

Dr hab. Małgorzata Ożgo, prof. ZUT Szczecin, dnia 2 sierpnia 2023 roku
Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Lek. Weroniki Jaworskiej pt. "Rola interleukin 36 α , 36 β i 37 w patogenezie łuszczycy"
wykonanej pod kierunkiem naukowym:

dr hab. n. med. Sylwii Słucznanowskiej-Głąbowskiej, z Katedry i Zakładu Fizjologii,
Wydziału Medycyny i Stomatologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w
Szczecinie

1. Ocena formalna pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest opracowaniem zawierającym 75 stron maszynopisu, w tym 4 tabele, zawierające wyniki korelacji poszczególnych osoczowych stężeń interleukin z wybranymi parametrami klinicznymi oraz wybranymi wskaźnikami (DLQI, PASI, BSA). Ponadto rozprawa zawiera 18 rycin, prezentujących w formie słupkowej stężenie poszczególnych badanych przez Autorkę stężeń interleukin oraz w formie liniowej korelację osoczowych stężeń interleukin ze wskaźnikami ciężkości aktywności łuszczycy (PASI), wskaźnikami jakości życia dermatologicznego (DLQI) i wskaźnikami powierzchni ciała (BSA). Zarówno tabele jak i ryciny stanowią cenne uzupełnienie opisu wyników i wykonanych analiz statystycznych. Spis piśmiennictwa obejmuje 150 pozycji właściwie dobrane do poruszanej tematyki pracy, publikowane w wiodących periodykach o zasięgu międzynarodowym, głównie anglojęzycznego – od najstarszego z 1979 roku do najnowszych z ostatnich dziesięciu lat. Cytowanie poszczególnych pozycji piśmiennictwa jest prawidłowe, a spis piśmiennictwa przygotowany został starannie. Praca napisana została w czytelny układzie zgodnie z zasadami obowiązującymi dla dysertacji doktorskich z wyraźnie wyodrębnionymi rozdziałami: obszerny wstęp (s.7-22), cele pracy (s.24), materiał i metody przeprowadzonych badań (s.25-28), wyniki (s.29-40), dyskusja s.(44-54), i wnioski (s.55). Zakończenie pracy wieńczy streszczenie pracy w języku polskim oraz angielskim, piśmiennictwo oraz wykaz rycin

i tabel. Wstęp pracy podzielony został dodatkowo na 6 podrozdziałów. Całość pracy poprzedza i znakomicie ułatwia szczegółowy wykaz stosowanych w manuskrypcie skrótów. Wszystkie ryciny jak i tabele zostały umieszczone w odpowiednie podrozdziały w części wyników pracy.

Zwraca uwagę dużą staranność opracowania, dobrą czytelność rycin i tabel, poprawny komunikatywny język naukowy używany przy omawianiu poszczególnych zagadnień. Potwierdza to dobre przygotowanie Doktorantki do pisania prac naukowych. Odsyłacze do piśmiennictwa są czytelne. Pojedyncze błędy językowe zostały zaznaczone w manuskrypcie rozprawy.

2. Merytoryczna ocena pracy

We wstępie pracy, który obejmuje 16 stron maszynopisu Autorka na podstawie analizy piśmiennictwa opisuje rys historyczny łuszczycy i przedstawia postaci w nauce, które odegrały szczególną rolę w etiopatogenezie tej zapalnej i przewlekłej choroby skóry. W dalszej części wstępu pracy Doktorantka zapoznaje czytelnika z epidemiologią choroby oraz opisuje czynniki środowiskowe, genetyczne oraz immunologiczne indukujące jej rozwój i zaostrzenie. Przedstawia bardzo aktualną wiedzę związaną z kaskadą zdarzeń w rozwoju łuszczycy. Opisuje szczegółowo powstawanie stanów zapalnych w przebiegu tej choroby, co jest efektem działania głównie limfocytów T oraz wielu cytokin pochodzących z keratynocytów i innych komórek odpornościowych. Autorka zwraca uwagę na nadprodukcję wielu cytokin w łuszczycy i związany z tym proces angiogenezy, odgrywający istotną rolę w patogenezie tej choroby skóry. W kolejnej części wstępu Autorka opisuje cytokiny należące do rodziny interleukin, które stanowiły przedmiot badań prezentowanej pracy. Opisane przez nią cytokiny są albo jedną z głównych cytokin prozapalnych (IL-36) w łuszczycy albo interleukinami o charakterze przeciwzapalnym (IL-37). Ważną część opisu cytokin zajmują izoformy tych cytokin, które stanowiły również przedmiot rozważań Autorki prezentowanej pracy. Ta część wstępu poświęcona charakterystyce ocenianych interleukin wyjaśnia kryteria jakimi kierowała się Autorka w wyborze cytokin, które poddane zostały analizie w dalszej części pracy.

