Prof. zw. dr hab. med. Joanna Narbutt
Klinika Dermatologii, Dermatologii Dziecięcej i Onkologicznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź, 15.06.2019

UNIWERSYTET MEDYCZNY w ŁODZI
Wydział Wojskowo-Lekarski
II Katedra Dermatologii
Klinika Dermatologii,
Dermatologii Dziecięcej i Onkologicznej
91-347 Łódź, ul. Kniaziewicza 1/5
tel. (0-42) 251-61-92, tel./fax (0-42) 651-10-72

**Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgrBeaty Bugary pt.: „Rola białka MCPIP1 w odpowiedzi keratynocytów na stres“**

Pod wpływem ekspozycji skóry na promieniowanie ultrafioletowe dochodzi do powstania stanu zapalnego poprzez wydzielanie cytokin prozapalnych oraz poszczególnych mediatorów. W konsekwencji przewlekłej ekspozycji na UVR obserwuje się miejscowy stan immunosupresji, powstawanie stanów przednowotworowych oraz nowotworów skóry, a także przyspieszenie starzenie się skóry. Konsekwencje ekspozycji skóry na UVR sa więc niezwykle poważne w odniesieniu do stanu zdrowia, natomiast poszczególne mechanizmy mimo coraz większej wiedzy, nie są do końca wyjaśnione.

Łuszczyca jest powszechną chorobą skóry, występująca u około 2-3% populacji. Jest to przewlekła, zapalna dermatoza, w której zmiany kliniczne dotyczą skóry i w około 40% stawów, ale też ze względu na towarzyszący ogólnoustrojowy stan zapalny towarzyszy jej wiele chorób ogólnoustrojowych, m.in. zespół metaboliczny. Dermatoza wywiera też bardzo negatywny wpływ na psychikę, co m.in. objawia się upośledzeniem jakości życia pacjentów. Obecnie coraz więcej wiemy na temat patogenezy tej choroby, co implikuje powstaniem nowych form farmakoterapii. Za kluczowa cytokinę regulatorową łuszczycy uznaje się interleukinę 23, natomiast efektorową – interleukinę (IL) 17. Wciąż jednak brakuje nam kilku ogniw łączących poszczególne etapy rozwoju łuszczycy i konieczne jest podejmowanie badań mających na celu ich wyjaśnienie.

Białko MCPIP1, kodowane przez gen *ZC3H12A* jest uznanym, ważnym regulatorem równowagi immunologicznej poprzez m.in. jego zdolność do degradacji niektórych cytokin prozapalnych, takich jak IL-1beta lub IL-6 oraz poprzez zdolność do hamowania aktywacji

czynnika transkrypcyjnego NFκB – kluczowego aktywatora stanu zapalnego. Nie jest natomiast dokładnie poznana rola tego białka w regulacji stanu zapalnego zachodzącego pod wpływem UVR, ani w patogenezie łuszczycy.

Waga zagadnień dotyczących patomechanizmu zapalenia pod wpływem UVR oraz patogenezy łuszczycy stanowi o dobrze dobranym temacie przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej.

Jej celem było sprawdzenie roli białka MCPIP1 w keratynocytach naświetlanych promieniowaniem UVB, określenie roli tego białka w komórkach skóry stymulowanych IL-17A orz charakterystyka jednego z przewidywanych wariantów składania mRNA *ZC3H12A* oraz przybliżenie jego funkcji w komórkach linii A431. Z punktu widzenia Recenzenta cele pracy są interesujące a uzyskane wyniki mogą stać się źródłem nowych wiadomości z zakresu działania promieni ultrafioletowych na skórę oraz patogenezy łuszczycy.

**Wstęp** - ta część pracy liczy 21 stron i stanowi bardzo rzeczowe wprowadzenie w tematykę badań podjętych w pracy. Autorka skrótowo przedstawiła dane na temat budowy skóry, podstawowe informacje o promieniowaniu UV, zjawiskach zachodzących w skórze pod jego wpływem, ze szczególnym uwzględnieniem szlaków aktywowanych pod wpływem UV oraz patomechanizmie powstającego zapalenia. W drugiej części omówiła podstawowe zagadnienia z zakresu łuszczycy, szczególnie udziału układu immunologicznego, w tym IL-17A w patomechanizmie powstania tarczek łuszczycowych oraz zaangażowanych w tym procesie szlaków sygnalizacyjnych. Dwa ostatnie podrozdziały wstępu omawiały jeden z procesów obróbki mRNA w jądrze komórkowym, tj. mechanizm składania pre-mRNA oraz informacje dotyczące białka MCPIP1, mechanizm jego działania, udział w odpowiedzi immunologicznej i m.in. w rozwoju nowotworów. Wszystkie przedstawione informacje są przejrzyste. W trakcie czytania tej części rozprawy doktorskiej nasuwa się spostrzeżenie, że Doktorantka swobodnie i jasno podsumowuje aktualny stan wiedzy. Wstęp ze wszystkimi podrozdziałami znakomicie wprowadza czytelnika w cele pracy, które zostały sformułowane jasno i wyczerpująco.

**Materiały i metody**

Materiał w pracy doktorskiej stanowiły hodowle pierwotnych keratynocytów ludzkich uzyskanych z biopsji zdrowych dawców, hodowle komórek HaCaT oraz hodowle komórek A431. Keratynocyty pierwotne naświetlane były promieniowaniem UVB, komórki HaCaT zostały poddane stymulacji IL-17A, a komórki linii A431- cytokinami: IL-1beta, IL-6 oraz TNF. Metodyka została opisana poprawnie i przejrzyście, jest wystarczająca do przeprowadzenia zaplanowanych analiz. Na wykonanie wszystkich badań Autorka uzyskała

zgodę Komisji Bioetyki (uchwała nr KBET/72/B/2008). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

**Wyniki** - w tej części pracy Autorka w sposób skrupulatny i szczegółowy przedstawiła uzyskane wyniki badań laboratoryjnych.

