



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego
Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii
Kierownik : Prof. dr hab. n.med. Jacek Szepietowski
Ul. Chałubińskiego 1, 50-368 Wrocław
Tel. +4871/327-09-41 Fax. +4871/327-09-42
e-mail: dermwen@umed.wroc.pl <http://www.derm.umed.wroc.pl>

Wrocław, 2018-05-10

Ocena rozprawy doktorskiej lek. med. Katarzyny Juczyńskiej pt. „Ekspresja białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT w wybranych autoimmunologicznych podnaskórkowych chorobach pęcherzowych” przygotowana na zlecenie Dziekanatu Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Katarzyny Juczyńskiej liczy 115 stron wydruku komputerowego. Tekst rozprawy podzielony jest na klasyczne części tego rodzaju opracowań tj. wprowadzenie, założenia i cele pracy, materiał i metody, wyniki wraz z ich omówieniem, dyskusję, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo i spis tabel i rycin. Aby zakończyć tę opisową część mojej recenzji dodam że:

1. piśmiennictwo jest bardzo bogate – liczy 274 dobrze dobranych i prawidłowo cytowanych pozycji, w tym wielu autorów polskich
2. wyniki przedstawiono w 12 tabelach szczegółowo opisanych

3. rozprawa zawiera 22 ryciny w tym także zdjęcia mikroskopowe

Badania funkcjonowania komórek na poziomie molekularnym pozwoliły na opisanie białek zewnątrzkomórkowych mających znaczenie w patogenezie wielu chorób dermatologicznych. Dalszym etapem tych dociekań było wyprodukowanie przeciwciał skierowanych przeciwko czynnikom prozapalnym takim jak np. TNF-alfa, IL-17 czy IL-13 i przeprowadzenie ich przez wszystkie etapy badań klinicznych, aż do ich rejestracji. Leki te są stosowane w leczeniu ciężkich dermatoz np. rozległej łuszczycy czy atopowego zapalenia skóry. Zainteresowanie badaczy wzbudziły też cząsteczki wewnątrzkomórkowe, będące elementami wewnątrzkomórkowego układu przekaźnikowego JAK/STAT. Układ ten stanowią białka wykorzystywane przez wiele cytokin do wpływu na ekspresję genów przez które dokonują się procesy aktywacji, proliferacji i różnicowania komórek. Po przyłączeniu się do aktywnych domen receptora i późniejszej dimeryzacji zostają odłączone od receptora, a następnie wiążą się z DNA odpowiedniego miejsca genu promotorowego, aktywując proces transkrypcji genów. Nieprawidłowości w działaniu ścieżki sygnałowej, mutacje i polimorfizmy w obrębie białek JAK/STAT mają udział w patomechanizmie wielu zapalnych chorób takich jak reumatoidalne zapalenie stawów czy wrzodziejące zapalenie jelita. Można założyć że lista ta jest o wiele dłuższa, gdyż badania ścieżki sygnałowej JAK/STAT są w początkowej fazie. Białka te zostały opisane i zbadane dopiero na przełomie XX i XXI wieku, a opublikowane dotychczas badania dowiodły, że ścieżka sygnałowa JAK/STAT jest jednym z głównych szlaków komunikacji międzykomórkowej, przekazującym sygnał od cytokin czy innych immunologicznie aktywnych cząsteczek do jądra komórkowego wpływając na transkrypcję docelowych genów.

Rozprawa doktorska lek. med. Katarzyny Juczyńskiej koncentruje się na

badaniu wybranych białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT u chorych na pemfigoid pęcherzowy i opryszczkowate zapalenie skóry. Są to pierwsze takie badania na świecie. Zarówno w pemfigoidzie pęcherzowym jak i opryszczkowatym zapaleniu skóry udowodniono występowanie nacieków zapalnych jednakże o odmiennym charakterze. W pemfigoidzie pęcherzowym dominują eozynofile, a neutrofile w opryszczkowatym zapaleniu skóry. Odmienny jest też udział cytokin w procesie chorobowym w tych jednostkach. Te przesłanki doprowadziły autorkę do skryzalizowania celu pracy. Został on przedstawiony w czterech punktach. Zawiera on oprócz określenia ekspresji wybranych białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT zarówno w skórze zmienionej chorobowo jak i w skórze pozornie niezmięnionej występowanie tych białek u osób zdrowych. Autorka analizuje również badane białka sygnałowe pod kątem ich roli jako markerów aktywnej fazy chorób autoimmunologicznych skóry. Materiał i metody zostały przedstawione w następnym rozdziale. Dobrano je odpowiednio do założonych celów. Zakres badań jest szeroki co wskazuje na dużą biegłość Doktorantki w znajomości oraz sprawność w posługiwaniu się warsztatem badawczym w biologii molekularnej komórki. Kandydatka używała odczynników i substratów ze znanych renomowanych firm. Opis zastosowanych metod jest na tyle szczegółowy, że umożliwia powtórzenie przeprowadzonych doświadczeń. Wyniki badań przedstawiono na 28 stronach. Rozdział ten zawiera dwie części. W pierwszej zaprezentowano wyniki badań immunohistochemicznych, a w drugiej uzyskane metodą immunoblotingu. Wartości immunoekspresji badanych białek u chorych z pemfigoidem pęcherzowym, opryszczkowatym zapaleniem skóry i osób zdrowych przedstawiono przejrzysto w tabelach. Charakterystyczne obrazy immunohistochemiczne przedstawiają mikrofotografie mikroskopowe. Podobnie czytelnie i przejrzysto przedstawiono

wyniki badań białek sygnałowych wykonane metodą Western blot. Wszystkie odczyty pomiarów zostały wyrażone w postaci średniej +/- odchylenie standardowe. Różnice pomiędzy grupami zostały określone przy pomocy klasycznych metod statystycznych. Obliczenia wykonano korzystając z oprogramowania Statistica wersja 10.