Wstęp kończy opis najczęściej stosowanych w praktyce klinicznej wskaźników służących do oceny zaawansowania łuszczycy (skala PASI, BSA, DLQI).

Wstęp stanowi bardzo ciekawe wprowadzenie i podsumowanie aktualnego stanu wiedzy związanego z przedmiotem pracy Autorki; umożliwia zrozumienie przesłanek i ogromnej wagi tematyki podjętych przez nią badań których celem była:

- Ocena stężenia w osoczu IL-36 α , IL-36 β , IL-37 u pacjentów z łuszczycą w porównaniu do grupy osób zdrowych.
- Ocena korelacji osoczowych stężeń IL-36 α , IL-36 β , IL-37 z parametrami aktywności choroby - PASI, DLQI, BSA u pacjentów z łuszczycą.
- Ocena korelacji osoczowych stężeń IL-36 α , IL-36 β , IL-37 z wybranymi parametrami klinicznymi u pacjentów z łuszczycą.

Doświadczenie zostało dobrze zaplanowane, wykonane na wystarczającej liczbie pacjentów (84). Procedury doświadczalne przeprowadzone na pacjentach uzyskały zgodę zatwierdzoną uchwałą Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie z dnia 02.10.2017 roku, nrKB-0012/105/17). W pierwszej części tego rozdziału Autorka przedstawiła charakterystykę pacjentów z grupy badawczej. Doktorantka podała również kryteria wykluczające pacjentów z doświadczenia. W pracy brakuje szerszej informacji dotyczącej grupy kontrolnej, która liczyła 31 osób. Nie wiadomo jakie elementy obejmowały kryteria kwalifikacyjne w tej grupie.

Kolejna część opisu metod badawczych budzi niedosyt, ponieważ bardzo lakonicznie została opisana procedura oceny stężenia IL-36 α , IL-36 β , IL-37 w osoczu. Zdaniem recenzenta metodologia oznaczeń laboratoryjnych z wykorzystaniem testów jaki podaje Doktorantka powinna być w rozprawie doktorskiej bardzo dokładnie opisana. Szczegółowo powinna opisać przygotowanie materiału do oznaczeń i protokoły oznaczeń. Trudno ocenić wartość testów bez podania istotnych informacji, które mogą je czynić bardzo obiecującymi w dalszych badaniach łuszczycy. Ponadto Autorka całkowicie pominęła opis wybranych parametrów klinicznych (m.in. aktywność aminotransferaz ASPAT, ALAT), a przynajmniej gdzie dokonano oznaczeń. Domniemam, że były wykonane w certyfikowanych laboratoriach diagnostyki medycznej. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w oparciu o program Statistica PL. W pracy zastosowano testy nieparametryczne: test Manna-Whitneya, a korelacje w obrębie grup oceniono za pomocą współczynnika korelacji rang Spermmana. Za istotne statystycznie przyjęto wartości $p < 0,05$.

