



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Katedra i Klinika Dermatologiczna
ul. Koszykowa 82a
02-008
dermatologia@wum.edu.pl

tel 22 502 13 24
Warszawa

Warszawa, 22.06.2019 r.

Ocena
rozprawy doktorskiej lekarz Magdaleny Żychowskiej
pt. „Charakterystyka nacieku zapalnego oraz ekspresji tkankowej i stężenia
interleukiny 17 w surowicy u pacjentów z liszajem płaskim”

Przedmiotem rozprawy doktorskiej lekarz Magdaleny Żychowskiej jest charakterystyka nacieku zapalnego oraz ekspresji tkankowej i stężenia interleukiny 17 w surowicy pacjentów z liszajem płaskim. Liszaj płaski jest zapalną dermatozą o wielu manifestacjach klinicznych, częstym problem w praktyce dermatologicznej. Zmiany dotyczą nie tylko skóry gładkiej, ale również skóry owłosionej, błon śluzowych i paznokci. Dane dotyczące częstości występowania liszaja płaskiego są rozbieżne, w zależności od rejonu geograficznego postać liszaja płaskiego z zajęciem skóry gładkiej występuje u około 0,22-1% dorosłej populacji a postać z zajęciem błony śluzowej jamy ustnej dotyczy około 1-4% populacji. U około 50-75% pacjentów z zajęciem skóry gładkiej obecne są zmiany w obrębie błony śluzowej jamy ustnej, ale sytuacja odwrotna występuje znacząco rzadziej. Etiologia choroby jest złożona, ale powszechnie uważa się, że liszaj płaski jest autoimmunologiczną chorobą, w której dochodzi do zależnego od limfocytów T uszkodzenia keratynocytów powodującego zmianą ekspresji antygenów na ich powierzchni. W piśmiennictwie istnieją doniesienia o związku

liszaja płaskiego z chorobami o podłożu autoimmunologicznym- bielactwem, łysieniem plackowatym, autoimmunizacyjnymi chorobami tarczycy i wątroby, toczniem rumieniowatym i zespołem Sjogrena, Związek ten dotyczy w szczególności ciężkich, wielolokacyjnych postaci śluzówkowych, z zajęciem błony śluzowej jamy ustnej i narządów płciowych. Część autorów sugeruje związek liszaja płaskiego z czynnikami infekcyjnymi, w tym najczęściej wskazuje się na wirusy hepatotropowe a ponadto związek ze szczepieniami, infekcjami bakteryjnymi i lekami. Te ostatnie mają być odpowiedzialne za zmiany liszajopodobne. Istotna jest rola stresu psychicznego- dane literaturowe wskazują, że zmiany jakie zachodzą pod jego wpływem w układzie immunologicznym i endokrynnym są związane z patogenezą choroby. Liszaj płaski w istotny sposób wpływa na jakość życia pacjenta: zmiany skórne powodują świąd, śluzówkowe- ból a w przypadku skóry owłosionej głowy i narządów płciowych dochodzi do trwałych następstw- bliznowacenia i powstawania zrostów, w znaczący sposób wpływających na jakość życia.

Interleukina 17, produkowana przez limfocyty Th17 jest cytokiną pełniącą istotną rolę w patogenezie wielu chorób zapalnych a leki blokujące tę cytokinę należą do współcześnie stosowanych metod terapeutycznych w dermatologii. Stosowane są typowo w łuszczycy, ale również w wielu innych dermatozach, istnieją próby ich zastosowania nawet w autoimmunizacyjnych chorobach pęcherzowych. Potencjalna rola interleukiny 17 w patogenezie liszaja płaskiego nie jest do końca poznana. W literaturze istnieją nieliczne doniesienia na temat roli tej cytokiny w przebiegu postaci śluzówkowych liszaja płaskiego, ale brak jest danych dotyczących związku IL-17 z postacią liszaja z zajęciem skóry gładkiej. Postać ta cechuje się odmiennym obrazem klinicznym i immunologicznym oraz odmiennym przebiegiem w stosunku do ciężkich, przewlekłych, nawrotowych postaci śluzówkowych. W tym aspekcie, wybrany przez lekarz Magdalenę Żychowską temat rozprawy doktorskiej jest niezwykle aktualny.

Przedstawiona do oceny praca lekarz Magdaleny Żychowskiej: „Charakterystyka nacieku zapalnego oraz ekspresji tkankowej i stężenia interleukiny 17 w surowicy u pacjentów z liszajem płaskim” ma układ typowy dla rozpraw doktorskich, liczy 172 strony, składa się z wprowadzenia, uzasadnienia podjęcia badań oraz celów pracy, materiałów i metod, wyników badań, omówienia, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz spisu piśmiennictwa, spisu rycin i tabel oraz aneksu zawierającego kwestionariusze oceny świądu i stanu emocjonalnego. Rozprawę poprzedza wykaz skrótów co ułatwia czytanie dysertacji.

