



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

**Katedra i Zakład Diagnostyki Funkcjonalnej i Medycyny Fizykalnej
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
Szczecin, ul. Żołnierska 54**

Prof. dr hab. n. zdr. Anna Lubkowska

Szczecin, 17 maja 2022 roku

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Tylutki pod tytułem:

„Aktywny styl życia jako efektywna metoda profilaktyki zaburzeń funkcji układu immunologicznego u osób starszych”.

Znaczenie tematyki badań

Zjawisko starzenia się populacji to problem demograficzny dotyczący większości społeczeństw świata, także Europy i Polski. Jednym z najważniejszych elementów tego procesu jest starzenie się układu immunologicznego a określenie charakteru deficytu immunologicznego w przebiegu starzenia jest aktualnym nurtem badań nad zmianami inwolucyjnymi. Wraz z wiekiem pogarsza się odpowiedź immunologiczna organizmu zarówno humoralna, jak i komórkowa. Optymalna modyfikacja czynników (środowiskowych i stylu życia) wpływających na proces postępujących, regresywnych i nieodwracalnych zmian w tkankach i narządach organizmu w przebiegu starzenia zwiększa szanse, miejmy nadzieję, na pomyślne starzenie. Starzenie pomyślne definiuje się jako starzenie z niskim ryzykiem rozwoju chorób przewlekłych (sercowo-naczyniowych, cukrzycy, nowotworów) i następowej niesprawności, z równoczesną względnie wysoką sprawnością umysłową i fizyczną oraz utrzymywaną samodzielnością i aktywnością życiową. Czy można zwiększyć szanse na taki przebieg starzenia? Z pewnością jednym z warunków jest poznanie modyfikowalnych

czynników utrzymujących sprawność układu immunologicznego. Wzajemne oddziaływanie układu immunologicznego z innymi układami organizmu sprawia, że jego aktywność zależy od wielu czynników wewnętrznych i zewnętrznych, m.in. uwarunkowań genetycznych, hormonalnych, wieku, płci, aktywności fizycznej, higieny snu, stresu, diety.

Charakterystyczne procesy występujące w obrębie układu immunologicznego pojawiające się wraz z wiekiem, nierozdzielnie związane ze specyficznymi komórkami jakimi są limfocyty T i B, stanowią obecnie jeden z głównych obiektów badań naukowych. Z uwagi na powyższe, uzasadnione jest podejmowanie badań z zakresu tej tematyki, czego podjęła się Doktorantka.

Układ pracy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Anny Tylutki pod kierunkiem naukowym dr hab. Agnieszki Zembron-Lacny, prof. UZ w Katedrze Fizjologii Stosowanej i Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego, została przygotowana jako zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych:

Publikacja 1; Tylutka A, Zembron-Lacny A. Immunological aging and clinical consequences. *Postepy Hig Med Dosw* 2020; 74: 260-271. doi: 10.5604/01.3001.0014.3054. 40pkt MNiSW IF= IF: 0.878

Publikacja 2; Tylutka A, Morawin B, Gramacki A, Zembron-Lacny A. Lifestyle exercise attenuates immunosenescence; flow cytometry analysis. *BMC Geriatr* 2021; 21: 200. doi: 10.1186/s12877-021-02128-7.

Wymienione prace zostały opublikowane w czasopismach z bazy JCR, a łączny współczynnik oddziaływania IF tych prac wynosi 4,191 (140 punktów wg listy MEiN) i zostały zaopatrzone wspólnym tytułem: „*Aktywny styl życia jako efektywna metoda profilaktyki zaburzeń funkcji układu immunologicznego u osób starszych*”.

Autorami pierwszej publikacji, o charakterze przeglądowym, są 2 osoby, tj. Doktorantka oraz Pani Promotor, dr hab. Agnieszka Zembron-Lacny, prof. UZ. Natomiast praca druga jest pracą zespołową ze współautorstwem dodatkowych dwóch osób. W obu pracach Doktorantka jest pierwszym autorem i zgodnie z oświadczeniami współautorów Jej wkład w ich powstanie był wiodący, wynosząc 70% w obu przypadkach, co potwierdza prawo do włączenia tych prac do cyklu publikacji stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora. Potwierdzony przez współautorów wkład Doktorantki w przygotowanie

i opublikowanie wyników to: przygotowanie koncepcji badań, przegląd piśmiennictwa, edycja tekstu, przygotowanie tabel i rycin, korekta manuskryptu, korespondencja z wydawnictwem.

Uchwała Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego nr 34/2019 z dnia 27.11.2019 roku jednoznacznie określa dopuszczalne formy rozprawy doktorskiej w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, zgodnie z którą: „*W przypadku zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych rozprawa doktorska powinna stanowić zbiór co najmniej dwóch artykułów, w tym co najmniej jednego oryginalnego...Sumaryczny współczynnik wpływu Impact Factor (IF) zbioru prac powinien wynosić ≥ 3 lub suma punktów MNiSW powinna wynosić ≥ 100 . Doktorant powinien być pierwszym autorem co najmniej dwóch prac zbioru*”.

