

## OPINIA

### **Analiza osiągnięć dorobku naukowego dr n. med. Bogdana Jakiela w postępowaniu habilitacyjnym w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne w Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum w Krakowie**

#### **1. Dane biograficzne i przebieg pracy zawodowej**

Dr n. med. Bogdan Jakiela ukończył Wydział Lekarski Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum w Krakowie w 2000r, tam także uzyskał dyplom doktora nauk medycznych – w 2008 (Tytuł rozprawy doktorskiej: „Wpływ deksametazonu na reaktywności limfocytów krwi obwodowej u chorych na ciężką i trudną astmę oskrzelową”; Promotor: Prof. dr hab. Marek Sanak). Uzyskał dyplom specjalizacji w zakresie diagnostyki laboratoryjnej wydany przez Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi (2015).

Był pracownikiem Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie jako asystent (2004 do 2011) i adiunkt (od 2011) w II Katedrze Chorób Wewnętrznych im. Profesora Andrzeja Szczeklika, oraz Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie na Oddziale Klinicznym Kliniki Alergii i Immunologii (2002-2004, lekarz asystent), Zakładzie Diagnostyki (2009-2015, lekarz rezydent).

#### **2. Ocena osiągnięcia naukowego**

Osiągnięcie naukowe o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm. zatytułowane jest: „**Funkcje immunologiczne nabłonka dróg oddechowych w etiopatogenezie astmy**”, i oparte o cykl 6 publikacji opublikowanych w latach 2008-2023, o łącznym IF 44,901, w których opiniowany jest pierwszym autorem:

1. Jakiela B, Brockman-Schneider R, Amineva S, Lee WM, Gern JE. Basal cells of differentiated bronchial epithelium are more susceptible to rhinovirus infection. Am J Respir Cell Mol Biol. 2008;38:517-23.

2. Jakiela B, Gielicz A, Plutecka H, Hubalewska M, Mastalerz L, Bochenek G, Soja J, Januszek R, Musial J, Sanak M. Eicosanoid biosynthesis during mucociliary and mucous metaplastic differentiation of bronchial epithelial cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2013;106:116-23.
3. Jakiela B, Gielicz A, Plutecka H, Hubalewska-Mazgaj M, Mastalerz L, Bochenek G, Soja J, Januszek R, Aab A, Musial J, Akdis M, Akdis CA, Sanak M. Th2-type cytokine-induced mucus metaplasia decreases susceptibility of human bronchial epithelium to rhinovirus infection. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;51:229-41.
4. Jakiela B, Rebane A, Soja J, Bazan-Socha S, Laanesoo A, Plutecka H, Surmiak M, Sanak M, Sladek K, Bochenek G. Remodeling of bronchial epithelium caused by asthmatic inflammation affects its response to rhinovirus infection. *Sci Rep.* 2021;11:12821.
5. Jakiela B, Soja J, Sladek K, Przybyszowski M, Plutecka H, Gielicz A, Rebane A, Bochenek G. Heterogeneity of lower airway inflammation in patients with NSAID-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147:1269-1280.
6. Jakiela B, Soja J, Sladek K, Przybyszowski M, Plutecka H, Gielicz A, Licholai S, Aab A, Rebane A, Bochenek G. Bronchial epithelial cell transcriptome shows endotype heterogeneity of asthma in patients with NSAID-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2023;151:953-965

Habilitant wskazuje na znaczny indywidualny wkład w przytoczonych pracach jak: udział w opracowaniu planu badania, optymalizacja metod pobrania i zabezpieczenia materiału biologicznego, zaplanowanie zakresu badań laboratoryjnych, wykonanie oznaczeń ekspresji genów (walidacja danych sekwencjonowania za pomocą qPCR), obrazowanie mikroskopowe (BALF), wykonane analizy cytometryczne, analiza części danych transkryptomu (ścieżki, asocjacje, tSNE), wykonanie doświadczeń in vitro (model hodowli nabłonka), opracowanie i analiza uzyskanych wyników, udział w przygotowaniu manuskryptu.

