

Zakład Immunologii Klinicznej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny im. L. Zamenhofa

ul. J. Waszyngtona 17, 15-274 Białystok; tel./fax: +48 85 74 50 618; e-mail: immunoklin@umb.edu.pl

Prof.dr hab. med. Anna Stasiak-Barmuta
Zakład Immunologii Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Łukasza Szymańskiego

Wpływ pola elektromagnetycznego na ekspresję cytokin immunoregulacyjnych i
receptorów szlaku śmierci Fas/FasL w atopowym zapaleniu skóry

Rozprawa doktorska autorstwa mgr Łukasza Szymańskiego została dostarczona do recenzji w postaci oprawionego maszynopisu liczącego 113 stron, w tym 42 ryciny, 2 tabele oraz 127 pozycji piśmiennictwa. W sposób typowy dla prac doktorskich tekst rozprawy podzielony został na rozdziały obejmujące wstęp, cel pracy, materiał i metodykę, wyniki, dyskusję, wnioski, streszczenie oraz piśmiennictwo uporządkowane według numerycznego stylu Vancouver.

W liczącym 14 stron wstępie starał się Autor przybliżyć czytelnikowi obraz kliniczny schorzenia jakim jest atopowe zapalenie skóry, który to opis z racji prawdopodobnie niemedycznego wykształcenia Doktoranta pozostawia daleko idący niedosyt. Obraz atopowego zapalenia skóry, obserwowane w jego przebiegu zmiany skórne, jak też ich lokalizacja mogą mieć różny charakter w zależności od wieku pacjenta i w klasycznym ujęciu raczej nie jest to jedynie „intensywnie swędzący rumień” (str. 15).

W kolejnych akapitach wstępu analizuje Autor rolę tkanki limfatycznej skóry w patogenezie AZS. Używa w opisie nierzadko nic nie wnoszących ogólnikowych, acz, trzeba przyznać barwnych określeń np. „ogólnoustrojowe zasoby komórek odpornościowych” czy „unikalny profil cytokin”. Na stronie 15 zamieszcza też niezwiązaną z treścią rozprawy ogólnie znaną rycinę przedstawiającą tzw. „marsz

alergiczny". Wbrew temu, co pisze Autor na stronie 20, stosunkowo dużo prac dotyczy roli receptora Fas w stymulacji keratynocytów w patogenezie AZS.

W kolejnym rozdziale „Cele badawcze” za pierwszy cel pracy stawia sobie Autor „analizę szlaku apoptozy zależnej od białek Fas/FasL w AZS”, co w świetle przedstawionych w rozdziale „Wyniki” rezultatów okazuje się być jedynie oceną stopnia ekspresji receptorów CD95 i CD178 na powierzchni keratynocytów, a nie analizą szlaku apoptozy z charakterystyką substancji białkowych biorących udział w kaskadzie przekazywania sygnału o apoptozie. Kolejne cele to analiza wytwarzania cytokin i chemokin przez keratynocyty w patogenezie AZS oraz zbadanie wpływu pola elektromagnetycznego na AZS, poprzez analizę zmiany profilu wytwarzania cytokin i chemokin o raz ekspresji Fas i FasL – w przytoczonych celach wskazane ze wszech miar byłoby wskazanie komórek będących przedmiotem oceny.

W podrozdziale „Charakterystyka pacjentów, od których zostały pobrane fragmenty tkanek do badań” – „Grupa badana – chorzy z atopowym zapaleniem skóry” przedstawiona przez Doktoranta charakterystyka pacjentów chorujących na AZS pozostawia ogromny niedosyt i stanowi duży mankament przedstawionej mi do oceny pracy. W podrozdziale pisze jego Autor, iż do „grupy badanej zostali zakwalifikowani jedynie pacjenci nieleczeni szpitalnie” co nie przesądza o sposobie leczenia, a zatem nie daje informacji o potencjalnym wpływie stosowanych leków na ekspresję receptorów tak powierzchniowych, jak i cytoplazmatycznych komórek skóry, w tym ocenianych przez Doktoranta keratynocytów.

