Dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN
Katedra Zoologii, Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie
magdalena.nowak-chmura@uken.krakow.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko

pt. „Obecność patogenów a ekspresja wybranych genów odporności wrodzonej u kleszczy"

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko pt. „Obecność patogenów a ekspresja wybranych genów odporności wrodzonej u kleszczy" powstała w Katedrze Biochemii Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem Pani dr hab. Małgorzaty Dmitryjuk, prof. UWM. Dorobek naukowy i doświadczenie Promotorki stanowią doskonałą rekomendację dla prowadzenia badań naukowych w zakresie dysertacji, a sam ośrodek naukowy jest znany i ceniony w Polsce.

Wybrane przez Doktorantkę do badań gatunki kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus* nieustannie budzą wśród badaczy kleszczy ogromne zainteresowanie, a licznie rejestrowane w Polsce i Europie zachorowania na choroby odkleszczowe jedynie potwierdzają konieczność rozszerzonych badań. Do pełnego poznania i zrozumienia etiologii chorób odkleszczowych potrzebne jest zbadanie i wyjaśnienie działania mechanizmów czynników immunologicznych, które uczestniczą w interakcjach pomiędzy kleszczami a przenoszonymi przez nie patogenami. Uważam za bardzo słuszne i potrzebne podjęcie przez Doktorantkę cyklu badań poszerzających wiedzę o mechanizmach odpornościowych kleszczy, w tym molekularnych podstawach wrodzonej odpowiedzi immunologicznej kleszczy oraz interakcjach między wektorem a patogenem oraz ich wpływem na przetrwanie drobnoustrojów.

Ixodes ricinus i *Dermacentor reticulatus* - te dwa najważniejsze epidemiologicznie wektory patogenów odkleszczowych w Europie nieustannie wymagają zaawansowanych badań i dokładnego monitorowania, dlatego w pełni popieram wybrany przez Doktorantkę profil i temat badań naukowych, które poszerzyły wiedzę i zaowocowały rozprawą doktorską.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Magdaleny Szczotko jest zgodna w ocenie formalnej z wytycznymi Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku, według której rozprawę doktorską może stanowić spójny tematycznie zbiór artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych. W przypadku niniejszej rozprawy są to dwie oryginalne publikacje naukowe.

Przedłożone osiągnięcie stanowi konsekwentną formalnie i merytorycznie całość obejmującą 121 stron, w skład której wchodzą poszczególne części składowe, takie jak: wykaz publikacji składających się na rozprawę doktorską (1 strona); wykaz skrótów (1 strona); streszczenie w języku polskim (1 strona); streszczenie w języku angielskim (abstract) (1 strona); wstęp (17 stron); cel, hipotezy i zadania badawcze (1,5 strony); materiał i metody (8,5 strony); omówienie wyników (10 stron); podsumowanie i wnioski (1,5 strony); literatura (14,5 strony); spis rycin (2 strony); spis tabel (1 strona); finansowanie (1 strona); współpraca (1 strona); kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej (34 strony); oświadczenia autorów (9 stron); krótka charakterystyka dorobku naukowego (8 stron); aneks (3 strony).

Treść wstępu rozprawy doktorskiej wraz z poszczególnymi składowymi (cele, materiał i metody, omówienie wyników, podsumowanie i wnioski) są wartościowym uzupełnieniem rozprawy, odpowiadają tematowi określonemu w tytule rozprawy i wskazują myśl przewodnią podjęcia tematyki badań. Układ i opracowanie są bardzo staranne i czytelne oraz poprawne językowo. Wprowadzenie zakończono wykazem cytowanej literatury (128 pozycji).

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko została przygotowana w oparciu o dwie publikacji, które ukazały się w latach 2024-2025 w następujących czasopismach:

- **Developmental and comparative immunology**, publikacja w roku 2024, [140/2.4 MNiSW/IF]
- **Scientific Reports**, publikacja w roku 2025, [140/3.9 MNiSW/IF]

Łączny współczynnik oddziaływania publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 6,3 a liczba punktów MNiSW 280. Wybór Doktorantki dotyczący publikacji swoich wyników badań w czasopismach naukowych był bardzo dobry i trafny. Obydwa czasopisma to międzynarodowe, liczące się w świecie wydawnictwa, publikujące wyniki badań wybitnych specjalistów z pokrewnych dziedzin,

w tym z parazytologii, zoologii, biotechnologii, immunologii, badań molekularnych i innych. Doktorantka jest pierwszą autorką, a także autorką korespondencyjną w obydwu publikacjach stanowiących cykl rozprawy doktorskiej. Obydwie publikacje są pracami wieloautorskimi (od czterech do pięciu autorów).

