i w diagnostyce. Aktualnie w związku ze zmianami klimatycznymi i zmianami zachodzącymi w naturalnych ekosystemach, w dużej mierze powodowanymi działalnością człowieka, badania nad pasożytami, a przede wszystkim istniejącymi i nowo pojawiającymi się układami pasożyt-żywiciel nabierają dodatkowego znaczenia. W przypadku gdy mamy do czynienia ze zdrowiem ludzi i zwierząt, poznanie i zrozumienie różnorodnych aspektów tego układu ma znaczenie kluczowe.

Choroby przenoszone przez wektory stanowią bardzo poważny problem zdrowotny na świecie, zgodnie z danymi WHO z roku 2024 stanowią one ponad 17% wszystkich chorób zakaźnych i powodują ponad 700 000 zgonów rocznie, wśród tej grupy istotną część zajmują parazytozy. W Europie, w ostatnich latach, leishmanioza i dirofilarioza, szczególnie ta wywołwana przez *Dirofilaria repens*, należą do najszybciej rozprzestrzeniających się chorób z grupy *vector-borne*, których czynnikiem etiologicznym są pasożyty. Tym samym, podjęcie przez Doktoranta badań nad białkami nicieni z rodzaju *Dirofilaria* w aspekcie mechanizmów inwazji, a także potencjalnych nowych metod diagnostycznych jest w pełni uzasadnione i ważne z punktu widzenia medycyny weterynaryjnej jak i człowieka.

Należy zauważyć, iż nasza wiedza na temat biologii pasożytów oraz mechanizmów zaangażowanych w interakcje z żywicielem jest wciąż niewystarczająca i wymaga badań. Tak jak zaznaczył Doktorant w swojej rozprawie, istotnym a wciąż niepoznanym zagadnieniem są mechanizmy modulacji odpowiedzi immunologicznej żywiciela na różnych etapach inwazji. W szczególności dotyczy to postaci larwalnych, które poza dostaniem się do żywiciela muszą się w nim utrzymać, tym samym oddziaływanie przez nie na układ odpornościowy żywiciela prowadzi zazwyczaj do rozwoju odpowiedzi, na tyle zrównoważonej, że umożliwia ona pasożytom przetrwanie minimalizując jednocześnie uszkodzenia w organizmie żywiciela.

Mając na względzie powyższe, za w pełni uzasadnione uważam podjęcie badań nad białkiem Dr20/22, homologiem antygenów ALT (abundant larval transcript) wcześniej zidentyfikowanych u innych filarii, które wydaje się być jednym z pierwszych antygenów *Dirofilaria* oddziałującym na układ immunologiczny żywiciela, po wniknięciu larw L3. Jako cele Doktorant postawił sobie scharakteryzowanie molekularne tego antygenu i analizę możliwości wykorzystania go jako markera diagnostycznego w dirofilariozie skórnej, co

zostało zrealizowane i przedstawione przede wszystkim w pracy P1, a następnie wytypowanie innych markerów lub metod diagnostycznych przy zastosowaniu różnych technik (technologia phage display, metody molekularne), co jest tematem prac P2 i P3 oraz częściowo badań nieopublikowanych.

Ponieważ rozprawa doktorska składa się w większości z prac opublikowanych w renomowanych czasopismach, a więc poddanych już recenzjom międzynarodowych ekspertów, moje komentarze dotyczą głównie części nieopublikowanej, a z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na dostrzeżone niedociągnięcia czy niejasności dotyczące rozprawy jako całości.

Komentarze i uwagi:

1. Badanie nad właściwościami immunomodulacyjnymi antygenu Dr20/22 na modelu komórek dendrytycznych uważam za wartościowe, i uważam za słuszne ujęcie wyników tych prac w prezentowanej dysertacji. Jest to część badań wpisująca się w główny nurt rozprawy. Nie mam zastrzeżeń co do przeprowadzonych badań, przygotowania rozdziału 4. prezentującego eksperyment oraz wyciągniętych wniosków, które zresztą uważam za bardzo interesujące i obiecujące.

2. Tytuł rozprawy vs. dobór prac. Temat rozprawy doktorskiej został sformułowany dość precyzyjnie (*Badanie molekularnych interakcji antygenu Dr20/22 Dirofilaria repens w układzie pasożyt – żywiciel oraz wytypowanie nowego narzędzia diagnostycznego dirofilariozy skórnej*), w związku z tym moje pytanie dotyczy uzasadnienia dołączenia do rozprawy ostatniego badania, które jest interesujące i ważne z punktu widzenia epidemiologii dirofilariozy, jednakże odbiegające nieco od w/w tematu, także w odmiennym charakterze badań.

