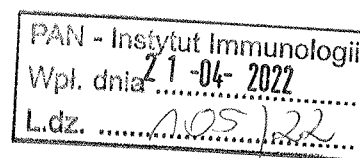




Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie



Szczecin, 19 kwietnia 2022 roku

Ocena rozprawy doktorskiej

mgr inż. Joanny Heleny Wielińskiej

Analiza wybranych cytokin i profilu miRNA u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów i zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa

Promotor: Prof. dr hab. Katarzyna Bogunia-Kubik

Reumatoidalne zapalenie stawów jest przewlekłą chorobą autoimmunologiczną, która powoduje zapalenie błony maziowej stawu, prowadząc do jego stopniowego zniszczenia i niepełnosprawności. RZS dotyczy około 1% populacji światowej, częściej ujawnia się u kobiet niż u mężczyzn, a szczyt zachorowań przypada w wieku 40-60 lat. W patogenezie choroby biorą udział czynniki immunologiczne, środowiskowe i genetyczne. Wczesna diagnostyka i wdrożenie farmakoterapii mogą spowolnić proces chorobowy, dlatego poszukiwane są nowe biomarkery aktywności i progresji choroby, które pozwolą na opracowanie nowych strategii leczenia w celu zapobieżenia nieodwracalnej destrukcji

stawów. Do tej pory ustalono, że ponad 100 loci jest związanych z ryzykiem zachorowania na RZS. Rozpoczęto liczne badania mające na celu odkrycie nowych czynników genetycznych, jak również wyjaśnienie patogenezы choroby i przełożenie nowych odkryć na spersonalizowane plany leczenia. Identyfikacja cech genetycznych, które predysponują do zachorowania na RZS, może pozwolić na odpowiednią i bardziej jednorodną klasyfikację pacjentów, a także na identyfikację osób, które prawdopodobnie odpowiedzą na leczenie, co pozwoli na wczesną diagnozę i lepsze wyniki terapeutyczne.

Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa jest przewlekłą chorobą zapalną, która zwykle dotyczy szkieletu kostnego i stawów. Uszkodzenia strukturalne mogą powodować trwałe ograniczenie ruchomości kręgosłupa i funkcji fizycznych. Dlatego bardzo ważna jest wczesna diagnostyka pacjentów oraz wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Obecnie poszukiwane są markery określające predyspozycję do zachorowania na reumatoidalne zapalenie stawów i zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa, wpływające na przebieg kliniczny oraz aktywność procesu chorobowego, pomagające w prognozowaniu odpowiedzi na zastosowaną terapię.

Bardzo dobrze się stało, że Doktorantka podjęła się tak ambitnego zadania, jakim było poszukiwanie czynników wpływających na zachorowanie i przebieg reumatoidalnego zapalenia stawów oraz zesztywniającego zapalenia stawów kręgosłupa.

Pracę doktorską stanowi zgodnie z artykułem 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” zbiór opublikowanych i powiązanych tematycznie 4 artykułów naukowych (3 oryginalnych i jednego przeglądowego) o łącznym współczynniku oddziaływania IF 13,463. Zgodnie z wymogami Ustawy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy

naukowej. Dołączono do niej autoreferat, w którym Doktorantka omawia publikacje wchodzące w jej skład.

W pierwszej pracy *“Interleukin 6 gene polymorphism is associated with protein serum level and disease activity in Polish patients with rheumatoid arthritis”* Doktorantka badała związek polimorfizmu rs1800795 genu IL-6 z zachorowalnością na RZS, przebiegiem procesu chorobowego oraz parametrami klinicznymi choroby. Do badania włączono 130 pacjentów z RZS i 112 osób z grupy kontrolnej. Rozkład genotypów IL-6 nie różnił się istotnie statystycznie pomiędzy chorymi na RZS i grupą kontrolną. Pacjenci z genotypem CC charakteryzowali się wyższym średnim stężeniem tej cytokiny przed leczeniem, a także częściej wykazywali większą aktywność choroby. Wyniki pracy sugerują, że polimorfizm rs1800795 genu IL-6 może odgrywać rolę w aktywności procesu chorobowego i skuteczności farmakoterapii chorych na RZS.

