

Wioletta Barańska-Rybak, dr hab. n. med.

Gdańsk, 22.12.2016r.

Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii

Gdański Uniwersytet Medyczny

ul. Kliniczna 1A

80-402 Gdańsk

## OCENA

rozprawy doktorskiej lek. med. Magdaleny Ciężyńskiej pt.

„Rola wybranych białek zaangażowanych w proces fotodestrukcji skóry w patogenezie raka podstawnocomórkowego”

Niemelanocytowe nowotwory skóry stanowią ponad 95% wszystkich nowotworów skóry. Dostępne piśmiennictwo wskazuje, że rak podstawnocomórkowy jest najczęściej diagnozowanym nowotworem skóry, a odsetek BCC wśród całej grupy raków tego organu szacuje się na 70-80%. Mimo licznych badań naukowych, etiologia rozwoju BCC wciąż pozostaje niejasna. Wiadome jest, że powstanie nowotworu wymaga interakcji wielu czynników, zarówno wewnątrz jak i zewnątrzkomórkowych. Czynnikiem genetycznym mogącym również wpływać na powstanie raka podstawnocomórkowego są polimorfizmy genów związanych z nadwrażliwością na działanie promieniowania ultrafioletowego. Do tej grupy genów zaliczamy m.in. kodujące transferynę glutationy-S (*GSTT1*, *GSTM1*, *GSTM3*, *GSTP1*), cytochrom P450 (*CYP2D6*) czy receptor dla melanokortyny-1 (*MC1R*). W rozwoju raków podstawnocomórkowych ważną rolę odgrywa także przewlekłe narażenie na działanie czynników kancerogennych takich jak nafta, pestycydy, arsen czy smoły węglowe. W aspekcie nowotworów skóry istotnym zagadnieniem wydaje się wpływ promieniowania ultrafioletowego na poziom ekspresji białek, które uczestniczą w procesach regulacji cyklu komórkowego, których zaburzenie może predysponować do rozwojów nowotworów skóry. W kontekście wzrostu zachorowań na BCC uzasadnione wydaje się prowadzenie badań, mających

na celu dogłębne zrozumienie patogenezы tego nowotworu oraz odkrycie nowych metod zarówno terapeutycznych jak i prewencyjnych w tej jednostce chorobowej.

Lek. med. Magdalena Ciężyńska podjęła się pracy, której celem było przeprowadzenie badań mających określić rolę krótkiej i ostrej ekspozycji oraz ekspozycji przewlekłej UVB na ekspresję wybranych białek oraz porównanie uzyskanych wyników z grupą kontrolną, jak i również z grupą ze stwierdzonym histopatologicznie BCC. W świetle niepełnej wiedzy dotyczącej patogenezы BCC oraz trudności terapeutycznych wynikających zarówno z postaci klinicznej nowotworu, poziomu jego zaawansowania oraz trudnego do przewidzenia ryzyka wznowy, problem badawczy podjęty przez lek. med. Magdalenę Ciężyńską jest w pełni uzasadniony i aktualny. Pomimo licznych badań dotyczących poznania podłoża rozwoju raków podstawnokomórkowych, prowadzonych w świecie w minionym dziesięcioleciu, wiele zagadnień pozostaje jeszcze niewyjaśnionych. W związku z powyższym, zaplanowane przez Doktorantkę badania mogą stanowić cenny wkład w poszerzenie wiedzy na temat patogenezы BCC i przyczynić się do opracowania nowych, celowanych metod terapeutycznych ukierunkowanych molekularnie.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Magdaleny Ciężyńskiej, składająca się ze 124 stron maszynopisu ma typowy układ dla tego typu opracowań. Zawiera 8 tabel, 49 rycin oraz 253 pozycji piśmiennictwa, w większości pochodzącego z ostatnich lat. Składa się z następujących rozdziałów: wstępu, założeń i celów pracy, materiału i metodyki, analizy statystycznej, wyników, ich omówienia, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim, spisu tabel i rycin oraz piśmiennictwa. Szczególnie godnym uwagi jest zebranie na końcu rozprawy licznie używanych skrótów, co w znaczny sposób ułatwia czytelnikowi śledzenie poszczególnych części rozprawy doktorskiej.

W obszernym wstępie Doktorantka wprowadza czytelnika w tematykę podjętego problemu badawczego przedstawiając współczesne poglądy na temat patogenezы BCC, postaci klinicznych, cech histopatologicznych, możliwości prewencji i aktualnych metod terapeutycznych. Dużą część wstępu poświęca na wyjaśnienie roli patogenetycznej promieniowania UV w rozwoju BCC oraz roli wybranych białek, takich jak TGF- $\beta$ , MMP 1,3,8, 9, Smad, katepsyna K i progeryna w procesie fotodegeneracji i rozwoju BCC.

