



**WOJSKOWY INSTYTUT MEDYCZNY  
CENTRALNY SZPITAL KLINICZNY MON**

ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa

**Klinika Dermatologiczna**

tel. +48 261 816 241; tel./fax: +48 261 817 187

Warszawa. 03.09.2018

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza Kamili  
Ociepy**

W przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej lek. Kamili Ociepy pt.: „Ocena ekspresji wybranych białek ścieżki JAK/STAT w dermatozach o podłożu autoimmunologicznym z zajęciem błony śluzowej jamy ustnej” postawiono sobie za cel zbadanie ekspresji wybranych białek tzn. JAK3, STAT2, STAT4, STAT6 w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej osób chorych na pęcherzycę zwykłą, pemfigoid pęcherzowy, liszaj płaski, przewlekłe wrzodziejące zapalenie jamy ustnej, określenie roli tych białek w różnicowaniu profilu cytokinowego i nacieku zapalnego oraz wskazanie markerów mogących mieć udział w ocenie aktywności ww. chorób. Należy zaznaczyć, że patogeneza tych chorób nie jest do końca poznana i wciąż jest przedmiotem badań. Autoimmunizacja jest reakcją immunologiczną organizmu skierowaną przeciwko antygenowi lub grupie własnych antygenów. Rozwój chorób autoimmunologicznych jest zatem złożonym procesem zaburzeń, w których udział biorą zarówno autoreaktywne komórki jak i wydzielane przez nie cytokiny. Połączenie cytokiny z receptorem na powierzchni błony komórkowej inicjuje proces przenoszenia sygnału z receptorów do jądra komórkowego, co wywołuje transkrypcję określonych genów. Zdecydowana większość sygnałów przekazywana jest za pośrednictwem ścieżki sygnałowej JAK/STAT. Wytworzenie odpowiedzi związanej z aktywacją transkrypcji lub zainicjowaniu

apoptozy nosi nazwę transdukcji sygnału. Grupa białek JAK stanowi przetwornik sygnału, natomiast białka STAT stanowią ścieżkę transdukcji sygnału. Działanie tych białek wiąże się ze wzrostem, różnicowaniem i apoptozą komórek. Prowadzone obecnie badania nad znaczeniem zaburzeń funkcjonowania ścieżki JAK/STAT wskazują na jej istotną rolę w patogenezie chorób o podłożu autoimmunologicznym. Do chwili obecnej brak jest badań oceniających ekspresję białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT w autoimmunologicznych chorobach błon śluzowych jamy ustnej. Wybór przez doktorantkę tematu pracy uważam zatem za szczególnie trafny i zgodny z oczekiwaniami. Warto zaznaczyć, że w dostępnym piśmiennictwie jest niewiele doniesień na temat wybrany przez doktorantkę, a badania przeprowadzano głównie na modelu zwierzęcym i in vitro, co potwierdza wartość poznawczą pracy lek. Kamili Ociepy. W przyszłości rozprawa może mieć również wymiar praktyczny. Świadczy to umiejętności doktorantki planowania badań naukowych.

Rozprawa ma klasyczny podział na rozdziały – wstęp, cele badawcze, materiał i metody, wyniki, dyskusja oraz wnioski zgodnie z wymogami formalnymi zawartymi w Ustawie o Stopniach i Tytułach naukowych (Dz.U. 2003 nr 65 poz. 595). Zawiera łącznie 95 stron tekstu, 24 ryciny i 9 tabel. W pracy znajduje się odniesienie do 219 pozycji piśmiennictwa.

Wstęp zawiera opis etiopatogenezy, obrazu klinicznego i epidemiologii pęcherzycy zwykłej, pemfigoidu pęcherzowego i pemfigoidu błon śluzowych, liszaja płaskiego jamy ustnej oraz przewlekłego wrzodziejącego zapalenia błony śluzowej jamy ustnej. Zawiera również szczegółowe informacje dotyczące ścieżki transdukcji sygnału JAK/STAT. Uzupełnienie rozdziału pierwszego stanowią informacje dotyczące roli ścieżki JAK/STAT w patogenezie chorób o podłożu autoimmunologicznych oraz tabela wpływu wybranych cytokin na aktywację kinaz JAK i białek STAT. Rozdział pierwszy zawiera zatem istotną wiedzę stanowiącą podstawę teoretyczną podjętych badań.

Rozdział drugi zawiera prawidłowo sformułowane i podane w czterech punktach cele badawcze tzn.:

1. Określenie ekspresji wybranych białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT: JAK3, STAT2, STAT4, STAT6 w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej osób chorych na pęcherzycę zwykłą, pemfigoid pęcherzowy, liszaj płaski oraz przewlekłe wrzodziejące zapalenie jamy ustnej.
2. Określenie ekspresji wybranych białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT: JAK3, STAT2, STAT4, STAT6 w nabłonku błony śluzowej jamy ustnej osób zdrowych.

3. Określenie roli wybranych białek ścieżki JAK/STAT w różnicowaniu profilu cytokinowego i nacieku zapalnego w wybranych chorobach.

