

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Julii Rudnickiej-Czerwiec
p.t. „Analiza populacji komórek NK u pacjentów z rzutowo-remisyjną
i pierwotnie postępującą postacią stwardnienia rozsianego”**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Halina Bartosik-Psujek

Promotor pomocniczy: dr n. biol. Edyta Kopera

Zakład Neurologii, Instytut Nauk Medycznych,
Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego

Problem badawczy

Stwardnienie rozsiane (SM) jest częstą chorobą neurologiczną i najczęstszą nieurazową neurologiczną przyczyną inwalidztwa u osób młodych. Z tego powodu jest ona znaczącym problemem nie tylko medycznym ale również i społecznym. W ostatnich trzydziestu latach pojawiło się wiele leków o coraz większej skuteczności, które znacznie poprawiają rokowanie u osób chorych. Pomimo ogromnego wysiłku wielu pokoleń badaczy nadal nie wiemy jaka jest przyczyna tej choroby. Znacznie więcej wiemy natomiast o jej patologii w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). W przebiegu SM w mózgu i rdzeniu kręgowym pojawiają się początkowo nacieki zapalne, które w konsekwencji

powodują demielinizację aksonów i rozwój neurodegeneracji, co z kolei prowadzi do pojawienia się różnorodnych objawów neurologicznych. Powszechnie przyjmuje się, że patogeneza tej choroby rozwija się poza OUN i ma cechy autoimmunizacji, a zasadniczą rolę w tym procesie odgrywa układ immunologiczny. Z tego powodu olbrzymia większość badań naukowych koncentruje się na tym etapie choroby bowiem jego poznanie może doprowadzić do wczesnego zatrzymania rozwoju SM. Znaczenie układu immunologicznego w tej chorobie potwierdza fakt, że prawie wszystkie dostępne obecnie leki stosowane w SM działają na ten układ. W tym kontekście temat podjęty przez doktorantkę jest bardzo istotny i interesujący ponieważ badana przez nią populacja komórek NK może też być potencjalnym celem nowych terapii SM.

Strona formalna rozprawy

Przesłana do recenzji rozprawa doktorska została zrealizowana w Zakładzie Neurologii, Instytutu Nauk Medycznych, Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego. Promotorem pracy doktorskiej jest p. prof. dr hab. n. med. Halina Bartosik-Psujek, a promotorem pomocniczym p. dr n. biol. Edyta Kopera. Rozprawa ma typowy układ rozdziałów i zawiera wszystkie wymagane części. Liczy 174 strony, jest podzielona na 12 rozdziałów, zawiera 18 tabel, 40 rycin i 274 pozycje piśmiennictwa. Na końcu pracy zamieszczona jest Uchwała Komisji Bioetycznej (decyzja nr 85/2023/B) wraz z jej modyfikacją po zawężeniu tytułu badania.

Strona merytoryczna rozprawy

Wstęp rozprawy został podzielony na trzy części. W pierwszej doktorantka opisuje epidemiologię, patogenezę, klinikę oraz diagnostykę SM. W drugiej części zostały opisane zagadnienia związane z odpornością wrodzoną oraz rolą komórek efektorowych w patogenezie tej odporności. Ostatnia część Wstępu

zawiera szczegółowe informacje o zasadniczym temacie pracy doktorskiej tj. roli komórek NK w patogenezie SM. Wstęp jest napisany w sposób zrozumiały i szczegółowy, posiada odniesienia do adekwatnego piśmiennictwa. We wstępie doktorantka zaprezentowała też ryciny, które istotnie wzbogacają pracę i pomagają w zapoznaniu się z jej tematyką. Rozdział ten potwierdza znajomość tematu przez autorkę i jej głęboką wiedzę w tym zakresie. Zdaniem recenzenta przydatne byłoby na zakończeniu Wstępu przedstawienie krótkiego podsumowania, które wprowadziłoby czytelnika w część eksperymentalną pracy.

Celem rozprawy jest ocena znaczenia komórek NK w patogenezie SM. Doktorantka wyszczególniła trzy pytania badawcze, na które szuka odpowiedzi w swoich badaniach. Pierwsze pytanie dotyczy różnic fenotypowych komórek NK pomiędzy badanymi grupami pacjentów z SM oraz grupą kontrolną. Drugie to poszukiwanie różnic w wydzielanych enzymach litycznych i cytokinach w ww. grupach. Trzecie to analiza różnic funkcji komórek NK między tymi grupami.