Wprowadzenie do pracy stanowi podsumowanie współczesnej wiedzy i przegląd piśmiennictwa na temat patogenezы liszaja płaskiego z uwzględnieniem roli limfocytów T,

monocytów i makrofagów, komórek tucznych, komórek NK, limfocytów B oraz wybranych cytokin i białek. We wprowadzeniu Doktorantka szczegółowo omawia dane literaturowe na temat roli interleukiny 17 w patogenezie liszaja płaskiego, zarówno postaci śluzówkowej jak i skórnej. Należy podkreślić, że wstęp dysertacji jest starannie zredagowanym tekstem stanowiącym wartościowe merytorycznie wprowadzenie w tematykę badań Doktorantki.

Autorka postawiła przed sobą istotne i ambitne cele jakimi była kliniczna charakterystyka pacjentów z postacią skórną liszaja płaskiego, ocena stężenia IL-17 w surowicy tych pacjentów, znalezienie potencjalnych zależności pomiędzy stężeniem IL-17 oraz cechami klinicznymi choroby. Celem pracy była ponadto ocena jakościowa i ilościowa komórek układu immunologicznego nacieków zapalnych i ocena ekspresji IL-17 w zmianach skórnych w postaci skórnej liszaja płaskiego w porównaniu z ekspresją w prawidłowej skórze. Doktorantka w dojrzały i przemyślany sposób uzasadnia temat podjętych badań i formułuje hipotezę badawczą na temat roli tej cytokiny w patogenezie choroby i możliwości leczniczych z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciw interleukinie 17.

W rozdziale dotyczącym materiałów i metod Doktorantka opisała grupę badaną: 52 pacjentów z odmianą skórną liszaja płaskiego oraz grupę kontrolną. U pacjentów przeprowadzono wywiad lekarski dotyczący między innymi czasu trwania choroby, czasu trwania obecnego zaostrzenia, dotychczasowego leczenia, obecności świądu, nasilenia stresu, występowania schorzeń towarzyszących oraz przyjmowanych leków. U pacjentów oznaczono wskaźnik BMI, oceniono nasilenie świądu za pomocą skali numerycznej i czteropunktowego kwestionariusza oceny świądu a nasilenie stresu przy pomocy kwestionariusza oceny nasilenia stresu SRRS. Autorka określała typ kliniczny liszaja płaskiego (grudkowy, linijny, przerostowy, obrączkowy, pęcherzowy, typu pemfigoidu, nadżerkowy, zanikowy, barwnikowy, barwnikowy odwrócony lub dłoniowo-podeszwowy) współwystępowanie zmian na skórze owłosionej głowy, błonach śluzowych, paznokciach oraz powierzchnię zajętej skóry. U wszystkich badanych Autorka oznaczała: antygen HBs, przeciwciała anty-HBc oraz przeciwciała anty-HCV, ponadto stężenie IL-17 w surowicy metodą immunoenzymatyczną. W części retrospektywnej Doktorantka badała wycinki skóry od 14 pacjentów z potwierdzonym histologicznie rozpoznaniem LP. W tkankach u pacjentów z liszajem płaskim oraz u zdrowych ochotników wykonano oznaczenia immunohistochemiczne markerów komórkowych: CD4, CD8, CD20, CD56, CD68, c-Kit Foxp3 oraz cytokiny IL-17. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (nr KB – 235/2018).

Wszystkie uzyskane wyniki poddano właściwie dobranym metodom analizy statystycznej dobrze wyselekcjonowanymi testami. Uzyskane wyniki są przedstawione w bardzo precyzyjny sposób. Zwraca uwagę kompleksowość i mnogość dokonanych analiz, co jest dużym walorem recenzowanej pracy doktorskiej. W części dotyczącej wyników badań Doktorantka stwierdziła, że średnie BMI u badanych pacjentów z liszajem płaskim wynosiło $26,96 \pm 5,15 \text{ kg/m}^2$, średni wiek, w którym zaczęły pojawiać się pierwsze zmiany skórne wynosił $48,5 \pm 15,74$ lat. Czas trwania choroby w grupie badanej wynosił $3,15 \pm 6,87$ lat. Świąd występował u większości pacjentów- 45 (86,54%), jego średnie nasilenie wynosiło $5,25 \pm 3,03$ według skali NRS oraz $7,43 \pm 4,66$ punktów według czteropunktowego kwestionariusza oceny świądu. Średnie nasilenie stresu według kwestionariusz SRRS wyniosło $178,84 \pm 127,97$ punktów. Współwystępowanie zmian na błonach śluzowych jamy ustnej i narządów płciowych stwierdzono odpowiednio u 28 (53,85%) i 4 (7,69%) pacjentów. Paznokcie były zmienione chorobowo u 14 (26,92%) pacjentów, a zajęcie skóry owłosionej głowy obserwowano w 2 (3,85%) przypadkach. Doktorantka stwierdziła istotnie statystycznie częstsze współwystępowanie zmian w obrębie błony śluzowej jamy ustnej u mężczyzn w porównaniu z kobietami ($p=0,0088$). W grupie pacjentów z liszajem płaskim stwierdziła istotnie statystycznie wyższe stężenie IL-17 w surowicy w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio $0,218 \pm 0,221 \text{ ng/ml}$ i $0,126 \pm 0,058 \text{ ng/ml}$; $p=0,025$). U kobiet stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację między stężeniem IL-17 w surowicy i czasem trwania choroby ($p=0,02$; $r=-0,41$). W preparatach tkankowych pochodzących od pacjentów Autorka stwierdziła istotnie statystycznie większą liczbę komórek wykazujących ekspresję CD4 ($p<0,001$), CD8 ($p<0,001$), CD68 ($p<0,001$), Foxp3 ($p<0,001$), CD56 ($p=0,019$) oraz CD20 ($p<0,001$) w porównaniu z preparatami tkankowymi prawidłowej skóry pochodzącymi od zdrowych ochotników. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w ekspresji c-Kit w zmianach skórnych i zdrowej skórze. Ponadto Doktorantka stwierdziła istotnie statystycznie większą liczbę komórek wykazujących ekspresję IL-17 w skórze zmienionej chorobowo w porównaniu ze skórą zdrową ($p<0,001$). Liczba komórek wykazujących ekspresję IL-17 korelowała z liczbą komórek wykazujących ekspresję CD8 ($p=0,045$; $r=0,54$). Należy podkreślić, że przedstawione przez Doktorantkę cele badawcze zostały w pełni zrealizowane, co świadczy o dużej umiejętności planowania badań naukowych.