Jak wynika z oświadczeń Doktorantki i współautorów o udziale w pracach stanowiących spójny cykl publikacji w przewodzie doktorskim, udział Doktorantki w powstawanie każdej publikacji jest znaczący i wyróżniający się oraz wskazuje na indywidualny wkład Doktorantki poprzez Jej udokumentowaną i samodzielną pracę, która polegała między innymi na opracowaniu koncepcji i metodologii badań, praktycznym wykonaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników, opracowaniu manuskryptu, doborze piśmiennictwa, korekcie manuskryptu, wizualizacji i administracji prowadzonych badań.

Tematyka artykułów składających się na rozprawę doktorską jest spójna i koncentruje się wokół dwóch gatunków kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*, patogenów, których są przenosicielami oraz ekspresji wybranych genów odporności wrodzonej u tych kleszczy w odpowiedzi na obecność patogenów. Przeprowadzenie takich badań wymagało od Doktorantki bardzo dobrej znajomości taksonomii kleszczy, wypracowanego warsztatu badawczego do przeprowadzenia prac w terenie i badań w laboratorium, w tym molekularnych, znajomości czynników wpływających na układ pasożyt-żywiciel oraz specyficznych interakcji kleszcz-patogen, a szczególnie znajomości molekularnych mechanizmów odporności kleszczy, jak również płynnego poruszania się w literaturze światowej.

Prezentowane w dwóch publikacjach wyniki badań dowodzą o wysokim poziomie prowadzonych badań naukowych, zostały również docenione przez niezależnych recenzentów w znakomitych czasopismach, w których zostały opublikowane. Moją uwagę zwracają szczególne dokonania Doktorantki, które zauważam i wyszczególniam wybrane w poniższym krótkim podsumowaniu badań wykonanych w ramach rozprawy doktorskiej:

Zadanie 1/Publikacja 1

- potwierdzenie roli *I. ricinus* i *D. reticulatus* jako rezerwuarów patogenów odkleszczowych i utrzymywania się ognisk chorób odkleszczowych na obszarze województwa Warmińsko-Mazurskiego poprzez wykonanie następujących badań:

  - zbadanie patogenów przenoszonych przez kleszcze *I. ricinus* i *D. reticulatus*, wykazanie u kleszczy *I. ricinus i D. reticulatus* poszukujących żywicieli w środowisku: *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., *A. phagocytophilum, N. mikurensis;*

- zbadanie patogenów przenoszonych przez kleszcze *I. ricinus* i *D. reticulatus* żerujących na psach, wykazanie u kleszczy *I. ricinus*: *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., *A. phagocytophilum, N. mikurensis;* u kleszczy *D. reticulatus*: *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., *N. mikurensis*;
- zbadanie i wykazanie koinfekcji dwoma, trzema i czterema patogenami;

- zbadanie i porównanie ekspresji genów defensyn u *I. ricinus* i *D. reticulatus* nosicieli *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *A. phagocytophilum* i *N. mikurensis* i wykazanie wyraźnych różnic;
- wykazanie wyższej ekspresji genów defensyn *I. ricinus* zebranych z żywicieli (psy) niż kleszczy poszukujących żywicieli w środowisku, a tym samym wykazanie tendencji do zmniejszania ekspresji genu defDr u najedzonych i zakażonych *D. reticulatus*;
- zbadanie i analiza ekspresji genów defensyn pomiędzy badanymi stadiami rozwojowymi *I. ricinus* i wykazanie istotnej różnicy w ekspresji genów def1 i def2 między nimfami (znacząco niższa), a badanymi samicami;
- zbadanie i analiza ekspresji genu DefDr pomiędzy badanymi stadiami rozwojowymi *D. reticulatus* i wykazanie braku różnic w porównaniu samców i samic zainfekowanych *Borrelia* spp. i *Rickettsia* spp.;
- zbadanie i porównanie ekspresji genów def1, def2 u *I. ricinus* i defDr u *D. reticulatus* w monoinfekcjach i koinfekcjach i wykazanie istotnych różnic