Opracowany starannie wstęp, oparty na aktualnym, dobrze dobranym pod względem merytorycznym piśmiennictwie stanowi wyczerpujące wprowadzenie Czytelnika do badań własnych Doktorantki.

Założenia pracy są sformułowane w sposób jasny i w pełni uzasadniają celowość przeprowadzonych badań. Szczegółowe cele pracy zostały ujęte w 3 punktach. Badania zostały zaplanowane prawidłowo, wszystkie cele rozprawy są zrealizowane co świadczy o umiejętności planowania badań naukowych przez lek. med. Magdalenę Ciążyńską.

Kolejny rozdział rozprawy – Materiał i metody – został opracowany w sposób bardzo dokładny. Badaniem objęto 953 osoby rasy kaukaskiej, które podzielono na : Grupę A obejmującą 890 pacjentów, leczonych w Klinice Dermatologii i Wenerologii UM w Łodzi z powodu raka podstawnokomórkowego skóry w latach 1999-2015, z której wyodrębniono grupę A1 złożoną z 22 pacjentów z rozpoznaniem histopatologicznie BCC w latach 2013-2015, którzy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu (12 kobiet, 10 mężczyzn, średnia wieku 64 lata). U wszystkich pacjentów z grupy A1 pobrano wycinki skóry ze zmian chorobowych w celu analizy ekspresji białek TGF- $\beta$ , Smad, MMP, katepsyny K, progeryny. Grupę B stanowiło 63 ochotników (34 kobiety, 29 mężczyzn) wybranych w sposób losowy uwzględniając wiek i płeć ze zgłaszających się do Poradni przy Klinice Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi ochotników wyrażających chęć wziąć udział w badaniu. Osoby te podzielono na 4 grupy w zależności od schematu naświetlań jakimi byli poddani:

- B1: grupa nienaświetlana, stanowiącej grupę kontrolną – 22 osoby
- B2: ochotnicy poddani miejscowej ekspozycji (skóra pośladka 10x10cm) na rumieniotwórczą dawkę 3MED (*minimal erythrema dose*, MED) – 13 osób
- B3: ochotnicy, u których całe ciało zostało naświetlone przewlekłymi i nierumieniotwórczymi dawkami UVB przez 10 kolejnych dni ( $10 \times 0,7\text{MED}$ ) – 14 osób
- B4: ochotnicy poddani przez 10 kolejnych dni naświetlaniom przewlekłymi i nierumieniotwórczymi dawkami UVB ( $10 \times 0,7\text{MED}$ ) z następującą, pojedynczą, miejscową aplikacją rumieniotwórczą dawką 3MED (skóra pośladka 10x10cm – 14 osób.

Od wszystkich 63 ochotników zostały pobrane wycinki niezmienionej skóry pobierane z okolicy pośladka, celem określenia poziomu ekspresji białek TGF- $\beta$ , Smad, MMP, katepsyny, progeryny.

Zarówno we wszystkich grupach naświetlanych jak i w grupie kontrolnej wykonano próby świetlne wykorzystując promieniowanie UVB, natomiast analizy ekspresji białek (TGF- $\beta$ , Smad, MMP, katepsyny K, progeryny) w bioptatach skóry dokonano przy użyciu techniki Western-blot. Zastosowana metodologia odpowiada obecnym standardom prowadzenia tego

rodzaju badań i nie budzi żadnych zastrzeżeń. Lek. med. Magdalena Ciążyńska z wielką precyzją zapoznała również Czytelnika z techniką wykonywania w/w badań.

Drobna uwaga recenzenta dotyczy sekcji Materiały i metody na str. 38 : autorka podzieliła grupę kontrolną na 5 grup, po czym przedstawione są 4 grupy, streszczenie natomiast zawiera już właściwy podział na 4 grupy.

Wyniki badań zostały przejrzysto opisane i graficznie przedstawione w postaci tabel i wykresów, co umożliwia czytelnikowi zrozumienie podstawowych przesłanek pracy. Zastrzeżenia Recenzenta budzi Tabela nr 7 na str. 54 dotycząca lokalizacji poszczególnych podtypów BCC z podziałem na płeć – doktorantka używa w niej raz nomenklatury anglojęzycznej raz polskiej – np. „nodular, superficiale „, w kontekście typu BCC, po czym w kolejnych kolumnach : „, pozostałe, razem”. Proponowałabym ujednoczenie nomenklatury na język polski. Dotyczy to również tekstu rozprawy, gdzie typy BCC pisane są naprzemiennie w języku polskim i angielskim. Uwagi te nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy.