Omówienie w pracy jest napisane w sposób dojrzały i przejrzysty. Autorka przeprowadziła kompleksową analizę uzyskanych wyników w odniesieniu do danych literaturowych oraz umiejętnie i rzeczowo je zinterpretowała w oparciu o współczesny stan wiedzy. Świadczy to o bardzo dobrej znajomości tematu oraz umiejętności krytycznego


odnoszenia wyników badań własnych do danych z piśmiennictwa. Jest to istotną wartością pracy napisanej w znakomitym wrocławskim ośrodku dermatologicznym pod kierunkiem eksperta, cenionego specjalisty dermatologa pana profesora Wojciecha Barana.

W oparciu o uzyskane wyniki lekarz Magdalena Żychowska sformułowała pięć wniosków wypływających z przeprowadzonych przez siebie badań i stanowiących odpowiedź na postawione w pracy problemy badawcze. Doktorantka stwierdziła, że różnorodność komórek, które tworzą naciek zapalny w postaci skórnej liszaja płaskiego (komórki CD4+, CD8+, CD68+, Foxp3+, CD56+, CD20+) wskazuje na złożony patomechanizm rozwoju choroby a przewaga ekspresji CD4 nad CD8 w zmianach chorobowych oraz brak istotnych statystycznie różnic w ekspresji c-Kit w zmianach skórnych w porównaniu ze zdrową skórą, mogą stanowić przesłankę, przemawiającą za odrębnością patogenetyczną dwóch postaci liszaja płaskiego: skórnej i śluzówkowej. Autorka stwierdziła, że obecność zwiększonej liczby komórek NK w nacieku zapalnym pozwala przypuszczać, że komórki te współuczestniczą w uszkodzeniu keratynocytów a obecność zwiększonej liczby limfocytów B w nacieku zapalnym może świadczyć o współdziale odpowiedzi immunologicznej typu humoralnego w rozwoju zmian. Doktorantka konkluduje, że wysoka ekspresja IL-17 w zmianach chorobowych oraz podwyższone stężenie w surowicy może wskazywać na istotną rolę tej cytokiny w patogenezie postaci skórnej liszaja płaskiego co może stanowić potencjalny argument za zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko IL-17 w leczeniu ciężkich postaci liszaja płaskiego.

Rozprawa doktorska jest zaopatrzona w 66 rycin i 5 tabel. Spis piśmiennictwa liczy 129 właściwie dobranych pozycji literatury, w dominującej większości anglojęzycznych. Doktorantka wykazała się dobrą umiejętnością korzystania z bogatego piśmiennictwa, właściwie cytując poszczególne prace zarówno we wstępie jak i w omówieniu. Dobór piśmiennictwa świadczy o bardzo dobrej znajomości współczesnej literatury poświęconej tematowi rozprawy doktorskiej. Należy również podkreślić niezwykle staranność z jaką napisana jest cała praca oraz doskonale opracowanie graficzne.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska lekarz Magdaleny Żychowskiej „Charakterystyka nacieku zapalnego oraz ekspresji tkankowej i stężenia interleukiny 17 w surowicy u pacjentów z liszajem płaskim” stanowi oryginalny, własny wkład Autorki w rozwój wiedzy medycznej. Spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dn. 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (D.U. nr 65, poz.595 z późn. zm.). W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysockiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lekarz Magdaleny Żychowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na wysoką wartość merytoryczną pracy oraz zawarte w niej nowatorskie dane, zwracam się do Pana Dziekana i Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie pracy.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'M. Olszewska', is centered on the page.

Prof. dr hab. med. Małgorzata Olszewska