



22.03.2022

[Signature]

KATEDRA I KLINIKA DERMATOLOGII, CHOROÓB PRZENOSZONYCH DROGĄ PŁCIOWĄ I IMMUNOLOGII KLINICZNEJ

Dr hab. n. med. Agnieszka Owczarczyk-Saczonek, prof. UWM

Olsztyn, 10.12.2021

Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych

Drogą Płciową i Immunologii Klinicznej,

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

Recenzja pracy doktorskiej lek. Martynty Smolińskiej na podstawie rozprawy pt. „*Ekspresja genów EVER1 i EVER2 w łuszczycy*”

Promotor: prof. dr hab. n. med. Jacek Malejczyk

W przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej lek. Martynty Smolińskiej postawiono za główny cel ocenę ekspresji genów *EVER1* i *EVER2* u pacjentów chorych na łuszczycę. Ponadto Doktorantka dokonała analizy pomiędzy ekspresją mRNA *EVER1* i *EVER2* w leukocytach krwi obwodowej pacjentów z łuszczycą i osób zdrowych, oceniła wpływ aktywacji limfocytów na ekspresję mRNA genów *EVER1* i *EVER2* u pacjentów z łuszczycą i osób zdrowych. W toku badań znalazła się także ocena ekspresji mRNA i białek *EVER1* i *EVER2* w skórze u pacjentów z łuszczycą w porównaniu z ekspresją w skórze u osób zdrowych i chorych na inną chorobę zapalną skóry, tj. alergiczne kontaktowe zapalenie skóry, ocena ekspresji mRNA IL-17, IL-22, IL-23, TNF i TGF- β w skórze pacjentów z łuszczycą oraz sprawdzenie korelacji ekspresji tych cytokin z ekspresją mRNA *EVER1* i *EVER2*, oraz ocena wpływu wybranych cytokin na ekspresję mRNA *EVER1* i *EVER2* w keratynocytach linii komórkowej. Badanie uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (nr zgody KB/185/2017 oraz KB/A/37/2019).



Ogromnym atutem pracy jest nowatorstwo pracy, ponieważ jak dotąd ekspresja genów *EVER1* i *EVER2* nie była badana u pacjentów z łuszczycą, a pomysł nawiązuje do najlepszych polskich tradycji dermatologii - badań Pana Prof. S. Majewskiego i Pani Prof. S. Jabłońskiej, którzy przedstawili model łuszczycy, w którym białka kapsydu wirusów beta HPV miałyby pełnić rolę antygenów pobudzających reakcję zapalną w łuszczycy i hiperproliferaację keratynocytów. DNA tych wirusów zostało wykryte w znacznych ilościach również w łuszczycowych zmianach skórnych, ale mechanizm podatności łuszczycowych zmian skórnych na wirusy brodawczaka ludzkiego z rodzaju beta pozostaje nieznan. Nadal nie ma jednoznacznej zgody na temat czynników inicjujących ten kaskadowy proces zapalny, mimo tak długiego czasu jaki minął od pierwszych publikacji na ten temat. Dlatego pomysł badania Doktorantki uważam za cenny.

Rozprawa ma klasyczny podział na rozdziały - wstęp, założenia i cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, podsumowanie oraz wnioski, zgodnie z wymogami formalnymi zawartymi w Ustawie o Stopniach i Tytułach Naukowych. Dodatkowo zawarte jest w pracy streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, oraz piśmiennictwo. Praca zawiera 108 stron tekstu, 21 rycin i 2 tabele. W pracy znajduje się odniesienie do 201 pozycji piśmiennictwa krajowego i zagranicznego, z czego ponad 129 zostało opublikowanych w ostatnich 10 latach. Piśmiennictwo cytowane jest poprawnie.

Wstęp zawiera charakterystykę obrazu klinicznego, etiologię i patogenezę łuszczycy z własną podsumowującą ten akapit ryciną. W drugiej części Doktorantka dokładnie i w sposób przystępny omawia związek wirusów HPV rodzaju beta oraz genów *EVER1* i *EVER2* z łuszczycą. Reasumując, rozdział „Wstęp” zawiera istotną wiedzę świadczącą o głębokim merytorycznym przygotowaniu Doktorantki i stanowiącą podstawy teoretyczne badań, które są zawarte w rozdziale „Założenia i cele pracy”.

Doktorantka wyznaczyła sobie jako główny cel ocenę ekspresji genów *EVER1* i *EVER2* u pacjentów chorych na łuszczycę. Cele szczegółowe to ocena i porównanie ekspresji mRNA *EVER1* i *EVER2* w leukocytach krwi obwodowej pacjentów z łuszczycą i osób zdrowych, ocena wpływu aktywacji limfocytów na ekspresję mRNA genów *EVER1* i *EVER2* u pacjentów z łuszczycą i osób zdrowych, ocena ekspresji mRNA i białek *EVER1* i *EVER2* w



skórze u pacjentów z łuszczycą oraz porównanie jej z ekspresją u osób zdrowych u chorych na alergiczne kontaktowe zapalenie skóry, ocena ekspresji mRNA IL-17, IL-22, IL-23, TNF i TGF- β w skórze pacjentów z łuszczycą oraz sprawdzenie korelacji ekspresji tych cytokin z ekspresją mRNA *EVER1* i *EVER2*, ocena wpływu wybranych cytokin na ekspresję mRNA *EVER1* i *EVER2* w keratynocytach linii komórkowej.