Liczba publikacji: 6

Liczba publikacji w czasopismach należących do Q1 (wg JCR): 4

Liczba publikacji w czasopismach należących do Q2 (wg JCR): 2

Suma Impact Factor: 44,901

W omówieniu osiągnięcia Habilitant wskazuje, że głównym celem badań było wyjaśnienie, w jaki sposób zapalenie dróg oddechowych w astmie prowadzi do przebudowy nabłonka oskrzelowego i czy te zmiany spowodują zmianę funkcji obronnych nabłonka.

Procesy te Habilitant odtwarzał in vitro dzięki zastosowaniu hodowli organotypowych nabłonka oskrzelowego w połączeniu z różnymi modelami ekspozycji na cytokiny i wirusy oddechowe, naśladując środowisko zapalne. Aby potwierdzić, dysfunkcję nabłonka obserwowaną w warunkach laboratoryjnych analizował także tkanki pobrane z oskrzeli.

Następnie starał się określić endotypy astmy w oparciu o zmiany ekspresji genów w nabłonku oskrzelowym pobranym za pomocą wymazów szczotkowych; a także wyjaśnić, czy profile immunologiczne wykrywane ex vivo wiążą się z określonymi fenotypami klinicznymi i zapalnymi astmy.

Habilitant wskazuje, że wykonane prace były wynikiem badań przeprowadzonych w II Katedrze Chorób Wewnętrznych UJ CM, dzięki współpracy z lekarzami z ww jednostki, z partnerskimi ośrodkami zagranicznymi, a także dzięki wsparciu Narodowego Centrum Nauki.

Badania nad funkcją nabłonka dróg oddechowych rozpoczął podczas stażu na Uniwersytecie Wisconsin, podczas którego zebrał materiał badawczy będący podstawą pierwszej pracy z prezentowanego cyklu. Jednym z zadań badawczych Habilitanta było odtworzenie in vitro, nabłonka odzwierciedlającego złożoną strukturę tkanki obserwowaną in vivo, z zastosowaniem hodowli na granicy faz płyn-powietrze (ang. ALI, air-liquid interface) na cienkich błonach porowatych, a następnie sprawdzenie, jak uszkodzenie nabłonka zmodyfikuje jego podatność na zakażenie rinowirusem (RV).

**Główną innowacją w porównaniu z wcześniejszymi badaniami było zastosowanie zdefiniowanych pożywek hodowlanych, co znacznie ułatwiło odtworzenie nabłonka o typowej morfologii dróg oddechowych.**

Habilitant w badaniach potwierdził, że zróżnicowany nabłonek dróg oddechowych może być mniej wrażliwy na RV, a komórki podstawne są bardziej wrażliwe na zakażenie zarówno wirusem RV-A1a jak i RV-A16 w porównaniu z komórkami powierzchniowymi. Co ciekawe, nabłonek zróżnicowany dość łatwo ulegał zakażeniu RV, pomimo mniejszej końcowej replikacji wirusa w porównaniu z dzielącymi się HBEC.

**Wynik ten sugeruje, że dojrzały nabłonek posiada skuteczniejsze mechanizmy przeciwwirusowe lub może je szybciej uruchamiać.**

W dalszych badaniach Habilitant wykazał, że replikacja wirusa zwiększa się również w nabłonku poddanym różnego rodzaju uszkodzeniom, takim jak odwarstwienie lub ubytek pełnej grubości. Najbardziej podatny na zakażenie był nabłonek ze złuszczoną warstwą komórek powierzchniowych, gdzie replikacja RV-A1a była około 50 razy wyższa niż w kontroli. Wykazał również wyższą ekspresję ICAM-1, receptora dla RV-B i większości genotypów RV-A (tzw. grupy większej), na powierzchni komórek podstawnych w porównaniu z powierzchniowymi.