Zadanie 2/Publikacja 2

- ponowne potwierdzenie roli *I. ricinus* jako rezerwuaru patogenów odkleszczowych i utrzymywania się ognisk chorób odkleszczowych na obszarze województwa Warmińsko-Mazurskiego poprzez zbadanie patogenów przenoszonych przez kleszcze *I. ricinus* i wykazanie *Borrelia burgdorferi* s.l.;
- zbadanie i analiza ekspresji genów związanych ze szlakiem JAK/STAT i wybranych białek AMP u kleszczy *I. ricinus*, u których wykryto *B. burgorferi* s.l.;
- wykazanie i udowodnienie wzrostu ekspresji genów kodujących STAM i SOCS we wszystkich badanych zakażonych tkankach: wykazanie nadmiernej ekspresji genu STAM w gruczołach ślinowych, jelicie środkowym oraz innych tkankach *I. ricinus*;
- wykazanie różnic w ekspresji genów AMPs w tkankach kleszczy w obecności *B. burgdorferi* s.l;

- zbadanie i wykazanie, że obecność krętków *B. burgdorferi* s.l. indukuje ekspresję genów def1 i ric w jelicie środkowym samic *I. ricinus,* spadek ekspresji genu def2 oraz wzmożoną ekspresję genu lzs w pozostałych tkankach

Ponadto na podkreślenie zasługuje również:

- Bardzo dobrze zaplanowany metodycznie warsztat badawczy, znajomość technik i metod badawczych, zarówno terenowych, laboratoryjnych, molekularnych, dzięki którym Doktorantka miała możliwość przeprowadzenia nowatorskich, kompleksowych i zaawansowanych metodycznie badań wykazując się ich właściwą oceną i analizą, dając dowód na umiejętność samodzielnego prowadzenia badań, ale wnioskuję przez to również o znakomitych predyspozycjach Doktorantki do pracy w zespole.
- Podkreślam również dociekliwość naukową Doktorantki, której wyrazem jest między innymi stawianie sobie przez Doktorantkę trudnych celów i pokonywania ich dociekliwymi poszukiwaniami, w ślad za tym idzie współpraca z instytucjami naukowymi w tym z Instytutem Higieny i Medycyny Tropikalnej (IHMT) w Lizbonie w Portugalii. Ta ciekawość naukowa doprowadziła Doktorantkę do identyfikacji nowych celów molekularnych, lepszego poznania mechanizmów odpornościowych u kleszczy oraz propozycji nowych strategii zwalczania chorób odkleszczowych.
- Niezwykle bogata literatura przedmiotu, bardzo fachowo i trafnie dobrana do każdego rozpatrywanego aspektu w publikacjach stanowiących cykl rozprawy, świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu i zrealizowaniu badań naukowych oraz o wiedzy teoretycznej w dyscyplinie nauki biologiczne.

Nie mam żadnych uwag merytorycznych do wykonanych badań zaprezentowanych w cyklu dwóch publikacji stanowiących rozprawę doktorską Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko, ale wyniki badań zachęcają i prowokują do dyskusji, stąd moje pytania do Doktorantki. Bardzo proszę o odniesienie się do następujących zagadnień podczas publicznej obrony rozprawy doktorskiej:

1. W rozdziale „Materiał i metody” opisując materiał badawczy i jego zbiór powołuje się Pani na pracę Espada i in. 2021, podobnie w publikacjach 1 i 2. Brakuje mi tutaj doprecyzowania dotyczącego podstawowej metody zbioru kleszczy z roślinności i proszę o takie wyjaśnienie i

dopowiedzenie. Prace terenowe zespołu Espada były prowadzone w Wirginii na południowo-wschodnich obszarach USA, obszar znany z bioróżnorodności, porównywali flagowanie i przeciąganie różnych materiałów, zarówno na płaskim terenie jak i na drzewach, zbierając kleszcze z rodzajów *Amblyomma*, *Ixodes*, *Dermacentor*. Co konkretnie Pani zaczerpnęła z ich badań do swoich? Na jakie konkretnie metody zbioru kleszczy Pani się powołuje?