Grupę badaną stanowi 35 chorych na SM, w tym 22 z postacią rzutowo – remisyjną (RRMS) i 13 z postacią pierwotnie postępującą (PPMS). Grupę kontrolną stanowi 15 osób zdrowych, pracowników Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr. 2 w Rzeszowie i Uniwersytetu Rzeszowskiego. Kryteria włączenia do badania są szczegółowo przedstawione. Zdaniem recenzenta badane grupy są niezbyt liczne ale zostały zaaprobowane przez Komisję Bioetyczną. Materiałem analizowanym była krew osób badanych a procedury badawcze były przeprowadzane w Zakładzie Immunologii Człowieka Instytutu Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego. Zasadnicze etapy analizy to izolacja komórek PBMC, ich hodowla oraz oznaczanie markerów powierzchniowych oraz wewnątrzkomórkowych komórek przy pomocy

cytometru przepływowego. Uzyskane wyniki były analizowane statystycznie programem Statistica 9.1 (StatSoft, Polska).


Rozdział opisujący wyniki badań jest bardzo obszerny (50 stron) i logicznie zorganizowany. Jest on podzielony na zasadnicze dwie części. W pierwszej części analizowane są różnice w immunofenotypie komórek NK, natomiast w drugiej różnice w wewnątrzkomórkowej zawartości enzymów cytolitycznych i cytokin w poszczególnych subpopulacjach komórek NK. Otrzymane wyniki pokazane są w postaci czytelnych tabel oraz wykresów, co znacznie ułatwia zapoznanie się z nimi. Nie zaobserwowano różnic w odsetku komórek NK pomiędzy pacjentami z grup RRMS, PPMS oraz z grupą kontrolną osób zdrowych. Podobnie nie stwierdzono istotnych różnic między grupami w badanych subpopulacjach komórek NK. Stwierdzono natomiast kilka istotnych różnic fenotypowych komórek NK głównie pomiędzy grupami pacjentów z PPMS a RRMS, co zostało jasno pokazane w Tab. 16. Analizując wewnątrzkomórkową zawartość enzymów cytolitycznych w komórkach NK obserwowano jej obniżenie w grupie RRMS i PPMS w porównaniu do grupy kontrolnej (Tab. 17). Podobną tendencję obserwowano analizując wewnątrzkomórkową zawartość cytokin TGF-beta, IFN-gamma, IL-10, IL-4 oraz IL-13 z komórkach NK, która również była zwykle mniejsza w grupach chorych z PPMS i RRMS niż w grupie kontrolnej.

W części prezentującej dyskusję doktorantka na ponad 20 stronach odnosi się w sposób wyczerpujący i analityczny do uzyskanych wyników. Rozdział ten jest logicznie usystematyzowany. Autorka odnosi się do aktualnego piśmiennictwa w zakresie swojego projektu i interpretuje uzyskane wyniki, pokazując znajomość analizowanego tematu. Cytowana bibliografia jest bardzo obszerna, liczy 274 pozycje, w tym liczne z ostatnich lat. Wnioski w liczbie czterech zostały jasno sformułowane i opowiadają uzyskanym wynikiom.

Podsumowując, całość pracy Doktorantki oceniam pozytywnie. Tematyka podjęta w pracy doktorskiej jest interesująca naukowo a zastosowana metodyka jest adekwatna do wyznaczonego celu, wyciągnięte wnioski potwierdzają uzyskane wyniki. Główną niedoskonałością pracy wydają się być niezbyt liczne grupy osób biorących udział w badaniu (od 15 do 22 osób) co może utrudniać publikację otrzymanych wyników w prestiżowych czasopismach. Mniej istotna uwaga dotyczy sformułowania, że SM jest chorobą autoimmunologiczną (str. 13). Choroba ta nie spełnia jednak wymaganych kryteriów ponieważ nie udało się dotychczas odkryć u chorych specyficznych autoprzeciwciał lub antygenowo specyficznych limfocytów. Z edytorskich sugestii wskazane byłoby wprowadzony na początku pracy skrót MS stosować konsekwentnie w całej pracy. Przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają jednak znacząco wartości recenzowanej pracy doktorskiej.

Konkluzja recenzji

Stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. med. Julii Rudnickiej-Czerwiec pt. *„Analiza komórek NK u pacjentów z rzutowo-remisyjną i pierwotnie postępującą postacią stwardnienia rozsianego”* spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dn. 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). Wobec powyższego wnoszę o dopuszczenie lek. med. Julii Rudnickiej-Czerwiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Kliniki Neurologii i Udarów Mózgu

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Głąbiński