**Dane te wskazują, że uszkodzenia nabłonka spowodowane czynnikami środowiskowymi, takimi jak np. dym tytoniowy lub smog, mogą prowadzić do odstąpienia dzielących się komórek podstawnych, co zwiększa wrażliwość na zakażenie RV.** Ponadto uszkodzenia nabłonka mogą również wystąpić wskutek ekspozycji na wolne rodniki i białka toksyczne uwalniane przez komórki zapalne, co zwiększa reaktywność oskrzeli podczas zakażeń wirusowych u chorych na astmę.

Habilitant w kolejnych badaniach sprawdzał czy przebudowa nabłonka związana z zapaleniem astmatycznym zmieni wrażliwość na zakażenie RV i zmodyfikuje samą odpowiedź antywirusową. **Utworzył do tego celu kriobank komórek HBEC od chorych na astmę.** We współpracy z Zespołem Kliniki Pulmonologii II Katedry Chorób Wewnętrznych **zoptymalizował techniki pobrania komórek nabłonka oskrzelowego** (wymazy szczotkowe i powierzchniowe biopsje śluzówki) **oraz opracował wydajne metody izolacji HBEC. Opracował również dwa podstawowe modele zmian strukturalnych nabłonka związanych z działaniem cytokin T2.**

Celem drugiej pracy z cyklu habilitacyjnego było sprawdzenie, w jakim stopniu taki model hodowli odzwierciedla metaplazję komórek kubkowych obserwowaną in vivo, jaka jest jego stabilność i możliwości wykorzystania do oceny uwalnianych mediatorów zapalnych. Testował również przydatność modelu do badania procesów regeneracji nabłonka, tj. przywracania

prawidłowej struktury po zakończeniu ekspozycji na cytokiny zapalne. W tym badaniu wykorzystano komórki pochodzące od siedmiu dawców nie chorujących na astmę.

**Głównym wnioskiem tego badania była obserwacja, że homeostaza mediatorów lipidowych w błonie śluzowej dróg oddechowych zależy od stopnia zróżnicowania i integralności nabłonka oraz nasilenia zmian strukturalnych związanych z działaniem cytokin prozapalnych.** Wskazał, że , długotrwały niedobór prostaglandyn, który obserwowano na etapie regeneracji nabłonka z metaplastją, może sprzyjać przewlektemu zapaleniu i dalszej przebudowie dróg oddechowych

**Uzyskane wyniki pozwoliły również zoptymalizować metody hodowli nabłonka,** które wykorzystano w kolejnym projekcie, w którym Habilitant sprawdzał, jak przebudowa nabłonka związana z zapaleniem astmatycznym wpłynie na wrażliwość nabłonka na zakażenie wirusowe. **Badania wykazały, że w prawidłowym nabłonku miejscem replikacji RV-A16 są niemal wyłącznie komórki rzęskowe, co było pierwszą tego typu obserwacją,** potwierdzoną potem przez inne ośrodki badawcze. Ponadto Habilitant stwierdził, że zmniejszenie liczby komórek rzęskowych oraz obecność lepkiego śluzu (z zaburzoną proporcją MUC5AC i MUC5B), utrudniającego penetrację RV do powierzchni komórek, może być przyczyną zmniejszonej wrażliwości na zakażenie nabłonka wykazującego cechy metaplastji śluzowej.

W czwartym badaniu z cyklu habilitacyjnego Habilitant sprawdzał, w jaki sposób przebudowa związana z działaniem cytokin modyfikuje odpowiedź przeciwwirusową. W celu odtworzenia warunków zapalenia nie związanego z odpowiedzią T2 (tzw. astma T2-low), niektóre nabłonki inkubowano z IL-17A lub TGF- $\beta$ 1.