Do najważniejszych z nich należy wykazanie, że poziom białka MCPIP1 zmienia się w sposób dynamiczny pod wpływem naświetlania UVB, promienie UVB nie wpływają na stabilność mRNA i stabilizują poziom badanego białka. Biało MCPIP1 jest zaangażowane w regulację stanu zapalenia powstającego pod wpływem UVB. Ścieżka aktywacji czynnika transkrypcyjnego NFκB jest zaangażowana w aktywację białka MCPIP1 zachodzaca pod wpływem UVB. Bez watpeinia nowatorskim odkryciem jest obserwacja, że wyciszenie badanego białka przy pomocy siRNA zwiększa przeżywalność oraz aktywność metoboliczną keratynocytów, które wcześniej ulegają ekspozycji na UVB. W aspekcie patogenezy łuszczycy ciekawym wynikiem byłą obserwacja, że stymulacja komórek HaCaT IL-17A powoduje wzrost MCPIP1, zarówno na poziomiej mRNA, jak i białka, a w procesie tym bierze szlak sygnalizacyjny STAT3. W zakresie identyfikacji jednego z przewidywanych wariantów składania mRNA *ZC3H12A* wykazano, że alternatywny Wariant 3 wystepuje na wyższym poziomie w komórkach pierwotnych ketaynocytów NHEK niż komórkach nowotworowych A431. Ekspresja Wariantu 3 jest aktywowana pod wpływem cytokin prozapalnych oraz inhibitora proteasomu (epoksomycyny). W wyniku nadekspresji Wariantu 3 dochodzi do syntezy mniejszego białka niż podstawowe MCPIP1, które nie posiada właściwości RNazowej i przyspiesza podziały komórek A431. Uzyskane wyniki podkreśliły rolę białka MCPIP1 jako regulatora stanu zapalnego w keratynocytach poddawanych ekspozycji na UVB czy IL-17A. Ważnym osiągnieciem jest wykazanie po raz pierwszy istnienia wcześniej nieznanej, alternatywnej formy mRNA *ZC3H12A*.

Wyniki zostały opisane w sposób bardzo rzetelny, zwarty i czytelny. Liczne ryciny umieszczone w tekście umożliwiają przeprowadzenie szybkiej analizy wyników oraz znacznie je uwiarygadniają.

**Omówienie wyników** jest zwięzłe i odnosi w sposób czytelny uzyskane wyniki badań własnych do danych z piśmiennictwa. Po kolei Doktorantka odnosi swoje wyniki do danych literaturowych w sposób rzetelny, wyważony i uporządkowany, co sprawia, że Jej szczegółowe interpretacje i argumentacje są przekonujące.

Zapewne uzyskane wyniki badań i zebrany przegląd piśmiennictwa może być opublikowany całościowo w formie pracy oryginalnej i będzie cennym uzupełnieniem wiedzy na temat mechanizmu działania UVB oraz patogenezy łuszczycy.

W ocenie Recenzenta, zarówno wybór materiału oraz metod badawczych prawidłowe a sposób przedstawienia wyników i prowadzenie dyskusji nie budzi wątpliwości. Wnioski wyciągnięte przez Doktorantkę są ostrożne i wyważone, znajdują uzasadnienie w uzyskanych wynikach i odpowiadają postawionym celom. Doktorantka, po analizie wyników własnych oraz dyskusji literatury pozostawia otwarte hipotezy naukowe, które świadczą o dojrzałości oraz dociekliwości naukowej.

Literatura, obejmująca 218 pozycje została krytycznie wyselekcjonowana, dobrze dobrana i właściwie zacytowana.

W ocenie strony formalnej rozprawy stwierdzam, że praca ma prawidłową i przyjętą w pracach doktorskich strukturę. Poszczególne części zostały skomponowane z wyczuciem właściwych proporcji. Zwraca uwagę elegancka i czytelna szata graficzna, o spokojnej kolorystyce i dobrej jakości ryciny. Opracowanie tekstu wskazuje, że Autorka ma tzw. „lekkie pióro", wyraża swoje myśli swobodnie i precyzyjnie.

Reasumując, rozprawę doktorską mgr Beaty Bugary przeczytałam z dużym zainteresowaniem, ponieważ Autorka podjęła w niej aktualny, ważny i bardzo interesujący problem naukowy. Prawidłowo zaplanowała swoje badania, rzetelnie je wykonała, a wyniki badań skrupulatnie i wszechstronnie przedyskutowała. Praca ma istotne walory poznawcze, bowiem zawiera istotne obserwacje dotyczące patogenezy rozwoju zapalenia powstającego pod wpływem UVB, a także towarzyszącego łuszczycy.

Z pełnym przekonaniem przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ wniosek końcowy o dopuszczenie mgr Beaty Bugary do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Z wyrazami szacunku

KIEROWNIK
Oddziału Dermatologii, Dermatologii
Dziecięcej i Onkologicznej
Wojewódzkiego Specjalistycznego Szpitala
im. dr W. Biegańskiego w Łodzi
prof. dr hab. n. med. Joanna Narbutt

Prof. zw. dr hab. n. med. Joanna Narbutt