Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Kraków, 22.06.2020 r.

Znak: OCIN-141-9/16

Prof. dr hab. Jan Kowalski
Katedra i Zakład Genetyki Medycznej
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec

Szanowny Panie Profesorze,

Uprzejmie zawiadamiam, że Rada Naukowa Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk na posiedzeniu w dniu 16 października 2018 roku wybrała Pana Profesora recenzentem rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Curzytek. Tytuł rozprawy: „Badanie wpływu leków przeciwdepresyjnych na przebieg reakcji nadwrażliwości kontaktowej w modelach zwierzęcych i z zastosowaniem linii komórkowych HaCaT i JAWSII".

Uprzejmie proszę Pana Profesora o przyjęcie tego obowiązku i przedstawienie Radzie Naukowej Instytutu swojej opinii i wniosku w tej sprawie. Proszę o przekazanie recenzji w 1 egzemplarzu oraz w wersji elektronicznej na adres krzemin@if-pan.krakow.pl .

Z wyrazami szacunku

Dyrektor
Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk

Prof. dr hab. Władysław Lasoń

Załączniki:
1) rozprawa doktorska
2) umowa o dzieło (2 egz.)
3) rachunek
4) oświadczenia podatkowe (3 formularze)
5) informacja o przetwarzaniu danych osobowych

ul. Smętna 12
31-343 Kraków

e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

tel.: +48 12 662 32 20
+48 12 662 32 05
+48 12 662 32 49
fax: +48 12 637 45 00

Ocena pracy doktorskiej mgr Katarzyny Curzytek pt. "Badanie wpływu leków przeciwdepresyjnych na przebieg reakcji nadwrażliwości kontaktowej w modelach zwierzęcych i zastosowaniem linii komórkowych HaCaT i JAWSII.

Znaczący odsetek chorych na chorobę afektywną jednobiegunową nie odpowiada pozytywnie na terapię lekami przeciwdepresyjnymi, co z jednej strony wyklucza ich z życia społecznego, a z drugiej skłania do zachowań samobójczych. Leki p.depresyjne, będąc związkami o zróżnicowanej budowie chemicznej, do dziś nie mają określonego wspólnego mechanizmu biochemicznego czy molekularnego. Wydaje się, że mechanizm katecholaminergiczny, oddziaływania z osią HPA oraz neuroplastyczności mózgu powinien być wzmocniony interakcją z układem odornościowym. Podobnie jak brak wspólnego mianownika działania leków p. depresyjnych, tak też brak pełnego poznania przyczyn i przebiegu depresji u człowieka. Jedną z potencjalnych przyczyn zaburzeń afektywnych wydaje się być dysfunkcje niektórych składowych układu odpornościowego, co zostało wykazane w wielu pracach badawczych. Wysoce istotnym podejrzanym wydają się być cytokiny prozapalne, które będąc na obwodzie w podwyższonym stężeniu w surowicy krwi mogą przenikać przez „okienka" w barierze krew/mózg, a z drugiej strony są wytwarzane w stężeniach porównywalnych do tych z makrofagów obwodowych przez mózgowy mikroglej. Fakt, że leki p.depresyjne zmniejszają wydzielanie cytokin prozapalnych z aktywowanych makrofagów a prawdopodobnie również z mikrogleju u chorych (badania vitro wskazują na to) zdają się sugerować o potencjalnej roli cytokin w indukowaniu objawów depresji. Bez wątpienia ta myśl jest wzmocniona obserwacja mówiącą, że leki p.depresyjne o różnym mechanizmie działania powodują wzrost wytwarzania przeciwzapalnej IL-10. Ponadto przewlekłe podawanie LPS u szczurów w odpowiednim reżimie czasowym z jednej strony powoduje wzrost stężenia cytokin prozapalnych a z drugiej pojawienie się zachowań podobnych do występujących u człowieka chorego na depresję. Gwoli uczciwości naukowej nie możemy jednak wykluczyć zjawiska koincydencji we wcześniej poczynionych obserwacjach.

Doktorantka podjęła się badania związku pomiędzy chorobą alergiczną, a mianowicie alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry, a depresją na drodze poznania wpływu leków p.depresyjnych na szeroki wachlarz funkcji układu odpornościowego pobudzonego działaniem haptenu. We wstępie doktorantka starała się wykazać potencjalny związek pomiędzy kontaktowym zapaleniem skóry a depresją, udziałem odpowiedzi komórkowej i cytokinowej w reakcji nadwrażliwości kontaktowej. Wymienione tematy zostały przez doktorantkę opisane w sposób poprawny, wnoszący o jej dużej wiedzy z zakresu immunologii i stały się podstawą do przedstawienia celów i założeń pracy doktorskiej.