W rozdziale „Materiał i metody” znajdujemy szczegółowy, zaczerpnięty z folderu firmowego, opis fluorescencyjnej metody oceny stężenia cytokin i chemokin, dokładny opis metody hodowli keratynocytów, łącznie z dużym rysunkiem butelki do hodowli, jak też opis metody oceny cytometrycznej z podstawową tabelą doboru fluorochromów. Na stronie 46 pisze Autor, iż „badano ekspresję cytokin ... i chemokin ... w nadsączach” itd., co według przytoczonego w dalszej części opisu okazuje się badaniem stężenia a nie wspomnianej ekspresji. Oceny ekspresji Fas, FasL i stężenia cytokin dokonywano po 4 i 24 godzinach. Dobór czasu oceny analizowanych parametrów nie znajduje uzasadnienia ani w podanej literaturze ani w patofizjologii AZS. Atopowe zapalenie skóry przebiega

według schematu reakcji nadwrażliwości typu I, gdzie faza wczesna występuje po 15-30 minutach, faza późna po 6-10 godzinach od ekspozycji na alergen.

Liczący 31 stron rozdział „Wyniki” opatrzone kolorowymi wykresami uzupełnionymi skromnymi tabelkami, w których zamieszcza Doktorant niewiele wnoszące do całości analizy kolumny, jak „różnica średnich”, „95% przedział ufności” czy „istotne”, w której wyjaśnia czytelnikowi słowami „tak” lub „nie” znamienność różnic wartości średnich. Myślę, iż zdecydowanie bardziej profesjonalnie wyglądałyby wykresy, obrazujące poza wartościami średnimi, np. rozkład wartości ocenianego parametru w danej grupie, medianę, P25 i P75. Kolorowe kolumny z dorysowanymi odcinkami oraz gwiazdkami zaznaczającymi znamienne różnice pomiędzy analizowanymi wartościami średnimi ocenianymi w danej grupie w rozprawie doktorskiej wygląda nieprofesjonalnie. Brakuje również tabel zawierających wartości średnie, odchylenie standardowe itd. Umieszczanie danych w opisie tekstowym jest nieczytelne.

W badaniach będących przedmiotem pracy wartości średnie wszystkich ocenianych parametrów w grupie pacjentów chorych na AZS, zarówno w 4, jak i 24 godzinie badania były znamienne wyższe w odniesieniu do analogicznych wartości ocenianych w grupie osób zdrowych. Kolejno po ekspozycji na pole elektromagnetyczne wartości średnie większości analizowanych parametrów oceniane w grupie pacjentów chorujących na AZS były znamienne niższe w odniesieniu do analogicznych ocenianych w grupie osób zdrowych. Dla niektórych parametrów nie podano w tekście rozprawy pełnej charakterystyki.

W 12 stronicowym rozdziale Dyskusja w dużej części powtarza Doktorant rozdział „Wyniki” przytaczając po raz kolejny wartości średnie ocenianych parametrów uzyskanych w grupie pacjentów chorych na AZS oraz w grupie osób zdrowych. Jak pisze na stronie 82 podobne do uzyskanych w niniejszej pracy wyniki uzyskało wielu autorów, co zdaniem Doktoranta sugeruje, iż „zastosowany przez Niego model badawczy został odpowiednio dobrany do zaplanowanych i wykonanych eksperymentów”. W kolejnych akapitach rozdziału podaje charakterystykę każdej z badanych cytokin. Niestety z powodu braku oceny korelacji nie można powiązać

ocenianych wartości w sieć wzajemnych powiązań, co bardzo wzbogaciłoby tak wyniki, jak i wyniosło dyskusję na wyższy poziom merytoryczny.

Z wieńczących pracę 8 wniosków siedem jest bardziej podsumowaniem wyników, zaś wniosek ósmy nieuprawniony, gdyż ani czynnik transkrypcyjny NFκB ani kinazy z rodziny MAP nie były przedmiotem oceny przeprowadzonej w ramach niniejszej pracy.


Uważam, iż przedstawiona mi do oceny praca stanowi przyczynek do dalszych badań nad poznaniem roli cytokin pro- i przeciwzapalnych w rozwoju i ewolucji zmian skórnych obserwowanych w przebiegu atopowego zapalenia skóry. Pracę doktorską mgr Łukasza Szymańskiego oceniam pozytywnie, pomimo wskazanych wcześniej uwag, wątpliwości i pytań. Uzyskane wyniki korespondują z założonym celem pracy.

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr Łukasza Szymańskiego spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 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.), zatem przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr Łukasza Szymańskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Łączę wyrazy szacunku,

Anna Stasiak-Barmuta

KIEROWNIK
Zakładu Immunologii Klinicznej



prof.dr hab.n.med. Anna Stasiak-Barmuta

Białystok, 24 stycznia 2017 r.