

# Katedra i Klinika Neurologii

## Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Kierownik Katedry i Kliniki  
Prof. dr hab. n. med. Konrad Rejdak

ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin  
Tel. 81 7244 720  
fax. 81 724 45 40

Katedra i Klinika Neurologii  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
Ul. Jaczewskiego 3  
20-954 Lublin

Lublin, 2017.04.26

### Recenzja

pracy doktorskiej lek. med. Igora Selmaja pt.: **"Rola mechanizmów eksportu zewnątrzkomórkowego małych niekodujących RNA w przebiegu autoimmunologicznej demielinizacji w stwardnieniu rozsianym"** pod promotorstwem dr hab. n. med. Marcina Mycko

Główna teoria tłumacząca patogenezę SM opiera się na koncepcji autoimmunologicznej. Pacjenci mają uwarunkowaną genetycznie predyspozycję do zaburzonej reaktywności układu odpornościowego. Na tym podłożu nieznany czynnik etiologiczny aktywuje obwodowo układ immunologiczny i powoduje uruchomienie reakcji autoagresji przeciwko własnym strukturom centralnego układu nerwowego. To prowadzi do przenikania tych komórek do ośrodkowego układu nerwowego i tworzenia ognisk zapalnych zlokalizowanych wokół naczyń krwionośnych. Dalsza aktywacja komórek w obrębie CUN oraz uruchomienie całej kaskady procesów patologicznych prowadzi do rozległego uszkodzenia struktur istoty białej oraz postępującego zaniku mózgowia i rdzenia kręgowego. Obraz patologiczny wskazuje, że istotą procesu chorobowego jest powstawanie ognisk demielinizacji z wtórnym przerostem komórek glejowych oraz uszkodzeniem wypustek aksonalnych w obrębie szlaków nerwowych. W miarę postępu choroby obszary uszkodzenia powiększają się i zaznacza się postępujący zanik CUN, będący główną przyczyną nieodwracalnego deficytu neurologicznego. Należy pamiętać, że uruchamiane są jednocześnie mechanizmy ochronne oraz regeneracji, które warunkują powrót funkcji neurologicznych i mogą być szczególnie aktywne w przypadkach o łagodnym przebiegu choroby.

Pomimo wprowadzenia metod terapii modulujących reakcje immunologiczne, co wpływa na opóźnienie narastania nieodwracalnego deficytu neurologicznego u pacjentów, niestety nadal nie ma skutecznego leczenia przyczynowego mogącego zahamować lub odwracać procesy patologiczne towarzyszące SM. Tak heterogenna i złożona patogenetycznie choroba wymaga precyzyjnych metod diagnozowania i monitorowania jej aktywności i postępu. Technika rezonansu magnetycznego pozostaje złotym standardem w tym zakresie ale brakuje metod o wyższej specyficzności dla poszczególnych składowych procesów patologicznych aby indywidualizować postępowanie u

# Katedra i Klinika Neurologii

## Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Kierownik Katedry i Kliniki  
Prof. dr hab. n. med. Konrad Rejdak

ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin  
Tel. 81 7244 720  
fax. 81 724 45 40

pacjentów. Dlatego też, konieczne jest poszukiwanie nowych metod w oparciu o materiał biologiczny dostępny od chorych.

Autor w swej pracy postawił sobie za cel uzyskanie nowych informacji na temat roli egzosomalnego miRNA w komunikacji międzykomórkowej oraz określenie nowych mechanizmów molekularnych kontrolowanych przez egzosomy w SM. Następnie przeprowadził identyfikację korelacji między poszczególnymi egzosomalnymi miRNA a aktywnością SM w celu wykrycia potencjalnych nowych biomarkerów diagnostycznych i prognostycznych SM.

W dalszej kolejności autor w sposób bardzo logiczny i przemyślany formułuje szczegółowe cele niniejszej dysertacji:

- Zebranie materiału biologicznego i izolacja egzosomów i egzosomalnego miRNA od chorych na SM oraz od dobranych pod względem płci i wieku osób zdrowych.
- Jakościowa i ilościowa ocena wyizolowanych egzosomów i uzyskanego całkowitego egzosomalnego RNA i miRNA.
- Określenie ilościowe i jakościowe profilu egzosomalnego RNA z wykorzystaniem metody wysokoprzepustowego sekwencjonowania (Next Generation Sequencing).
- Potwierdzenie wyników profilowania egzosomalnego miRNA uzyskanego za pomocą NGS poprzez profilowanie wybranych miRNA w egzosomach surowicy uzyskanych od nowej, niezależnej grupy chorych na SM i niezależnej, dobranej pod względem wieku i płci grupy kontrolnej wykorzystując technikę cyfrowej ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (digital PCR); identyfikacja ewentualnego powiązania poziomów poszczególnych egzosomalnych miRNA.
- Ocena zawartości egzosomów wydzielanych in vitro przez jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PMBC) u pacjentów chorych na SM i osób zdrowych z grupy kontrolnej.
- Ocena korelacji miRNA o zróżnicowanej ekspresji w SM z obrazem rezonansowym i aktywnością kliniczną i rezonansową choroby.
- Bioinformatyczne określenie potencjalnych mRNA regulowanych przez ujawnione w poprzednich etapach egzosomalne miRNA.