W swojej pracy lek. med. Katarzyna Juczyńska wykazała między innymi, że immunoekspresja białek ścieżki JAK/STAT w zdrowym naskórku wskazuje na niezbędną pewnego poziomu tych białek do funkcjonowania tej tkanki. Natomiast zróżnicowana ekspresja sugeruje funkcjonalną różnorodność tej specyficznej grupy białek sygnałowych. Bardzo interesującym wynikiem jest stwierdzenie wzmożonej aktywności białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT w zmianach chorobowych w pemfigoidzie pęcherzowym i opryszczkowatym zapaleniu skóry. W pemfigoidzie pęcherzowym najwyższa ekspresja dotyczyła JAK 2, a w opryszczkowatym zapaleniu skóry STAT 3 i STAT 4. W zmianach chorobowych w obu dermatozach ekspresja białek ścieżki JAK/STAT była wyższa niż w otoczeniu zmian zapalnych. Generalnie bardzo pozytywnie oceniam poziom merytoryczny zamieszczonych w rozprawie wyników, a także sposób ich prezentacji. Strona edytorska pracy nie budzi zasadniczo zastrzeżeń, stosunkowo nieliczne błędy literowe i stylistyczne nie umniejszają jej jakości.

Dyskusja zawierająca omówienie uzyskanych wyników jest obszerna i obejmuje 26 stron. Dyskusja ma charakter wszechstronny i wyczerpujący, należy do mocnych elementów rozprawy. Autorka umie precyzyjnie określić wartość uzyskanych w trakcie realizacji projektu wyników, oszacować stopień zrealizowanego celu i umiejscowić swoje osiągnięcia na tle aktualnego stanu wiedzy w badanym przedmiocie. Kandydatka dyskusję kończy podsumowaniem wyników i próbą

wyjaśnienia różnic pomiędzy ekspresją poszczególnych białek JAK i STAT w pemfigoidzie pęcherzowym i opryszczkowatym zapaleniu skóry. Dysertację kończą wnioski. Za najistotniejsze uważam:


- 1.) Wykazanie wzmożonej aktywacji białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT w zmianach chorobowych w pemfigoidzie i opryszczkowatym zapaleniu skóry.
- 2.) Wykazanie wyższej ekspresji JAK 2 pemfigoidzie pęcherzowym oraz STAT 3, STAT 4 w opryszczkowatym zapaleniu skóry z powiązaniem tego zjawiska z różnym charakterem nacieków zapalnych w obu chorobach.
- 3.) Wskazanie ścieżki z JAK/STAT jako punktu uchwytu dla leków w pemfigoidzie i opryszczkowatym zapaleniu skóry.

Jako recenzent chciałem też zasugerować kilka uzupełnień:

- 1.) strona 21 – brak jest charakterystyki grupy kontrolnej jeżeli chodzi np. o występowanie autoimmunologicznych chorób pęcherzowych w rodzinie, należałoby także przed przygotowaniem manuskryptu uzupełnić odchylenia standardowe przy wieku badanych pacjentów
- 2.) strona 23 – nie widzę we wstępie ani w metodach podanego uzasadnienia dla użycia przeciwciał skierowanych tylko przeciwko JAK 3 i STAT 2,4,6 w badaniu immunohistochemicznym. Czy wynika to z ich dostępności, czy też są jakieś inne powody takiego wyboru?
- 3.) strona 26 – należałoby umieścić dla porównania zdjęcia z kontroli ujemnej i dodatniej dla przedstawionych w tym rozdziale zdjęć, gdyż subiektywna ocena badania immunohistochemicznego może być przedmiotem dyskusji lub pytań od recenzentów przygotowanego z pracy manuskryptu.

Rozprawa doktorska lek. med. Katarzyny Juczyńskiej podejmuje istotny problem naukowy z dziedziny biologii molekularnej komórki. Problem tak ważny, że ma on potencjalne znaczenie praktyczne w poszukiwaniu nowych leków w terapii chorób o podłożu autoagresyjnym. Badania zostały poprawnie zaplanowane, wykonane i zinterpretowane, a uzyskane wyniki są niewątpliwie cennym wkładem Autorki do wiedzy przedmiotu. Doktorantka wykazała się nie tylko dużą wiedzą, ale też sprawnością eksperymentatora, jak i umiejętnością krytycznej analizy wyników.

Na tej podstawie stwierdzam że rozprawa doktorska lek. med. Katarzyny Juczyńskiej pt. „Ekspresja białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT w wybranych autoimmunologicznych podnaskórkowych chorobach pęcherzowych” spełnia wszystkie ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim (określone w artykule 13 Ustawy o Tytułach i Stopniach Naukowych). Mam więc zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pozytywną ocenę rozprawy wraz z wnioskiem o dopuszczenie lek. med. Katarzyny Juczyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z uwagi na wysoką wartość poznawczą rozprawy oraz wzorowe jej wykonanie wnioskuję o jej wyróżnienie.


dr hab. Wojciech Baran
profesor nadzwyczajny
specjalista dermatolog i wenerolog
Wrocław, ul. Kochanowskiego 57/2
tel. 600-065-707 8560975

dr hab. Wojciech Baran

prof. nadzw. UM we Wrocławiu