



**Recenzja pracy doktorskiej lek. Karoliny Malinowskiej-Łukaszewskiej
pt. „Wpływ fototerapii UVA1 na aktywność kliniczną i wybrane mediatory zapalenia u
chorych na atopowe zapalenie skóry”**

Atopowe zapalenie skóry jest (AZS) jest jedną z najczęstszych dermatoz zapalnych. Ocenia się, że w krajach wysoko rozwiniętych choroba może występować nawet u blisko 20-30% dzieci. Choć z wiekiem u wielu osób objawy choroby zanikają, to nadal AZS stwierdzane jest u około 1-2% osób dorosłych. W patogenezie AZS podstawową rolę odgrywa uwarunkowany genetycznie defekt bariery naskórkowej, m.in. dotyczący genu filagryny, prowadzący do zwiększonej przenikalności w głąb naskórka wielu różnych substancji i alergenów zewnątrzpochodnych, co skutkuje powstaniem stanu zapalnego i wtórnej alergizacji. W ostatnich latach zwrócono także uwagę na zmniejszoną bioróżnorodność flory bakteryjnej skóry osób z AZS i zdecydowaną przewagę kolonizacji skóry tych osób przez *Staphylococcus aureus*. Wydzielane przez *St. aureus* proteazy przyczyniają się do dodatkowego uszkodzenia bariery naskórkowej, natomiast wiele innych toksyn (m.in. α -toksyna, proteina A, rozpuszczalne w fenolu moduliny) uszkadza lub stymuluje keratynocyty do wydzielania szeregu cytokin prozapalnych, co przyczynia się do dalszego nasilenia stanu zapalnego.

Chociaż w okresie ostatnich 10-20 lat znacząco poszerzyła się wiedza na temat patogenyzy AZS, co przyczyniło się do opracowania nowych strategii leczniczych opartych o blokowanie wybranych cytokin prozapalnych, zwłaszcza interleukiny 4 i 13, to nadal wiele aspektów leżących u podłoża tej choroby pozostaje niejasnych i wymaga dalszych badań. Niepełne rozumienie patogenyzy schorzenia skutkuje również ograniczoną liczbą dostępnych, a przede wszystkim skutecznych metod terapii tej niezwykle złożonej i trudnej w leczeniu jednostki chorobowej.

Fototerapia stanowi jedną z najstarszych i nadal bardzo szeroko stosowanych w dermatologii metod leczniczych. Początki fototerapii sięgają starożytnego Egiptu, gdzie chorym ze schorzeniami dermatologicznymi zalecano helioterapię. Obecnie fototerapia głównie opiera się na wykorzystaniu sztucznych promienników światła i nadal jest metodą



terapii, która znajduje zastosowanie w leczeniu wielu przewlekłych dermatoz zapalnych, w tym łuszczyca, liszaj płaskiego czy AZS. Fototerapia jest uważana za bezpieczną metodę leczenia, choć u niektórych chorych, zwłaszcza z tzw. niskim fototypem skóry, w wyniku zastosowanego leczenia odnotowuje się czasami poparzenie skóry pod postacią piekącego rumienia i sporadycznie wystąpienia zmian pęcherzowych. Promieniowanie ultrafioletowe jest także potencjalnym czynnikiem karcynogennym, przyczyniającym się do powstawania nowotworów złośliwych skóry, w tym raka podstawnokomórkowego czy czerniaka złośliwego. Z tego powodu nadal poszukuje się bezpieczniejszych, a jednocześnie równie skutecznych alternatywnych metod fototerapii. Jedną z nich jest promieniowanie UVA1, którego zastosowanie, z uwagi na znacznie większe długości fali, praktycznie nie wiąże się z ryzykiem poparzeń, a jego potencjał karcynogeny jest nieporównanie mniejszy niż krótszych długości fal promieniowania ultrafioletowego. Mając powyższe na względzie uważam, że podjęty przez Doktorantkę temat pracy doktorskiej, mającej na celu zbadanie wpływu promieniowania UVA1 na wybrane mediatory zapalenia u chorych na AZS jest słuszny, ciekawy i zgodny z obecnymi trendami naukowymi na świecie.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska ma układ typowy dla tego typu prac naukowych. Maszynopis liczy 135 stron i składa się ze spisu treści, wstępu, celów pracy, opisu materiału i zastosowanych metod badawczych, wyników, dyskusji, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim, spisu piśmiennictwa, wykazu skrótów oraz spisu rycin i tabel. W pracy zamieszczono 8 zestawień tabelarycznych oraz 101 rycin, które stanowią cenne uzupełnienie omawianych zagadnień, opisu metod badawczych i uzyskanych wyników. Podział tekstu na podrozdziały porządkuje tekst i ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z poszczególnymi fragmentami rozprawy doktorskiej.