2. Z Pani oświadczenia, jako autora rozprawy doktorskiej wynika, że wykonywała Pani i odpowiadała za całość części eksperymentalnej badań. Czy mogłaby Pani doprecyzować i usystematyzować gdzie były wykonywane kolejne etapy badań laboratoryjnych?
3. Pisze Pani w dyskusji, że kleszcze nie mogą być automatycznie uznawane za wektory niektórych patogenów po wykryciu patogenu w materiale genetycznym kleszcza. Jakie Pani zdaniem warunki muszą zaistnieć, żeby kleszcz był uznany pełnowartościowym wektorem danego patogenu? Które gatunki kleszczy są lepszymi przenosicielami patogenów i dlaczego?
4. Pani droga naukowa od samego początku była związana z kleszczami, pasożytami ludzi i człowieka, zarówno praca inżynierska jak i magisterska dotyczyły zagadnień kleszczy i chorób odkleszczowych, teraz praca doktorska i dotychczasowy dorobek naukowy. Co wpłynęło na Pani zainteresowania tematyką kleszczową, dlaczego wybrała Pani akurat taki kierunek rozwoju naukowego?

Podsumowując, uważam, że każda z publikacji Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko, stanowiących cykl rozprawy doktorskiej, wnosi istotny wkład do wiedzy na temat biologii kleszczy oraz przyczynia się do poznania mechanizmów leżących u podstaw kompetencji kleszczy jako wektorów patogenów, a tym samym ma ogromne znaczenie dla rozwoju światowej parazytologii i zdrowia publicznego. Wkład Doktorantki w naukę i wiedzę na temat kleszczy uważam za bardzo znaczący i wybijający się. Obydwie publikacje, stanowiące rozprawę doktorską prezentują bardzo wysoką wartość naukową i bez wątpienia zaowocowały nowatorskimi i bardzo ciekawymi wynikami. Wiedza, jaką osiągnęła Doktorantka na temat kleszczy *Ixodes ricinus* i *Dermacentor reticulatus*, ich korelacji pomiędzy poziomem ekspresji wybranych genów odporności wrodzonej tych gatunków, a obecnością patogenów - bez wątpienia wzbogaciła światową literaturę i z pewnością zostanie doceniona przez specjalistów.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko pt. „Obecność patogenów a ekspresja wybranych genów odporności wrodzonej u kleszczy" prezentuje wysoki poziom merytoryczny stanowiąc oryginalne rozwiązanie problemu naukowego w zakresie nauk biologicznych i zarówno pod względem merytorycznym i formalnym spełnia wszystkie wymagania stawiane pracom doktorskim przewidziane w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz.U. 2024.1571). W związku z tym stawiam wniosek do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie Pani mgr inż. Magdaleny Szczotko do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wartość naukową rozprawy oraz wkład pracy Doktorantki na każdym etapie badań, wnioskuję do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie i rekomenduję wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą. Rozprawa doktorska zasługuje na wyróżnienie, o czym świadczą oryginalne badania naukowe, ich szeroki zakres, które mają ogromne znaczenie dla zdrowia publicznego. Wobec rosnącego problemu zachorowań na choroby odkleszczowe istnieje pilna potrzeba znalezienia skutecznych metod zwalczania kleszczy. Prezentowane badania naukowe są ważnym, polskim krokiem w badaniach układu odpornościowego kleszczy, wyjaśnieniu mechanizmów działania czynników immunologicznych uczestniczących w interakcjach pomiędzy kleszczami, a przenoszonymi przez nie patogenami, a w konsekwencji mogą służyć opracowaniu innowacyjnych strategii kontroli i zapobiegania chorobom odkleszczowym. Podkreślam również i wysoko oceniam, że pozostały dorobek naukowy Doktorantki i Jej aktywność organizacyjna i popularyzatorska koncentrują się konsekwentnie wokół tematyki kleszczy i chorób odkleszczowych, co jak można wnioskować jest bardzo dobrym dowodem na łączenie pasji naukowej Doktorantki z pracą zawodową.

Magdalena Nowak-Chmura

Kraków, 31.08. 2025

Dr hab. Magdalena Nowak-Chmura, prof. UKEN

Instytut Biologii i Nauk o Ziemi
Uniwersytet Komisji
Edukacji Narodowej
w Krakowie

ul. Podchorążych 2
30–084 Kraków
www.ibnz.uken.krakow.pl

Sekretariat
tel. 12 662 78 20
ibnz@uken.krakow.pl