Celem pracy było poznanie mechanizmów związanych z oddziaływaniem leków p.depresyjnych na reakcję nadwrażliwości kontaktowej. Znakomitym pomysłem było zaangażowanie do badań zwierząt o haplotypach powodujących uzależnienie odpowiedzi od komórek Th1CD4+, bądź Tc1CD8+, a ponadto zwierząt defektywnych TCRdelta-/- (brak limfocytów z receptorem TCR), zwierząt o haplotypie CD1d-/- (brak komórek NKT), zwierząt o haplotypie B2m-/- (brak limfocytów cytotoksycznych CD8+). Właściwe było wybranie do badań in vitro linii komórkowych keratinocytów HaCaT oraz linii komórek dendrytycznych JAWSII bazując na wiedzy o ważnej roli keratinocytów i komórek dendrytycznych w reakcji nadwrażliwości kontaktowej.

Rozdział Materiały i metody jest niezwykle rozbudowany. Został zaprezentowany na 20 stronach maszynopisu. Duża liczba zastosowanych testów, w tym trudnych molekularnych (RT-QPCR, western blot, mikromacierze białkowe) budzą podziw i przynoszą myśl o tym jak znakomicie musiała być przygotowana laboratoryjnie doktorantka przystępując do wykonania przewidzianych w pracy eksperymentów. Wszystkie przedstawione metodyki są opisane poprawnie.

Wyniki zostały pokazane na aż 78 stronach maszynopisu, co stanowi gigantyczną ilość danych, trudną do jednorazowego przyjęcia. Jakość techniczna wykonania jest wysoka a

wyniki logiczne i wiarygodne. Jestem ciekaw ile lat trzeba nie opuszczać laboratorium aby otrzymać taką ilość wyników.

Dyskusja została napisana umiejętnie. Doktorantka pokazała swoje dokonania na tle wyników innych autorów, rozważając zarówno prace zbieżne wynikowo jak też te o wartościach odmiennych. W dyskusji oparła się o wiele publikacji z ostatnich lat, co dobrze mówi o jej aktualnej wiedzy i zaangażowaniu naukowym.

Rozdział Podsumowanie i wnioski oraz streszczenie zostały napisane bez zarzutu.

Zdaniem recenzenta najważniejsze odkrycia niniejszego opracowania polegają na udowodnieniu, że:

Leki p.depresyjne zmniejszają produkcję cytokin prozapalnych, chemokin oraz cząsteczek adhezyjnych w wyniku stymulacji komórek linii komórkowych keratinocytów HaCaT oraz komórek dendrytycznych JAWSII, co prawdopodobnie jest mechanizmem odpowiedzialnym za działanie przeciwzapalne.

Udowodnienie, że na poziomie molekularnym leki p.depresyjne działały za pośrednictwem jądrowego czynnika transkrypcyjnego NFkB oraz kinazy p38.

Wykrycie, że w warunkach in vivo leki p.depresyjne zmniejszały reakcję nadwrażliwości kontaktowej poprzez interakcję z subpopulacjami limfocytów TCD8+ oraz NKT.

Wykazanie, że kompleksowy efekt przeciwzapalny leków p.depresyjnych dotyczy zmniejszenia pobudzonego reakcją nadwrażliwości narządów limfatycznych, zmniejszeniem proliferacji limfocytów oraz redukcją wydzielania cytokin, chemokin i cząstek adhezyjnych.

Otrzymane wyniki pozwalają na rozważenie zastosowania leków p.depresyjnych w leczeniu uczulenia kontaktowego u ludzi. Wydaje się, że zbadanie częstości występowania oraz ciężkości zmiany u ludzi chorych na depresję i pobierających leki p.depresyjne z populacją chorych na uczulenie kontaktowe niepobierających leków p.depresyjnych mogłoby

wskazać na ewentualną przydatność tych leków w leczeniu alergicznego uczulenia kontaktowego.

Podsumowując pracę oceniam bardzo wysoko i zwracam się z prośbą do Rady Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie o skierowanie pracy mgr Katarzyny Curzytek do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Ponadto proszę o wyróżnienie dla pracy doktorskiej mgr Katarzyny Curzytek. Prośbę motywuję tym, że doktorantka wykazała się w czasie wykonania pracy doktorskiej ogromną pracowitością, umiejętnością wykonania trudnych molekularnych metod, zastosowaniem do badań zwierząt z niedoborami immunologicznymi, przeprowadzeniem badań in vitro i in vivo, uzyskaniem wyników, które mogą mieć zastosowanie praktyczne.

Pozostaję z wyrazami szacunku

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Genetyki Medycznej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
prof. dr hab. n. med. Jan Kowalski

Sosnowiec, 22 07 2020