Rozdział „Materiał i metody” opisuje w sposób czytelny charakterystyką grupy badanej i kontrolnej. Grupę badaną stanowiło 22 pacjenci z rozpoznaniem łuszczycy zwykłej, wyćinki ze zmian skórnych i skóry zdrowej pobrano od 20 pacjentów, a PBMC wyizolowano z krwi 6 pacjentów z łuszczycą. Grupę porównawczą stanowiło 11 pacjentów z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry, a grupę kontrolną 11 zdrowych ochotników. Opisane zostały dokładnie użyte metody badawcze. Zwraca uwagę wykorzystanie różnych technologii, co jest atutem pracy i świadczy o bardzo dobrym warsztacie pracy: hodowla i stymulacja linii komórkowej keratynocytów ludzkich- HaCaT, izolacja RNA i odwrotna transkrypcja, łańcuchowa reakcja polimerazy z analizą w czasie rzeczywistym oraz badania immunofluorescencyjne. Metody badawcze zostały dobrane prawidłowo i umożliwiły realizację postawionych sobie celów.

Rozdział „Wyniki” zawiera opis rezultatów przeprowadzonych badań. Złożony jest głównie z tabel i rycin z załączonym krótkim komentarzem, który umożliwia pełne ich zrozumienie. Doktorantka zbadała ekspresję genów *EVER1* i *EVER2* w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC), przy czym ekspresja *EVER1* była większa niż *EVER2*. Ekspresja genów *EVER1* i *EVER2* w PBCM nie różniła się istotnie pomiędzy pacjentami z łuszczycą i zdrowymi ochotnikami. W skórze osób zdrowych oraz w zmianach skórnych i niezajętej skórze pacjentów z łuszczycą lub alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry ekspresja *EVER1* była większa niż ekspresja *EVER2*. Ponadto Doktorantka wykazała, że ekspresja genu *EVER1* u chorych na łuszczycę była istotnie niższa jedynie w wykwitach, a ekspresja tego genu w niezmienionej skórze u pacjentów z łuszczycą oraz w zmianach skórnych i niezajętej skórze pacjentów z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry nie różniła się istotnie od ekspresji w skórze osób zdrowych. Ekspresja genu *EVER2* w skórze we wszystkich grupach była na granicy wykrywalności, co uniemożliwiło porównania międzygrupowe. Doktorantka



zaobserwowała podwyższoną ekspresję mRNA IL-17, IL-22, IL-23 w łuszczykowych zmianach skórnych, a ekspresja mRNA TNF i TGF- β była obniżona w porównaniu z otaczającą niezajętą skórą. Ekspresja mRNA *EVER1* w skórze pacjentów z łuszczyką korelowała ujemnie z ekspresją mRNA IL-17 i IL-23 oraz dodatkowo z ekspresją mRNA TNF i TGF- β . Ekspresja genu *EVER1* w keratynocytach linii HaCaT zmniejszyła się istotnie w obecności IL-17, a zwiększyła się istotnie w obecności TGF- β .

Rozdział „Dyskusja” to ciekawie i dojrzałe przeprowadzona analiza otrzymanych wyników, próba wyjaśnienia wpływu ekspresji genów *EVER1* i *EVER2* na poszczególne elementy zapalenia łuszczykowego oraz przegląd wcześniejszych doniesień literaturowych na ten temat. Wnioski w pełni odpowiadają na postawione cele pracy.

Powyższe badania potwierdziły hipotezę, którą Doktoranka postawiła sobie za cel główny, że zwiększona częstość występowania wirusów brodawczaka ludzkiego rodzaju beta w łuszczykowych zmianach skórnych może wynikać z obniżenia ekspresji genu *EVER1* w keratynocytach wskutek swoistego dla łuszczyki procesu zapalnego. Cenny jest akapit na temat ograniczeń przeprowadzonej pracy.

W związku z powyższym, przedstawiona mi do recenzji praca spełnia warunki osiągnięcia naukowego, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).

Podsumowując, przedstawioną mi rozprawę doktorską oceniam bardzo pozytywnie. Wybranie ciekawego tematu, prawidłowo dobrane, bogate metody badawcze oraz analizy statystyczne, dobór literatury, wskazują, że lek. Martyna Smolińska jest osobą umiejącą prowadzić badania naukowe, oraz wyciągać odpowiednie wnioski. W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lek. Martyny Smolińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na ciekawy temat pracy i różnorodne metody badawcze wnioskuję o wyróżnienie.



KATEDRA I KLINIKA DERMATOLOGII, CHOROÓB PRZENOSZONYCH DROGĄ PŁCIOWĄ I IMMUNOLOGII KLINICZNEJ

Dr hab. n. med. Agnieszka Owczarczyk-Saczonek, prof. UWM

KIEROWNIK
Katedry i Kliniki Dermatologii,
Chorób Przenoszonych Drogą Płciową
i Immunologii Klinicznej
dr hab. n. med. Agnieszka Owczarczyk-Saczonek
prof. UWM