3. W celach pracy zostało zwarte sformułowanie o dyskusji nad „kierunkiem rozwoju dirofilariozy sercowo-płucnej w Polsce”, nie jestem przekonania czy jako cel pracy było niezbędne, a jeśli już zostało przedstawione to winno być do niego odniesienie w rozprawie.

4. Chciałabym podkreślić staranność i merytoryczność przygotowanego autoreferatu. Jednakże, w mojej ocenie, poza sformułowaniem wniosków końcowych można było pokusić się o przygotowanie krótkiego zestawienia czy podsumowania całości otrzymanych wyników, szczególnie tych wpisujących się wprost w temat rozprawy (zakładam, że takowe by się znalazło w rozprawie, gdyby przybrała ona formę manuskryptu). W moim odczuciu, takie podsumowanie pozwoliłoby na udzielenie bardziej precyzyjnej odpowiedzi na zadanie



postawione w tytule tj. wytypowanie/opracowanie nowej metody diagnostycznej w dirofilariozie skórnej.

5. Wnioski końcowe. Wniosek 6 – w moim przekonaniu cechą metody Real-Time PCR jest właśnie czułość, więc wynik założenia powinien wydawać się bardzo przewidywalny, aczkolwiek niezaprzeczalnie wartością pracy jest przeprowadzona analiza czułości metody i specyficzności wybranych starterów. Wniosek 7 i 8 – z punktu widzenia diagnostyki laboratoryjnej czy klinicznej, zarówno detekcja cfDNA czy reakcje qPCR, które nie są standardowo dostępne w większości laboratoriów, nie mówiąc o lecznicach czy przychodniach, nie będą raczej jeszcze zaleceniami dla codziennej praktyki weterynaryjnej czy medycznej, ale bardziej metodami stosowanymi w badaniach naukowych. Oczywiście zrozumiała jest konieczność kompleksowego podejścia do diagnostyki *Dirofilaria repens*, co pokazuje praca P3, tylko w praktyce może to być ani łatwe, ani przystępne cenowo.

Podsumowanie

Przeprowadzone przez Doktoranta badania zostały prawidłowo zaplanowane i przeprowadzone, a uzyskane wyniki właściwie przeanalizowane i zaprezentowane, czego nie umniejszają przedstawione powyżej uwagi. Podkreślić należy zastosowanie zaawansowanych metod badawczych i imponujący wkład pracy Doktoranta oraz nowatorskość uzyskanych wyników, co pozwoliło na opublikowanie większości z nich w recenzowanych uznanych na arenie międzynarodowej czasopismach z listy JCR.

Całość przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy badań nad antygenem Dr20/22 *Dirofilaria repens* oceniam bardzo wysoko, a uzyskane wyniki przedstawiające jego molekularną charakterystykę oraz właściwości immunomodulacyjne, jak i analizę możliwości wykorzystania rekombinowanego białka Dr20/22 jako markera diagnostycznego, uważam za ważne osiągnięcia.

Wniosek końcowy

Podsumowując, bardzo wysoko oceniam przedstawioną do oceny rozprawę doktorską oraz stwierdzam, że spełnia ona wymogi określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024, poz. 1571; z późniejszymi zmianami) i z pełnym przekonaniem przedkładam wniosek do Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie Pana mgr inż. Mateusza Pękacza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH

ZAKŁAD PARAZYTOLOGII

ul. S. Przybyszewskiego 63

51-148 Wrocław

tel. +48 71 375 63 66

zpar@uwr.edu.pl | www.uni.wroc.pl

Jednocześnie, mając na uwadze wkład pracy Doktoranta, Jego doskonały warsztat badawczy oraz wysoką wartość merytoryczną przeprowadzonych badań wnioskuję o wyróżnienie niniejszej rozprawy.

Joanna Hildebrand

UNIWERSYTET WROCŁAWSKI
Wydział Nauk Biologicznych
Zakład Parazytologii
ul. S. Przybyszewskiego 63, 51-143 Wrocław
tel. +43 71 375 63 66

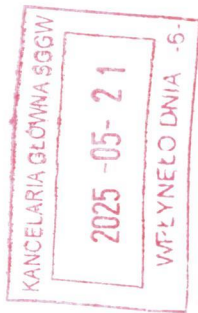
Zwroty kierować na:
pl. Uniwersytecki 1,
50-137 Wrocław

PRIORYTET
PRIORITAIRE

FUP Wrocław 48

13033 20-05-2025

Potw. odbioru
A.R.



R
(00)859007734957371469



46505 20.05.2025 03 POLECONA ZPO

2025

Poczta Polska	zł	gr
Opłata pobrana		

Biuro Obsługi Nauki
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Warszawie
Nowoursynowska 166