Biorąc pod uwagę powyższe, można stwierdzić, że Doktorantka spełniła podstawowe wymogi formalne Jednostki w zakresie tego etapu postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Należy jednocześnie zaznaczyć, że wg bazy Web of Science publikacje na dzień sporządzania recenzji uzyskały cytowania (Tylutka & Zembron-Lacny: *Immunological aging and clinical consequences*. Postępy Hig Med Dosw 2020 - 2 cytowania; Tylutka i wsp.: *Lifestyle exercise attenuates immunosenescence; flow cytometry analysis*. BMC Geriatr 2021- 6 cytowań).

Układ przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej jest przejrzysty i poprawny przy tego typu formacie pracy, opartym na monotematycznym cyklu publikacji. W pierwszej części pracy Autorka zamieściła wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą złożonego wniosku o nadanie stopnia doktora. Dysertację dokorską rozpoczyna streszczenie w języku polskim i angielskim, w którym Autorka zwięźle przedstawiła cele pracy doktorskiej oraz najważniejsze osiągnięcia naukowe. Kolejne rozdziały to: I Wstęp uzasadniający połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl, II Założenia i cel pracy, III Badania eksperymentalne z grupą kontrolną, IV Podsumowanie i wnioski oraz V Piśmiennictwo. Dodatkowo praca zawiera rozdziały obejmujące kopie opublikowanych prac oraz skany uchwał Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Zielonej Górze z dnia 23 stycznia 2017 roku oraz z dnia 18 czerwca 2018 roku, w których odpowiednio wyrażono zgodę na przeprowadzenie badań; pt.: „*Apoptotyczne mechanizmy starzenia się mięśni szkieletowych: zapobieganie poprzez wysilek fizyczny*” i „*Immunologiczne zmiany u kobiet i mężczyzn po 60r. ż. w zależności od współistniejących jednostek chorobowych; wpływ aktywności fizycznej na poprawienie parametrów immunologicznych*”, gdzie jako główny wykonawca badań wskazana jest mgr Barbara Morawin (pierwsza uchwała) i mgr Anna

Tylutka (druga uchwała). Dysertację doktorską zamyka zestaw oświadczeń współautorów, wskazujących zakres ich pracy i procentowy udział w przygotowanie publikacji naukowych, które stanowią monotematyczny cykl publikacji będący podstawą o ubieganie się o stopień naukowy doktora. Ponadto w obrębie pracy Autorka, zgodnie ze zwyczajem, zamieściła wykaz skrótów stosowanych w pracy.

Autorka planując i realizując badania dokonała przeglądu piśmiennictwa z zakresu tematyki immunosenescencji i wskaźników określających potencjalne tempo starzenia się układu immunologicznego, tzw. profil odpornościowego ryzyka (ang. immune risk profile) a także możliwości jego modulacji (w rozumieniu dosłownym przeciwdziałaniu immunosenescencji) dzięki wybranym zachowaniom zdrowotnym w stylu życia. Uwagę skupiła na aktywności fizycznej oraz zawartości tkanki tłuszczowej z uwzględnieniem seropozytywności wobec wirusa cytomegalii (CMV).

Do pracy dołączono wykaz piśmiennictwa cytowanego we wstępie i podsumowaniu – liczy on 53 pozycje, w przeważającej większości o zasięgu międzynarodowym (3 prace polskie i 49 zagranicznych). Dobór literatury jest jak najbardziej odpowiedni, powiązany z tematyką pracy i świadczy o bardzo dobrej orientacji Doktorantki w badanej tematyce i umiejętności korzystania ze źródeł literaturowych, w tym najnowszych. Z uwagi na obowiązki recenzenta zwracam uwagę, że pozycja 12 i 13 ze spisu piśmiennictwa jest tą samą.

Następstwem wnikliwej analizy piśmiennictwa jest pierwsza publikacja z cyklu, opublikowana w renomowanym czasopiśmie o zasięgu krajowym tj.: Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, obejmująca tematykę starzenie się układu immunologicznego i jego konsekwencje dla zdrowia. Doktorantka opisuje w niej szczegółowo zmiany właściwości komórek immunologicznych obserwowane z wiekiem, dotyczące m.in. zmniejszania populacji dziewiczych limfocytów T, limfocytów B i zmniejszenia różnorodności występujących na ich powierzchni receptorów, zwiększone uwalnianie cytokin prozapalnych, wzrostu całkowitej liczby komórek NK we krwi obwodowej. Opisując biomarkery charakteryzujące efektywność działania układu immunologicznego u osób starszych, Doktorantka w tej pracy postuluje wprowadzenie prewencji gerontologicznej obejmującej: edukację zdrowotną, modyfikację diety, higienę snu, aktywność fizyczną, upowszechnienie wybranych szczepień, doprecyzowując każdy z w/w punktów.