4. Wskazanie białek ścieżki JAK/STAT mogących stanowić marker wybranych autoimmunologicznych chorób błony śluzowej w ich aktywnej fazie.

W rozdziale trzecim i czwarty opisane zostały materiał i metodykę badań. W badaniu uczestniczyło ostatecznie 67 pacjentów Kliniki Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Zakładu i Poradni Peridontologii i Chorób Błony Śluzowej Jamy Ustnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Grupę pacjentów z pęcherzycą zwykłą stanowiło 8 osób, z pemfigoidem 11 osób, z liszajem płaskim 38 osób, a z CUS 5 osób. Grupę kontrolną stanowiło 5 osób bez zmian patologicznych na błonach śluzowych, które miały pobieraną śluzówkę w trakcie innych procedur stomatologicznych. Rozpoznanie pęcherzycy zwykłej, pemfigoidu pęcherzowego, liszaja płaskiego nadżerkowego oraz CUS ustalono na podstawie wywiadu, obrazu klinicznego oraz badań histopatologicznych i immunologicznych (DIF oraz IIF). W całej ocenianej grupie wykonano retrospektywną analizę ekspresji immunohistochemicznej oraz ich wzajemnej zależności białek: JAK3, STAT2, STAT4 i STAT6. Ostateczny wynik wykonanej analizy stanowiła suma procentu komórek zabarwionych oraz intensywności barwienia na podstawie wykonanej oceny półilościowych. Metodyka badań jest prawidłowo dobrana do postawionych celów pracy. W miejscu tym brakuje mi jednak schematu przedstawiającego kolejność wykonanych analiz, który znacząco poprawiłby przejrzystość i stanowił uzupełnienie opisanego materiału.

W rozdziale piątym przedstawiono wyniki otrzymane w trakcie przeprowadzonych badań. Podzielony jest na jedenaście podrozdziałów, w których przedstawiono ocenę ekspresji JAK3, STAT2, STAT4 oraz STAT6 w poszczególnych grupach chorych i grupie kontrolnej oraz ich zależności pomiędzy analizowanymi grupami. W podrozdziałach znajduje się tabele i ryciny przedstawiające analizę statyczną z komentarzem w pełni umożliwiającym ich zrozumienie oraz podsumowania w rozdziałach od 5.6 do 5.11. Uzupełnieniem niektórych podrozdziałów są ryciny przedstawiające wyniki immunohistochemiczne. W przeprowadzonym badaniu wykazano statystycznie istotne różnice w ekspresji STAT2 w grupie chorych na CUS oraz liszaj płaski w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono różnic w ekspresji STAT2 w grupie chorych na pemfigoid oraz pęcherzycę zwykłą. Wykazano, że ekspresja STAT4 w wycinkach z błony śluzowej u chorych z pęcherzycą zwykłą oraz pemfigoidem jest statystycznie istotnie wyższa w porównaniu do ekspresji w grupie chorych

na CUS, liszaj płaski oraz w grupie kontrolnej. Analizując ekspresję STAT6 stwierdzono statystycznie istotną różnicę pomiędzy grupą chorych na pemfigoid, pęcherzycę zwykłą oraz liszaj płaski a grupą kontrolną. Ocena ekspresji JAK3, wykazała jej istotnie statystycznie wyższy poziom u chorych na pęcherzycę zwykłą i pemfigoid pęcherzowy w porównaniu do chorych na CUS, liszaj płaski oraz grupy kontrolnej. W podrozdziale 5.11 przedstawiono tabele wzorów ekspresji JAK3, STAT2, STAT4 i STAT6 otrzymanych dla analizowanych poszczególnych grup chorych.

Rozdział szósty to dyskusja. W części tej w sposób rzetelny doktorantka porównała wyniki badań własnych z dostępnymi w piśmiennictwie oraz wynikami badań innych autorów. Dane piśmiennictwa wskazują, że prawidłowe funkcjonowanie i utrzymanie równowagi immunologicznej zdrowego naskórka może być zależne od obecności pewnego poziomu ekspresji JAK/STAT w jego strukturach. Doktorantka zaznacza, że poprzez analogię można założyć, że również prawidłowe funkcjonowanie i utrzymanie równowagi immunologicznej zdrowego nabłonka może zależeć od obecności pewnego poziomu ekspresji białek JAK/STAT. Dostępne dane wskazują, że wzrost ekspresji białka JAK3 ma miejsce przede wszystkim w limfocytach T, które to mediują reakcje zapalne ogrywające kluczową rolę w etiopatogenezie PV, BP i LP. Przeprowadzone w niniejszej pracy badania potwierdzają rolę JAK3 w patomechanizmie tych chorób. Białko STAT2 pod względem budowy oraz funkcji jest najbardziej odmiennym elementem rodziny białek STAT, jak również najsłabiej poznanym elementem ścieżki sygnałowej JAK/STAT. Przeprowadzona w pracy ocena wykazała istotnie zwiększoną ekspresję STAT2 w biopsjach pochodzących ze zmian na błonach śluzowych w liszaju płaskim i przewlekłym wrzodziejącym zapaleniu błony śluzowej jamy ustnej. Dane piśmiennictwa wskazują, że białko STAT2 jako mediator reakcji prozapalnej mediowanej przez interferon  $\alpha$  i  $\beta$  może pełnić istotną rolę w patogenezie liszaja płaskiego. Wyniki badań przeprowadzone przez Doktorantkę potwierdzają tę tezę. Otrzymane w trakcie badań wyniki wykazały zwiększoną immunoekspresję STAT4 w pęcherzycy zwykłej i w pemfigoidzie pęcherzowym. Doktorantka trafnie dokonała analizy otrzymanego wyniku, przy braku bezpośrednich danych, za pomocą oceny mechanizmów immunologicznych zaangażowanych w patogenezie tych chorób. Podobnej analizę wykonano w przypadku oceny ekspresji STAT6. Dotychczas nie opisano profilu cytokinowego zaangażowanego w patogenezę CUS. Dlatego analiza dotyczące oceny tego zagadnienia wydaje się równie istotna.