We wstępie lek. Karolina Malinowska przedstawia czytelnikowi obraz kliniczny i kryteria diagnostyczne AZS, epidemiologię schorzenia oraz omawia patomechanizm tej dermatozy, ze szczególnym uwzględnieniem roli mediatorów stanu zapalnego i białek przeciwbakteryjnych. W drugiej części wprowadzenia omówione zostało znaczenie fototerapii w leczeniu AZS, zwłaszcza zastosowania promieniowania UVA1. Wstęp obejmuje łącznie 21 stron maszynopisu, jest oryginalnym podsumowaniem aktualnego stanu wiedzy i umożliwi czytelnikowi zrozumienie istoty i znaczenia tematyki podjętych przez Doktorantkę badań.



W oparciu o dokonany przegląd piśmiennictwa Autorka trafnie formułuje trzy cele badawcze, które obrazują kierunek badań, w oparciu o który przygotowano rozprawę doktorską. Celami pracy doktorskiej było:

1. Określenie skuteczności fototerapii UVA1 u chorych na atopowe zapalenie skóry
2. Zbadanie wpływu fototerapii UVA1 na ekspresję mRNA genów dla czynników prozapalnych u chorych na AZS
3. Zbadanie korelacji pomiędzy poziomami mRNA dla poszczególnych cytokin prozapalnych.

Sformułowane cele pracy badawczej są zasadne i generalnie zostały trafnie ujęte, są możliwe do zrealizowania i świadczą o umiejętności planowania badań naukowych przez Doktorantkę. Szkoda jednak, że Autorka nie dokonała analizy wpływu ekspresji mRNA poszczególnych cytokin na ocenione nasilenie AZS w badanej grupie chorych.

W kolejnym rozdziale rozprawy doktorskiej Doktorantka zapoznaje czytelnika z charakterystyką ocenianej populacji chorych oraz zastosowanymi metodami badawczymi, zarówno w odniesieniu do oceny nasilenia procesu chorobowego, jak i metod wykorzystanych do analizy ekspresji mRNA wybranych cytokin prozapalnych. Do badania włączono początkowo 58 osób, jednak ostatecznie biopsje skóry przed i po leczeniu wykonano jedynie u 25 chorych. Zatem ocena ekspresji wybranych cytokin prozapalnych przed i po leczeniu w skórze atopowej możliwa była jedynie w tej grupie pacjentów. Mając na względzie, że w tabelach 2 do 4 Autorka zamieściła ocenę nasilenia choroby (wynik skali SCORAD, nasilenie świądu, poziom jakości życia) dla odpowiednio 58 osób (pacjenci zakwalifikowani do badania), 36 osób (chorzy, którzy ukończyli cykl leczenia UVA1) i 25 osób (chorzy, u których zbadano wpływ fototerapii UVA1 na zmianę ekspresji mRNA wybranych cytokin prozapalnych), należy zaznaczyć, że podobny podział powinien znaleźć się w podrozdziale III.1 opisującym dystrybucję wieku i płci włączonych do badania chorych. W obecnym kształcie pracy w rozdziale III.1 Doktorantka odnosi się tylko do całej grupy 58 chorych. Ponadto warto, poza medianą i kwartylami, podać jednak wartości skrajne (min.-maks.) analizowanych parametrów klinicznych w danych grupach pacjentów dla pełnego obrazu charakteryzowanej populacji.

Dobór metod oceny nasilenia procesu chorobowego jest właściwy, a protokół naświetlań UVA1 zgodny z obecnie obowiązującymi zasadami. W ocenie ekspresji mRNA poszczególnych cytokin prozapalnych Autorka wykorzystwała komercyjnie dostępne zestawy



badawcze. Przy opisie reakcji odwrotnej transkrypcji nie ustrzegła się drobnego błędu odnoszącego się do jednostek – zamiast mikrogram powinno być mikrolitry danego substratu reakcyjnego, zgodnie ze wskazaniem w tabeli 5. Ponadto przy opisie reakcji PCR należałoby wskazać sekwencję starterów użytych do przeprowadzenia amplifikacji materiału genetycznego.

