



Akceptuję
HJ

UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU
Kierownik Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka
Zakładu Histologii i Embriologii
prof. dr hab. Piotr Dziegiel

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Martynty Smolińskiej
pt.: „*Ekspresja genów EVER1 i EVER2 w łuszczycy*”

Łuszczycyca jest jednym z częściej występujących schorzeń dermatologicznych o nieznannej etiologii oraz długotrwałym, przewlekłym przebiegu z okresami zaostrzeń oraz remisji. Różnorodność postaci tej choroby sprawia, że jest niezwykle trudnym obiektem badań naukowych od wielu lat. Ponadto, stanowi poważny problem społeczny w aspekcie prawidłowego funkcjonowania pacjentów dotkniętych łuszczycą. Wszystkie te argumenty przemawiają za koniecznością oraz intensyfikacją badań nad tą chorobą, szczególnie z wykorzystaniem nowoczesnych metod molekularnych. Najnowsze doniesienia sugerują, że w powstawanie zmian łuszczycowych na skórze, zaangażowane są pewne grupy genów, których funkcja nie jest do końca wyjaśniona. Stąd, konieczność prowadzenia eksperymentów z wykorzystaniem materiału tkankowego od chorych z ewentualnym zastosowaniem modelu *in vitro*, celem wyjaśnienia mechanizmów zachodzących na poziomie komórkowym.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska Lek. Martynty Smolińskiej, w moim odczuciu, spełnia wszystkie powyżej przytoczone aspekty. Chciałbym również na wstępie zaznaczyć, że praca ta jest idealnym przykładem powiązania i wykorzystania metod tzw. nauk podstawowych z dziedzinami klinicznymi, co jak wiadomo, zawsze przynosi korzystne efekty. Dobór tematyki, analiza aktualnej wiedzy w badanym obszarze, a także zaplanowane eksperymenty nie pozostawiają recenzentowi pola do polemiki.

Praca doktorska Lek. Martynty Smolińskiej jest typowym opracowaniem monograficznym o standardowym układzie rozdziałów z wykorzystaniem bardzo przejrzystych tabel oraz rycin. Dodatkowo, chciałbym stwierdzić, że jest napisana bardzo ładnym językiem polskim i jest

praktycznie pozbawiona błędów stylistycznych oraz literowych. Stąd, czytanie ww. monografii sprawiło recenzentowi dużą przyjemność, choć sam proces przygotowania recenzji trwał zbyt długo, za co przepraszam Doktorantkę, Promotora – Pana Prof. dr hab. Jacka Malejczyka oraz Wysoką Komisję Rady Dyscypliny.

We wstępie, który jest najobszerniejszym rozdziałem pracy, Doktorantka w sposób wyczerpujący ale zarazem przejrzysty, przybliży wiadomości dotyczące samego schorzenia jakim jest łuszczyca, co niewątpliwie pozwala czytelnikowi pozyskać wiedzę niezbędną do dalszej analizy. Oprócz informacji klinicznych, kolejny rozdział, wprowadza recenzenta w zagadnienia najnowszych danych dotyczących sugerowanych mechanizmów związanych z etiologią tego schorzenia – rola wirusów HPV rodzaju beta oraz genów *EVER1* i *EVER2*. Należy podkreślić, że tematyka badawcza podjęta przez Doktorantkę, pod nadzorem Jej Promotora, jest na wskroś nowatorska, a nawet pionierska, co jest wielkim atutem monografii, tym bardziej w kontekście przyszłej publikacji rezultatów przeprowadzonych badań. Nie mam zastrzeżeń ani uwag do tej części pracy i oceniam wysoko jej poziom merytoryczny.

Kolejny rozdział – „*Założenia i Cele*” – jest naturalną konsekwencją wiedzy jaką dysponuje Doktorantka, o czym można było się przekonać we „*Wstępie*”. Postawione cele są jasno sformułowane i pozwalają w logiczny sposób wysnuć hipotezę badawczą, która została ujęta na początku tego rozdziału.

Przechodząc do omawiania rozdziału „*Materiały i Metody*” należy stwierdzić, że Doktorantka zamieszcza informacje charakteryzujące pacjentów oraz osoby zdrowe, które zostały poddane badaniu wraz z niezbędną akceptacją Komisji Bioetycznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (w załączeniu monografii kopie ww. dokumentów). Również w tym rozdziale moje uwagi mają charakter „kosmetyczny”, jednakże chciałbym je przytoczyć. Na stronie 37 (Rozdział 3.7) oraz w późniejszych częściach pracy, Doktorantka używa określenia „*barwienia immunohistochemiczne*”. Nie mogę się z tym zgodzić, ponieważ metoda immunohistochemiczna (IHC) powszechnie wykorzystywana w badaniach morfologicznych oraz diagnostyce histopatologicznej, opiera się (mówiąc bardzo ogólnie) na reakcji antygen-przeciwciała, gdzie wyznakowane przeciwciało lub odpowiedni substrat pozwala uzyskać trwały efekt barwny. W związku z tym, w moim odczuciu, lepiej używać sformułowania „*reakcja immunohistochemiczna*”, tym bardziej, że sama Doktorantka tak postępuje chociażby na stronie 51 – „*Sygnal reakcji IHC...*” Ponadto, w rozdziale tym zabrakło mi danych dotyczących liczebności grup badawczych, ale znajdują się one na wstępie rozdziału „*Wyniki*”. Nie mam więcej uwag do tej części pracy i uważam, że jest również bardzo dobrze napisana i przedstawiona.