# Katedra i Klinika Neurologii

## Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Kierownik Katedry i Kliniki  
Prof. dr hab. n. med. Konrad Rejdak

ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin  
Tel. 81 7244 720  
fax. 81 724 45 40

Do realizacji wyżej wymienionych celów autor zaprojektował protokół badania, w którym kolejno weryfikuje swoje hipotezy naukowe.

Z najwyższym uznaniem odnoszę się do bardzo dokładnego i logicznego schematu przeprowadzonej analizy z zastosowaniem najnowocześniejszych technik badawczych. Przyjęte metody badawcze zgodne są z międzynarodowymi standardami tego typu badań naukowych. Autor przeprowadził szczegółową i dobrze dobraną metodykę statystyczną analizując uzyskiwane wyniki.

Opis wyników jest bardzo staranny i klarowny stanowiąc logiczną konsekwencję podjętych metod badawczych.

W podobnym układzie, doktorant przeprowadził dyskusję uzyskanych wyników odnosząc się do dostępnej literatury w piśmiennictwie światowym.

**W tym miejscu z obowiązku recenzenta pragnę wyrazić kilka uwag:**

Zachęcałbym do uszczegółowienia danych klinicznych zawartych w Tabeli 1 z charakterystyką pacjentów np. jak długi średnio był okres remisji w grupie „nieaktywnej”, ile średnio rzutów klinicznych w okresie np. 1 roku poprzedzającego włączenie do badania, w jakim czasie wykonywano MRI w relacji do pobrania materiału do badania, jakie leki przyjmowali pacjenci włączeni do badania od momentu rozpoznania choroby (uwzględniając długoczasowe działanie wybranych preparatów jak np. w terapii indukcyjnej).

Autor sformułował wnioski bezpośrednio podsumowujące uzyskane wyniki na podstawie kolejnych etapów swoich prac analitycznych na końcu rozdziału Dyskusja:

- Otrzymane wyniki wskazują na istotnie obniżoną ekspresję hsa-miR-122-5p, hsa-miR-196b-5p, hsa-miR-301a-3p i hsa-miR-532-5p w egzosomach w surowicy u chorych na rzutową postać SM.
- Obniżenie ekspresji tych miRNA korelowało z aktywnością choroby, ocenianą zarówno klinicznie jak i radiologicznie.
- Wyniki te upoważniają do rozważenia zidentyfikowanych 4 miRNA jako biowskaźników SM. Dodatkowo, wyniki tej pracy dostarczają nowych danych na temat zaburzeń transportu międzykomórkowego w SM mediowanych przez egzosomy oraz potwierdzają, iż miRNA mogą odgrywać istotną rolę w regulacji reakcji immunologicznych w tej chorobie.

Praca stanowi kontynuację badań w Katedrze i Klinice Neurologii UM w Łodzi dotyczących patogenezy stwardnienia rozsianego, w ramach prac zespołu kierowanego przez Pana dr hab.

# Katedra i Klinika Neurologii

## Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Kierownik Katedry i Kliniki  
Prof. dr hab. n. med. Konrad Rejdak

ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin  
Tel. 81 7244 720  
fax. 81 724 45 40

Marcina Mycko. Ośrodek neurologiczny w Łodzi stworzony przez prof. dr hab. n. med. Krzysztofa Selmaja jest słynny i niezwykle ceniony za granicą. Bez wątpienia jest to jeden z wiodących ośrodków referencyjnych na poziomie europejskim w dziedzinie chorób zapalnych układu nerwowego o profilu klinicznym jak i naukowym. Jest to kolejna nowatorska praca powstała w tym ośrodku, wnosząca oryginalne i ciekawe wyniki do stanu wiedzy o potencjalnych biowskaźnikach do monitorowania choroby. Wobec dużego nakładu pracy oraz przestudiowania znaczącej literatury czego wyrazem jest 185 pozycji piśmiennictwa, Doktorant nie uniknął drobnych błędów stylistycznych oraz interpunkcyjnych. Niemniej jednak te drobne błędy oraz nieściśności, w niczym nie umniejszają nowatorskiego i odkrywczego charakteru niniejszej rozprawy doktorskiej. Pragnę wyrazić opinie, że jest to jedna z najwybitniejszych prac doktorskich jakie recenzowałem lub poznałem w ostatnich kilku latach powstałych w dziedzinie nauk neurologicznych.

Dlatego też, mam zaszczyt wnosić do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. med. Igora Selmaja do dalszych etapów przewodu doktorskiego w trybie **z wyróżnieniem**.

Z poważaniem,

KIEROWNIK  
Katedry i Kliniki Neurologii  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
Prof. dr hab. n. med. Konrad Rejdak