W wyniku przeprowadzonego leczenia z wykorzystaniem fototerapii UVA1 lek. Karolina Malinowska wykazała znaczącą poprawę kliniczną w odniesieniu do wszystkich analizowanych parametrów klinicznych. Ponadto wykazano, że w wyniku zastosowanego leczenia zmniejszenie ekspresji mRNA dotyczyło TSLP (*Thymic Stromal Lymphoprotein*), TARC (*Thymus and Activation Regulation Chemokine*), natomiast zwiększoną ekspresję mRNA po leczeniu odnotowano w stosunku do IL-4 oraz IL-8. Ekspresja mRNA pozostałych cytokin prozapalnych nie różniła się w istotnym stopniu przed i po cyklu terapii UVA1. Analizując uzyskane przez Doktorantkę wyniki należy zwrócić przede wszystkim uwagę na nieco zaskakujący wzrost ekspresji mRNA dla IL-4 po cyklu leczenia naświetlaniami UVA1. IL-4 jest obecnie uważana za jedną z głównych cytokin uczestniczących w podtrzymaniu stanu zapalnego w AZS, a nowe leki stosowane w AZS (m.in. dupilumab) mają na celu zahamowanie jej aktywności. Warto byłoby zatem sprawdzić, czy poziom ekspresji mRNA dla tej cytokiny korelował z nasileniem atopowego zapalenia skóry przed i po leczeniu, a w przyszłości dodatkowo ocenić, czy zaobserwowanemu wzrostowi poziomu ekspresji mRNA dla IL-4 jednocześnie towarzyszy wzrost stężenia samej IL-4. Można domniemywać, że UVA1 może wpływać na produkcję białek nie tylko na poziomie ekspresji mRNA, ale także na etapie translacji czy też w trakcie obróbki potranslacyjnej białek.

Oceniając uzyskane wyniki należy także wspomnieć, że zarówno przed, jak i po przeprowadzonym cyklu fototerapii UVA1 ekspresja mRNA większości cytokin prozapalnych silnie ze sobą korelowała. Powyższa obserwacja może być tłumaczona faktem, że nie u wszystkich pacjentów zastosowana metoda leczenia przyniosła całkowite ustąpienie zmian, a jedynie znaczącą poprawę. Zatem również po leczeniu w skórze osób z AZS stwierdzany jest stan zapalny. Warto w tym miejscu zaznaczyć, że ocena ekspresji mRNA powinna być skorelowana z ekspresją na poziomie białkowym, gdyż proces syntezy białka na matrycy mRNA podlega jeszcze wielu regulacjom na poziomie komórki. Należy uznać, że choć obecne wyniki uzyskane przez Doktorantkę są ciekawe, to badania nad tym zagadnieniem powinny być kontynuowane celem możliwie pełnej oceny ekspresji



poszczególnych cytokin prozapalnych w skórze osób chorych na AZS i ocenie wpływu fototerapii UVA1 na ich poziom.

W dyskusji uzyskane przez Doktorantkę wyniki zostały porównane z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy. Podobnie jak we wprowadzeniu, również w dyskusji Doktorantka wykazała się dobrą znajomością analizowanego zagadnienia, biegłością w wyszukiwaniu adekwatnych dla danej tematyki opracowań naukowych oraz umiejętnością porównania własnych wyników z wynikami innych autorów. Na zakończenie dyskusji Autorka przedstawiła trzy główne wnioski wynikające z przeprowadzonych badań i analiz. Sformułowane wnioski znajdują pokrycie w uzyskanych wynikach badań, chociaż w pierwszym wniosku Autorka uznaje metodę leczenia UVA1 jako bezpieczną, pomimo tego, że w pracy nie zamieszczono oceny bezpieczeństwa stosowanego leczenia. Chociaż w trakcie formułowania tego wniosku Doktorantka mogła odnosić się również do obserwacji innych autorów, to jednak wnioski formułowane w pracy doktorskiej powinny odnosić się bezpośrednio do własnych obserwacji autora.

Spis piśmiennictwa obejmuje 119 aktualnych i właściwie dobranych pozycji opublikowanych w wiodących periodykach o zasięgu międzynarodowym. Cytowanie poszczególnych pozycji piśmiennictwa jest prawidłowe, a sam spis przygotowany zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami dla tego typu rozpraw naukowych.

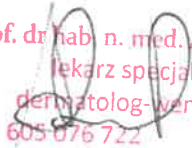
Podsumowując, oceniam rozprawę doktorską lek. **Karoliny Malinowskiej-Lukaszewskiej** pozytywnie z uwagi na ważność podjętego tematu oraz wymierne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników. Realizacja założonych celów badawczych, poprawnie dobrane i zastosowane metody badawcze, a także swobodne poruszanie się w zakresie tematyki realizowanego zagadnienia wskazują, że Doktorantka jest osobą umięającą zaplanować i prawidłowo przeprowadzić badanie naukowe, prawidłowo wyciągnąć wnioski i krytycznie omówić uzyskane wyniki. Rozprawa odpowiada warunkom określonym w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 z późniejszymi zmianami (Dz. U. nr. 65, poz. 595), jak również Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30.01.2018 w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora. W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego



Zakład i Klinika Dermatologii, Uniwersytet Rzeszowski

w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. **Karoliny Malinowskiej-Łukaszewskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku i poważania,


Prof. dr hab. n. med. Adam Reich
lekarz specjalista
dermatolog-wenerolog
tel. 605 076 722 1414536