Kolejnym rozdziałem są już wcześniej wspomniane „Wyniki”. Przejrzyste przedstawienie osiągniętych rezultatów z wykorzystaniem grafiki, mojego ulubionego GraphPad Prism, pozwalają na ich obiektywną analizę. Także badania morfologiczne przy użyciu metody immunofluorescencyjnej (IF) oraz immunohistochemicznej potwierdzają rzetelność oraz wiarygodność uzyskanych wyników. Zachęcałbym do oszacowania nasilenia reakcji IF z wykorzystaniem systemów komputerowej analizy obrazu, obecnie szeroko dostępnych i pozwalających na ilościowe przedstawienie rezultatów. Odnosząc się w całości do przedstawionych wyników badań Doktorantki – sugerowałbym również aby w przyszłości wykorzystywać do oceny poziomu białka również metody molekularne, chociażby takie jak Western blot. Z drugiej strony zdaję sobie sprawę, że skąpa ilość dostępnego materiału ogranicza możliwości badacza. Jednakże, jak wszyscy wiemy, od ekspresji genu do syntezy białka, prowadzi daleka droga, co niewątpliwie może mieć znaczenie w wyciąganiu odpowiednich wniosków. Podobnie jak poprzednio, uważam tą część pracy doktorskiej za wyczerpującą oraz bardzo dobrze zredagowaną, a co najważniejsze, klarownie przedstawiającą otrzymane przez Doktorantkę rezultaty.

I wreszcie „Dyskusja”, która dla wielu młodych adeptów nauki stanowi największe wyzwanie w pisaniu prac naukowych. Tutaj również Lek. Martyna Smolińska wywiązała się doskonale z postawionego Jej zadania. Porównuje uzyskane przez siebie wyniki przeprowadzonych badań z rezultatami podobnych eksperymentów innych autorów, jednocześnie poddając je krytycznej analizie. Nie ukrywając, jestem pod wrażeniem tak trafnych sformułowań oraz wniosków. W dyskusji sama autorka stwierdza pewne braki w przeprowadzonych eksperymentach, jak chociażby brak analizy ilościowej produktów ekspresji genów *EVER1* i *EVER2* oraz nasilenia ich ekspresji w limfocytach zmian skórnych. Można by próbować wykorzystać do tego celu metodę mikrodysekcji laserowej, ale również rozumiem z tym związane ograniczenia. Jak zaznaczyłem wcześniej w przeprowadzonej przez doktorantkę dyskusji zawierają się liczne i tranie sformułowane wnioski np.:

- *obniżenie ekspresji genów EVER1 i EVER2 w komórkach skóry zmian łuszczykowych może skutkować upośledzeniem mechanizmów obronnych wobec wirusów β -HPV i ich nadmierną replikacją*
- *obniżona ekspresja genów EVER przyczynia się także do zwiększonej proliferacji keratynocytów*
- *EVER1 i EVER2 mogą hamować proliferację komórek poprzez obniżenie stężenia cynku w cytozolu*
- *EVER1 i EVER2 mają zdolność hamowania syntezy metalotionein poprzez inhibicję MTF-1, a metalotioneiny utrzymują prawidłowe wewnątrzkomórkowe stężenie cynku.*

Szczególnie to ostatnie sformułowanie jest mi bliskie ze względu na fakt, że sam osobiście w przeszłości zajmowałem się badaniem roli białek metalotionein w szeroko pojętym procesie nowotworowym. Jak już

stwierdziłem wcześniej, jestem pod wrażeniem przeprowadzonej przez Doktorantkę wyczerpującej oraz krytycznej dyskusji i jednocześnie życzę dalszych sukcesów na polu naukowym.

W podsumowaniu Lek. Martyna Smolińska krótko i rzeczowo prezentuje uzyskane rezultaty, które dają podstawę do wysnucia rozbudowanego wniosku. Jego dominującym elementem jest stwierdzenie, że obserwowany stan zapalny w przebiegu łuszczycy, związany ze wzrostem aktywności IL-17 wpływa na obniżenie ekspresji genów *EVER1* i *EVER2*, co może sprzyjać występowaniu wirusów β -HPV w obrębie zmian ww. schorzenia. Wydaje mi się, że również szeroko i w sposób uzasadniony poruszana rola cynku w przebiegu łuszczycy, a głównie zmian skórnych, powinna być ujęta we wnioskach.

Podsumowując, jak już wielokrotnie podkreślałem, uważam pracę doktorską Pani Lek. Martyny Smolińskiej za bardzo dobrze przygotowaną, zarówno w obszarze aktualnej i nowoczesnej tematyki, wykorzystanej metodyki oraz również dogłębnej analizy uzyskanych rezultatów badań. Jednocześnie, jest ona przykładem doskonałego powiązania nauk podstawowych z naukami klinicznymi, co zawsze w nauce przynosiło i przynosi najlepsze osiągnięcia.

Mając na uwadze powyżej zawarty tekst recenzji oraz będąc przekonanym, że Lek. Martyna Smolińska na podstawie ocenianej pracy doktorskiej oraz pozostałych wymaganych ustawowo kryteriów, spełnia wymogi do nadania stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, zawarte w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.), wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Warszawie o nadanie Jej Osobie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a uzasadnieniem jest cały tekst recenzji oraz w szczególności przedostatni jej akapit.



Wrocław, 07.03.2022

Prof. dr hab. Piotr Dziegiel