Kolejny rozdział pracy obejmuje 14 stron maszynopisu i dotyczy rozdziału „Wyniki”. Doktorantka w sposób opisowy przedstawia uzyskane rezultaty badań oraz w postaci wykresów słupkowych i liniowych. Dodatkowe informacje zostały zawarte również w tabelach. W pierwszej części opisu wyników badań Autorka dokonała analizy stężeń IL-36 α , IL-36 β , IL-37 w osoczu pacjentów z łuszczycą w porównaniu do grupy kontrolnej. Doktorantka, obserwowała podwyższone stężenie IL-36 α w osoczu krwi grupy badawczej w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie stwierdziła jednak różnic statystycznie istotnych między tymi grupami. Jak podaje sama Autorka różnice międzypersonalne między pacjentami były powodem braku istotności i rzutowały na wysokie odchylenia standardowe. Szkoda, że surowe wyniki stężeń poszczególnych cytokin każdego pacjenta w grupie badawczej jak i kontrolnej nie zostały zamieszczone w aneksie pracy. Byłaby to dodatkowa, ciekawa informacja do analizy. Podpisy pod rycinami poszczególnych stężeń interleukin powinny zdaniem recenzenta brzmieć: „średnie stężenie w osoczu IL..” a nie „stężenie w osoczu IL..” Ocena średnich stężeń IL-36 β oraz IL-37 wskazuje na istotne obniżenie się w osoczu tych wskaźników u pacjentów z łuszczycą w porównaniu z grupą kontrolną. Może być to bardzo obiecujące dla wartości tych oznaczeń. W rozdziale „Wyniki” dotyczącym korelacji badanych stężeń IL-36 α oraz IL-36 β , stwierdzono bardzo ciekawą, istotną statystycznie korelację ze wszystkimi badanymi parametrami aktywności choroby: wskaźnikami ciężkości aktywności łuszczycy (PASI), wskaźnikami jakości życia dermatologicznego (DLQI) i wskaźnikami powierzchni ciała (BSA). Ponadto, ważny jest fakt uzyskania istotnej statystycznie korelacji IL-36 β z wartościami aminotransferazy asparaginianowej i aminotransferazy alaninowej. Jak sama Doktorantka podaje, interleukiny mogą nasilać stan zapalny w wątrobie.

Kolejny rozdział pracy Dyskusja, obejmuje 11 stron maszynopisu i jest najlepiej przygotowanym rozdziałem prezentowanej pracy. Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością badanego zagadnienia, dużą umiejętnością konfrontacji wyników własnych z wynikami innych autorów. Rozdział został przygotowany wyczerpująco, bardzo ciekawie. Autorka analizując wyniki pracy zwraca uwagę na znaczenie IL-36, która poprzez wpływ na aktywność limfocytów T ma fundamentalne znaczenie w łuszczycy, ze względu na pełnioną kluczową rolę w etiopatogenezie tej choroby. Ponadto podaje, (co wynika z analizy piśmiennictwa) iż do tej pory badano ekspresję izoform IL-36, ale nie badano ich stężenia w surowicy krwi. Nie określano również jej różnych izotypów w surowicy krwi. Stanowi to na pewno *novum* prezentowanej pracy,

a wyniki są obiecujące chociaż niewątpliwie wymagają dalszych prób w oparciu o większe grupy pacjentów. Ciekawym uzupełnieniem badań związanych z poszukiwaniem mediatorów prozapalnych i przeciwzapalnych w przebiegu łuszczycy mogły by być badania „omiczne” zarówno osocza jak i skóry. Badania te mogłyby ukazać cały szereg cytokin biorących udział w rozwoju tej jednostki chorobowej i zidentyfikować różnice w profilach białkowych między osobą chorą a zdrową. Ponadto Autorka dyskutując wyniki zwraca uwagę również na wyniki badań związanych z blokowaniem szlaku IL-36 β , co zmniejsza klinicznie, histologicznie i immunohistochemicznie zmiany w skórze łuszczycowej w tym nacieki neutrofilii i chemokin. Daje tym dowód jak ważne jest badanie tych wskaźników ponieważ stają się one bardzo ważne w terapii celowanej w leczeniu tej choroby. Dotyczy to również IL-37, która zdaniem Autorki też może stać się celem terapeutycznym. Jednak jak wskazuje Doktorantka nie jest w pełni poznana w różnych typach łuszczycy o różnym nasileniu i wymaga dalszych badań. Prezentowana rozprawa doktorska i przedstawiona dyskusja wyników wyznacza kolejne kroki w odkrywaniu i poznawaniu łuszczycy oraz wskazuje, że w tym obszarze badań związanych z poszukiwaniem biomarkerów diagnostycznych jest jeszcze wiele do zrobienia.

W końcowej części pracy zamieszczono wnioski, które w pełni znajdują odzwierciedlenie w uzyskanych przez Doktorantkę wynikach badań i postawionych celach badawczych.

Podsumowując, rozprawę doktorską lek. Weroniki Jaworskiej uważam, że Doktorantka osiągnęła cele pracy i oceniam ją wysoko. Wykonane zostały przewidziane badania, uzyskano ciekawe wyniki i dobrze je zinterpretowano. Praca wskazuje na ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki, a także umiejętność prowadzenia pracy naukowej.

W związku z powyższym zwracam się do **Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani Lek. Weroniki Jaworskiej do publicznej obrony pracy doktorskiej.**