**Uzyskane wyniki wskazały, że mechanizmy przeciwwirusowe nabłonka nie są wyjściowo upośledzone u chorych na astmę, jak sugerowały niektóre z wcześniejszych badań, ale mogą wystąpić jeśli utrzymuje się stan zapalny dróg oddechowych, co może mieć miejsce np. w astmie ciężkiej, podczas zaostrzeń, lub u chorych z częściową kontrolą objawów.**

Celem dwóch ostatnich prac z prezentowanego cyklu habilitacyjnego zrealizowanych w ramach projektu NCN, było zbadanie endotypów immunologicznych astmy, z uwzględnieniem choroby dróg oddechowych przebiegającej z nadwrażliwością na aspirynę i inne leki z grupy inhibitorów cyklooksygenazy-1 (N-ERD, ang. NSAID-exacerbated respiratory disease).

**Najważniejszą innowacją tych prac była analiza profilów immunologicznych astmy z wykorzystaniem materiału biopsyjnego pobranego z dolnych dróg oddechowych, tzn. bez wykorzystania biomarkerów zastępczych do oceny rodzaju zapalenia.**

Badania objęły chorych na astmę bez i z N-ERD, oraz zdrowych; u wszystkich wykonano bronchoskopię z płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym do oceny zapalenia w BALF oraz pobraniem wymazu szczotkowego oskrzeli do oceny ekspresji genów .

**Potwierdzono znaczną heterogenność zarówno profilów cytokin jak i mediatorów lipidowych u chorych na astmę, również w obrębie N-ERD.** Najważniejszą zmienną wyróżniającą wariant eozynofilowy N-ERD był stosunek LTE4 do 5-HETE, co wskazuje na przesunięcie metaboliczne w szlaku 5-LOX, ściśle zależne od obecności określonych komórek zapalnych w drogach oddechowych.

W ostatniej pracy cyklu Habilitant scharakteryzował endotypy immunologiczne astmy w oparciu o analizę transkryptomu komórek nabłonka. Dokonał zintegrowania danych klinicznych, cytologicznych i molekularnych chorych, a także we współpracy z partnerskim ośrodkiem

Uniwersytetu Tartu (RNA Biology Group) wykonał sekwencjonowanie RNA komórek nabłonka z wymazów szczotkowych oskrzeli.

**Uzyskane dane umożliwiły podział wszystkich chorych na endotypy immunologiczne. Odkryto duże zróżnicowanie immunologiczne astmy ze współistniejącą nadwrażliwością na aspirynę.** Oprócz typowego wariantu T2, u części chorych z N-ERD, szczególnie z astmą ciężką, stwierdzono występowanie nowo opisanego endotypu prozapalnego. Stwierdzono także, że ekspresja genów związanych z odpowiedzią T2 w oskrzelach była niższa u chorych na astmę leczonych steroidami i słabo skorelowana z liczbą eozynofiliów we krwi.

Efektom badania była propozycja korekty liczby eozynofiliów ( $>350$  kom./ $\mu\text{L}$  do  $>150$  kom./ $\mu\text{L}$ ) jako progu kwalifikacyjnego do leczenia biologicznego w astmie ciężkiej, co pozwoliłoby zwiększyć około 50% liczbę chorych, u których faktycznie występuje profil T2 lub zapalenie eozynofili w oskrzelach i którzy mogliby skorzystać z terapii anty-IL-4Ra.

#### Podsumowanie

Cykl prezentowanych prac omawia mechanizm i kluczową rolę nabłonka dróg oddechowych w kształtowaniu odpowiedzi zapalnej w astmie. Habilitant podjął skuteczną próbę wyjaśnienia, w jaki sposób uszkodzenie nabłonka oskrzeli i jego przebudowa wywołana przez cytokiny zapalne zmieniają podatność na zakażenie rinowirusowe. Odkrył, że w dojrzałym nabłonku dróg oddechowych RV-A zakaża komórki rzęskowe, podczas gdy uszkodzenie nabłonka dodatkowo odstawia bardzo wrażliwe na RV komórki podstawne. Habilitant odtworzył zmiany struktury i transkryptomu charakterystyczne dla dróg oddechowych u chorych na astmę. Scharakteryzował też endotypy immunologiczne astmy w oparciu o transkryptom nabłonka oskrzelowego. Unikatowe było również odkrycie wariantu astmy ciężkiej ze zwiększoną ekspresją genów prozapalnych w oskrzelach, a także nowe dane wskazujące na znaczną zmienność immunologiczną u chorych na astmę N-ERD.