Zwraca uwagę kompleksowość i mnogość dokonanych analiz, co zdaniem Recenzenta jest dużym walorem ocenianej rozprawy. Analiza statystyczna wyników nie budzi zastrzeżeń.

Wyniki własne Doktorantki wykazały w analizie retrospektywnej danych epidemiologicznych BCC w badanych latach utrzymującą się tendencję wzrostową częstości zachorowań na BCC. Wykazano również, iż wśród obu płci najczęstszym typem BCC był nBCC, a kolejnym pod względem częstości sBCC. Najczęstszą lokalizacją sBCC był tułów, natomiast nBCC nieowłosiona skóra głowy, a sBCC występowały znacząco częściej w młodszej grupie wiekowej niż nBCC. Wykazano istotnie statystycznie wyższą ekspresję zarówno TGF- $\beta$  jak i białka Smad2 w preparatach ze stwierdzonym BCC, w stosunku do bioptatów skóry zdrowej pobranej od grupy kontrolnej. W badaniu własnym, stwierdzono także istotne różnice w poziomie ekspresji MMP-1,-3,-9 pod wpływem zastosowania różnych dawek promieniowania UVB oraz w materiale z rozpoznanym BCC. Stwierdzono ponadto, iż do istotnego statystycznie zwiększenia ekspresji MMP-1 jak i MMP-3 w stosunku do kontroli wystarczają już nawet subbrumieniotwórcze dawki promieniowania UV. W badaniach własnych nie stwierdzono wzrostu ekspresji MMP-8 zarówno w komórkach BCC jak i w grupach naświetlanych, a wzrost ekspresji katepsyny K obserwowany był we wszystkich badanych przypadkach BCC w stosunku do grupy kontrolnej. We wszystkich poddanych analizie biopatach stwierdzono ekspresję progeryny, która była istotnie statystycznie wyższa we wszystkich przypadkach BCC w stosunku do pozostałych próbek.

Omówienie wyników jest obszerne. Doktorantka wykazała, że bardzo dobrze przeanalizowała dostępne piśmiennictwo. O dużej dojrzałości naukowej lek. med. Magdaleny Ciężyńskiej świadczy krytyczna ocena wyników badań własnych oraz ostrożna ich interpretacja w świetle najnowszych doniesień literaturowych przedstawiona w dyskusji.

Całość rozprawy jest podsumowana czterema logicznymi, dobrze przemyślanymi wnioskami, konsekwentnie wypływającymi z przeprowadzonych badań. Według mojej oceny wszystkie wnioski są trafne i ważne oraz stanowią znaczącą wartość praktyczną.

Rozprawę zamykają zwięzłe streszczenie w języku polskim i angielskim, bardzo obszerne, aktualne piśmiennictwo, ściśle związane z tematyką prowadzonych badań, obejmujące 253 pozycje oraz spis tabel i rycin. Praca jest napisana bardzo dobrą polszczyzną z niewielką ilością błędów edytorskich.

Podsumowując, rozprawa doktorska lek. med. Magdaleny Ciężyńskiej wskazuje na staranne przeprowadzenie badań nad rolą wybranych białek zaangażowanych w proces fotodestrukcji skóry w patogenezie raka podstawnokomórkowego. Doktorantka wykazała się głęboką znajomością problematyki stanowiącej przedmiot rozprawy, zebrała wartościowy materiał kliniczny, poczyniła wiele istotnych obserwacji oraz prawidłowo sformułowała wnioski wynikające z przeprowadzonych badań. Rozprawa dokumentuje, że Doktorantka jest dobrze przygotowana do prowadzenia dalszych prac badawczych.

Na tej podstawie stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska lekarz Magdaleny Ciężyńskiej „Rola wybranych białek zaangażowanych w proces fotodestrukcji skóry w patogenezie raka podstawnokomórkowego” spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim określonym w art. 11 ustawy o tytule naukowym i stopniach naukowych. W związku z tym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego UM w Łodzi pozytywną ocenę rozprawy wraz z wnioskiem o dopuszczenie lek. med. Magdaleny Ciężyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i jednocześnie wnoszę o wyróżnienie rozprawy ze względu na jej wysoki poziom naukowy.

Dr hab. n. med. *Wioletta Barańska-Rybak*  
specjalista chorób wenerycznych i dermatologii