Rozdział szósty zawiera również cztery wnioski mające istotną wartość poznawczą i mogące mieć znaczenie w praktyce klinicznej tzn.:

1. Ekspresja wybranych białek ścieżki JAK/STAT w zdrowym nabłonku pozwala przypuszczać, iż pewien konstytutywny poziom aktywności białek JAK3, STAT2, STAT3 i STAT6 jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania nabłonka.

2. Na podstawie analizy uzyskanych wyników badań wykazano wzmożoną aktywację białek ścieżki sygnałowej JAK/STAT w zmianach chorobowych w pemfigoidzie pęcherzowym, pęcherzycy zwykłej, liszaju płaskim i przewlekłym wrzodziejącym zapaleniu błony śluzowej jamy ustnej, co świadczy o jej udziale w patogenezie wybranych jednostek chorobowych.

3. Różnice pomiędzy ekspresją białek STAT w zmianach chorobowych w pemfigoidzie i w pęcherzycy zwykłej (brak wzmożonej ekspresji STAT2) a CUS i LP (brak wzmożonej ekspresji STAT4) mogą mieć związek z inną patogenezą tych chorób i odmiennym mechanizmem tworzenia się nacieków zapalnych.

4. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że ścieżka JAK/STAT może być punktem uchwytu dla leków stosowanych w opisanych jednostkach chorobowych.

Pozostałe rozdziały zawierają streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo oraz spis rycin i tabel. Wykaz zastosowanych skrótów umieszczono przed wstępem.

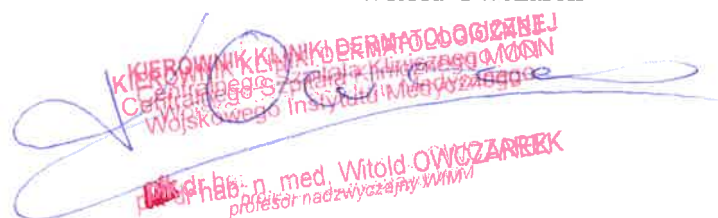
Lekarz Kamila Ociepa dyplom lekarza uzyskała w 2011 roku. Aktualnie jest w trakcie specjalizacji z dermatologii i wenerologii, którą realizuje w Klinice Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Doktorantka jest autorem i współautorem trzech pełnych publikacji, z których w jednej doktorantka jest pierwszym autorem.

W podsumowaniu należy podkreślić, że wyniki pracy stanowią istotny wkład w uzupełnieniu wiedzy dotyczącej etiopatogenezy chorób autoimmunologicznych zajmujących błonę śluzową jamy ustnej. Zaznaczyć należy również, że praca ma charakter nowatorski, ponieważ w piśmiennictwie jest niewiele doniesień na temat roli ścieżki JAK/STAT w rozwoju tych chorób. Uzyskane wyniki mogą w dalszej perspektywie zostać wykorzystane w celu zastosowania nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych chorób autoimmunologicznych przebiegających z zajęciem błon śluzowych, co znalazło odzwierciedlenie we wniosku numer 4. Chciałbym także podkreślić ilość pracy wykonanej przez doktorantkę w trakcie zbierania i opracowywania danych pacjentów tego

retrospektywnego badania chorych na jednak relatywnie rzadkie choroby jakimi są pęcherzyca zwykła, pemfigoid błon śluzowych, liszaj płaski jamy ustnej oraz przewlekłe wrzodziejące zapalenie błony śluzowej jamy ustnej. Zakres całej pracy tzn. zaplanowanie i wykonanie badań, prowadzona dyskusja i opracowane wnioski oraz dorobek naukowy doktorantki jest w mojej ocenie wystarczający dla uzyskania stopnia doktora nauk medycznych. Wnoszę więc do Wysokiej Rady Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Kamili Ociepy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

Witold Owczarek



KIEROWNIK KLINIKI DERMATOLOGICZNEJ  
Czynnego Szpitala Klinicznego  
Wojskowego Instytutu Medycznego

dr hab. n. med. Witold OWCZAREK  
profesor nadzwyczajny