W drugiej pracy *“Polymorphisms within genes coding for IL-17A and F and their receptor as clinical hallmarks in ankylosing spondylitis”* Doktorantka oceniała rolę polimorfizmów IL-17A, IL-17F, IL-17RA i IL-17RC jako potencjalnych biomarkerów wpływających na zachorowanie, parametry kliniczne i skuteczność leczenia anty-TNF w grupie chorych na zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa. Do badania włączono 138 chorych na tę chorobę oraz 190 zdrowych ochotników. Oznaczono polimorfizmy genów: IL-17A rs2275913, IL-17F rs763780, IL-17RA rs4819554 oraz IL-17RC rs708567. Nie wykazano istotnych różnic w dystrybucji genotypów i alleli między pacjentami a grupą kontrolną. Zaobserwowano zależności pomiędzy polimorfizmami IL-17F rs763780 i IL-17RA rs4819554 a parametrami klinicznymi i wynikiem leczenia anty-TNF. Stwierdzono, że allel G IL-17F rs763780 wiąże się z wyższą aktywnością choroby po 6 miesiącach oraz słabą odpowiedzią

na leczenie, natomiast wyższe wartości VAS występowały częściej u nosicieli wariantu G IL-17RA rs4819554. Doktorantka konkluduje, że polimorfizm rs763780 genu IL-17F może być uważany za biomarker aktywności choroby i wyników leczenia anty-TNF. Allel IL-17RA rs48419554 G może służyć jako potencjalny marker ciężkości choroby.

W trzeciej pracy *“Exploring the extracellular vesicle microRNA expression repertoire in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis treated with TNF inhibitors”* Doktorantka oceniała rolę wybranych mikro RNA w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów i zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa.

Wykorzystując technologię profilowania NanoString, określono wybrane miRNA w pozakomórkowych cząsteczkach w surowicy i porównano je u pacjentów z RZS i ZZSK przed i po terapii anty-TNF, aby ocenić ich potencjalne zastosowanie jako biomarkera diagnostycznego i prognostycznego. Ponadto, przy użyciu algorytmów predykcji *in silico* oceniono możliwe efekty funkcjonalne miRNA, które charakteryzowały się najbardziej znaczącymi zmianami ekspresji. Zidentyfikowano 12 miRNA, których profil ekspresji pozwalał na różnicowanie pacjentów z RZS i ZZSK przed rozpoczęciem leczenia anty-TNF, a także miRNA, które ulegały istotnym zmianom podczas leczenia u pacjentów z RZS i ZZSK. Doktorantka sugeruje, że pozakomórkowe cząsteczki miRNA mogą być wykorzystane jako potencjalne biomarkery związane z odpowiedzią pacjentów z RZS i ZZSK na leczenie biologiczne.

W pracy przeglądowej *“miRNAs as potential biomarkers of treatment outcome in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis”* Doktorantka przedstawiła podsumowanie aktualnych strategii terapeutycznych, ze szczególnym uwzględnieniem miRNA, które jest uważane za potencjalny biomarker oraz możliwą odpowiedź na wyzwania związane z

przewidywaniem wyników leczenia u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów i zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa.

Przedłożoną do oceny rozprawę doktorską oceniam bardzo wysoko. Jest to obszerne, nowatorskie opracowanie tematu, bardzo istotnego z praktycznego punktu widzenia. Zebranie znacznego materiału klinicznego, dobór nowoczesnych metod badawczych, jak też złożona analiza statystyczna umożliwiły uzyskanie wiarogodnych wyników, które mogą mieć znaczenie w praktyce klinicznej.

Uporanie się z tak trudnym i obszernym zadaniem badawczym oraz tak wnikliwe i krytyczne przedstawienie wyników świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki, jej zdolnościach do wyznaczania celów badawczych i ich umiejętnego rozwiązywania. Oceniana rozprawa spełnia wszystkie wymagania określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”. Obiektywnym potwierdzeniem wartości tej rozprawy jest opublikowanie wyników badań Doktorantki w czasopiśmie o łącznym współczynniku oddziaływania IF 13,463. Dlatego też mam przyjemność wnioskować do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie mgr inż. Joanny Heleny Wielińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie rozprawy.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Fiziologii
prof. dr hab. n. med. Andrzej Pawlik