Wyniki oryginalnych badań własnych zaprezentowano w publikacji drugiej, pt.: „*Lifestyle exercise attenuates immunosenescence; flow cytometry analysis*”, których celem była analiza porównawcza grup aktywnych i nieaktywnych fizycznie seniorów (60 - 90 lat) w zakresie parametrów hematologicznych, glikemii, profilu lipidowego, białka CRP, analizy

immunofenotypowej limfocytów T, statusu IgG wobec CMV, zmian w subpopulacjach limfocytów T w odpowiedzi na obecność przeciwciał przeciw CMV z uwzględnieniem zawartości tkanki tłuszczowej. Uczestników badań podzielono na dwie grupy - aktywna i nieaktywna fizycznie na podstawie wyniku testu marszowego (ang. 6-minute walking test, 6MWT) i badań wydolności fizycznej (test Astranda-Ryhming). Niefortunne wydaje się zastosowanie klasyfikatora grup: aktywni i nieaktywni, w sytuacji braku zastosowania jakiegokolwiek metody oceny codziennej aktywności fizycznej uczestników badań a jedynie w oparciu o testu funkcjonalny oraz ocenę VO_{2max} metodą pośrednią. Oczywiście można przyjąć założenie, że osoby o wyższej sprawności funkcjonalnej i VO_{2max} wykazują lub wykazywały wyższą aktywność fizyczną ale jest ono hipotetyczne i nie mamy pewności którego okresu życia dotyczy. Bardzo proszę o wyjaśnienie braku oceny aktywności fizycznej badanych w oparciu o zastosowanie narzędzia standaryzowanego lub choćby autorskiego kwestionariusza ankiety, co umożliwiłoby jednoznacznie podział na w/w grupy a ponadto stanowiłoby silną podstawę przyjętego wnioskowania.

Odwołując się do odpowiednich prac źródłowych i dokonując w syntetyczny sposób podsumowania uzyskanych wyników Autorka wyciągnęła następujące wnioski:

1. Aktywność fizyczna podejmowana przez całe życie (ang. lifestyle exercise) spowalnia immunosenescencję, a nawet „odmładza” układ immunologiczny → odsetek limfocytów T dziewczycych o fenotypie $CD4+CD45RA+$ i stosunek $CD4CD45RA/CD4CD45RO$ były istotnie wyższe u aktywnych fizycznie (prędkość chodu $1,5 \pm 0,1$ m/s) w porównaniu do nieaktywnych osób (prędkość chodu $1,0 \pm 0,1$ m/s).

2. Aktywny styl życia istotnie wpływa na profil odpornościowego ryzyka IRP → stosunek $CD4/CD8$ w przedziale referencyjnym między ≥ 1 a $\leq 2,5$ stwierdzono u około 60% aktywnych fizycznie, podczas gdy odwrócony stosunek $CD4/CD8$ (wartości < 1) obserwowano głównie w grupie nieaktywnych fizycznie seniorów.

3. Niska aktywność fizyczna i wysoka zawartość tkanki tłuszczowej nasilają immunosenescencję i stwarzają szczególne ryzyko zaburzeń metabolicznych u osób starszych → zawartość tkanki tłuszczowej wysoko korelowała z liczbą $CD4+$ i $CD4+CD45O+$ w grupie nieaktywnych osób.

Wnioski są interesujące i o dużym znaczeniu praktycznym z perspektywy promocji profilaktyki immunosenescencji. Jednak z uwagi na obowiązki recenzenta zawracam uwagę na wydzwięk przewodni wszystkich trzech wniosków, które bezpośrednio i każdorazowo odnoszą się do terminów: „aktywny styl życia”, „niska aktywność fizyczną”, czy wreszcie „aktywność fizyczna podejmowana przez całe życie” jako determinantów oszacowanych

różnic. W rzeczywistości jednak poziom aktywności fizycznej, zarówno aktualny, jak i retrospektywnie w ciągu poprzednich lat życia badanych nie był przedmiotem badań.

Na podkreślenie zasługuje wyjątkowa staranność edytorska w przygotowaniu wszystkich elementów dysertacji, przejrzystość tabel i rycin. Praca napisana jest starannym i poprawnym językiem polskim.

Reasumując stwierdzam, że Doktorantka wywiązała się ze wszystkich zadań, jakie zostały postawione w celach pracy. Uzyskane wyniki są wartościowe i nowatorskie. Rozprawę doktorską Pani mgr Anny Tylutki oceniam pozytywnie.

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszelkie wymagania określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 roku, poz. 1668). W związku z powyższym, przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Anny Tylutki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.