Wyniki badań mają przełożenie na zastosowania kliniczne i mogą zostać użyte do lepszego fenotypowania astmy w aspekcie leczenia biologicznego.

Nie ulega wątpliwości, że przedstawiony przez Habilitanta cykl publikacji stanowi w myśl art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). kompleksowe, spójne i zgodne z kierunkiem badań nowoczesnej immunologii i alergologii osiągnięcie naukowe. Na szczególne podkreślenie zasługuje wybór istotnego tematu prac, konsekwencja z jaką Habilitant realizował cele, zastosowanie, a nawet stworzenie nowoczesnych metod badawczych - jak np. Utworzenie kriobanku komórek HBEC od chorych na astmę, zoptymalizowanie technik pobrania komórek nabłonka oskrzelowego (wymazy szczotkowe i powierzchniowe biopsje śluzówki), opracowanie wydajnej metody izolacji HBEC, oraz modeli zmian strukturalnych nabłonka związanych z działaniem cytokin.

### 3. Ocena działalności naukowo-badawczej

Poza prezentowanym powyżej spójnym cyklem prezentowanych osiągnięć Habilitant posiada

Sumaryczny IF z całego dorobku – 294,571

Liczba cytowań – 1,448

Bez autocytowań – 1,395

Indeks Hirscha – 19

Na podkreślenie zasługuje bogate doświadczenie Habilitanta we współpracy z ośrodkami zagranicznymi jak: staż na Uniwersytecie Wisconsin w ramach stypendium National Heart, Lung and Blood Institute (2006) z późniejszą współpracą z Gern Research Group (2007-2008);

współpraca z SIAF (Davos) w ramach realizacji Polsko-Szwajcarskiego Projektu Badawczego PSPB-072/2010 i późniejszych badań (2011-2023) w zakresie badań nad odpowiedzią nabłonka dróg oddechowych na różne bodźce środowiskowe, czy

współpraca z RNA Biology Group (Uniwersytet w Tartu), w ramach realizacji projektów NCN Opus (2013-2023), w których wspólnie z RNA Biology Group (kierownik Prof. Ana Rebana ana.rebane@ut.ee) badano odpowiedź antywirusową, miRNA w nabłonku dróg oddechowych oraz endotypy astmy.

Habilitant był kierownikiem 2 grantów (NCN Opus i Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego) oraz wykonawcą w 3 kolejnych związanych z cyklem prac habilitacyjnych, a także wykonawcą kilku innych (NCN, Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego) dotyczących m. in. toczenia rumieniowatego układu, chorób naczyń, czy mięśniówki oskrzeli w astmie.

Jest pierwszym autorem 9 prac oryginalnych (IF 19,685) i współautorem kolejnych 38 w latach 2008-2023, współautorem 6 listów do redakcji i współautorem jednej pracy poglądowej.

Pozycję w środowisku naukowym Habilitanta podkreśla też fakt bycia pierwszym autorem 11 doniesień zjazdowych i współautorem kolejnych 16 w latach 2008-2021.

Uczestniczył w zespole NCN oceniającym wnioski o finansowanie badań w 2015 r

## 6. Wniosek końcowy

Przedstawiony dorobek naukowy, organizatorski (stworzenie metod badawczych, współpracy zagranicznej, kierowania grantami), spełnia wymogi stawiane osobom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

Na tej podstawie stawiam formalny wniosek o dopuszczenie dr n med. Bogdana Jakięta do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.