



Lublin, dn. 29 marca 2025 r.

Recenzja pracy doktorskiej lekarz Aleksandry Kucharskiej-Lusiny
pt. „Profilowanie molekularnych markerów ryzyka rozwoju
reumatoidalnego zapalenia stawów”

Promotor: Profesor dr hab. n. med. Ireneusz Majsterek

Wprowadzenie

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), jako przewlekła i wyniszczająca choroba autoimmunizacyjna, jest nie tylko przedmiotem istotnych wyzwań diagnostycznych i terapeutycznych, ale również wyzwaniem społecznym, dotyczącym coraz szerszej grupy osób, także w wieku produkcyjnym.

Podstawą do ubiegania się przez lek. Aleksandrę Kucharską-Lusinę o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych jest cykl publikacji, obejmujący dwa oryginalne artykuły naukowo-badawcze oraz jedną pracę przeglądową. Wszystkie prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach ujętych w wykazie Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego:

Publikacja 1

Autorzy: **Kucharska-Lusina A.**, Skrzypek M., Binda A., Majsterek I.

Tytuł: *Gene Expression Profiling to Unfolded Proteins Response as a Risk Modulator of Patients with Rheumatoid Arthritis*

Źródło: *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25, 4854

Punktacja: *Impact Factor (IF): 4,9, MNiSW: 140*

Publikacja 2

Autor: **Kucharska-Lusina A.**

Tytuł: *Individual and molecular risk factors for the development of rheumatoid arthritis*

Źródło: *Wiadomości Lekarskie*, 2024; 77(10): 2013–2025

Punktacja: *MNiSW: 20*

Publikacja 3

Autor: **Kucharska-Lusina A.**

Tytuł: *ER-dependent apoptotic response to cellular stress in patients with rheumatoid arthritis*

Źródło: *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26, 2489

Punktacja: *Impact Factor (IF): 4,9, MNiSW: 140*

Rozprawa doktorska lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny została przygotowana z zachowaniem przejrzystej i logicznej struktury, typowej dla tego rodzaju opracowań naukowych. Otwierają ją starannie opracowane wykazy skrótów oraz lista publikacji, stanowiących oś pracy. Autorka zadbała o szeroki, merytorycznie bogaty wstęp, w którym jasno sformułowała cel badań oraz przedstawiła zastosowaną metodologię. Szczegółowo i rzeczowo omówiła każdą z publikacji, składających się na cykl, podkreślając ich znaczenie dla rozwoju wiedzy w dziedzinie patogenezy RZS. Całość





wieńczy przemyślane podsumowanie osiągnięć badawczych, a także streszczenia przygotowane zarówno w języku polskim, jak i angielskim. Do rozprawy dołączono także wykaz innych publikacji Autorki, dokumentujących jej aktywność badawczą, a także szczegółowe zestawienie pozostałych działań naukowych. Rzetelność i etyczność przeprowadzonych analiz potwierdzone zostały załączoną zgodą Komisji Bioetycznej oraz oświadczeniami, dotyczącymi wkładu Autorki w powstałe publikacje. Całość została dopełniona obszernym, starannie dobranym wykazem piśmiennictwa. Praca świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki, jej zaangażowaniu, pracowitości oraz konsekwentnym dążeniu do rozwijania wiedzy w zakresie biologii molekularnej i reumatologii. Na szczególne uznanie zasługuje fakt, iż mimo wczesnego etapu kariery zawodowej, lek. Aleksandra Kucharska-Lusina może poszczycić się imponującym dorobkiem naukowym – łączny Impact Factor jej publikacji wynosi 29,6, a punktacja MNiSW sięga 910.

Ocena wstępu rozprawy doktorskiej

Wstęp do rozprawy doktorskiej autorstwa lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny stanowi bardzo dobrze skonstruowane i merytorycznie bogate wprowadzenie do podjętej tematyki badawczej. Już od pierwszych akapitów czytelnik otrzymuje jasny przekaz, dotyczący motywacji Autorki, znaczenia społecznego problemu oraz kierunku naukowego, jaki obrała w pracy. Ten fragment pracy świadczy o dużym zaangażowaniu Autorki w temat oraz o wieloaspektowym rozumieniu problemu. Zwraca uwagę doświadczenie praktyczne Doktorantki jako lekarza, które wyraźnie wpływa na ujęcie problematyki – nie tylko w kontekście molekularnym, ale również klinicznym, rehabilitacyjnym i psychospołecznym. Podkreślając znaczenie bólu, niesprawności, współistniejącej depresji czy ograniczeń w codziennym funkcjonowaniu pacjentów z RZS, Autorka nadaje badaniu wymiar humanistyczny i empatyczny, co czyni jej podejście nie tylko naukowo, ale i etycznie dojrzałym. Istotnym walorem wprowadzenia jest kompleksowe omówienie dotychczasowej wiedzy na temat RZS, obejmujące epidemiologię, kryteria diagnostyczne, przebieg kliniczny, czynniki ryzyka oraz aktualne podejścia terapeutyczne – zarówno farmakologiczne, jak i niefarmakologiczne. Szczególną wartość stanowi szerokie ujęcie czynników molekularnych i genetycznych, które są podstawą dalszych analiz w dysertacji. Podkreślenie roli stresu retikulum endoplazmatycznego i odpowiedzi na niesfałdowane białka (UPR) oraz zaangażowanie takich genów jak PERK, eIF2 α , BAX, Bcl-2 czy TP53 pokazuje, że lek. Aleksandra Kucharska-Lusina operuje aktualną, specjalistyczną wiedzą z zakresu biologii komórki i immunologii. Na uznanie zasługuje również fakt, że Doktorantka nie ogranicza się wyłącznie do problematyki RZS – we wstępie sygnalizuje powiązania z innymi jednostkami chorobowymi, takimi jak choroby nowotworowe, stwardnienie rozsiane, ADHD, a nawet kwestie opieki paliatywno-hospicyjnej. Tego typu szeroka perspektywa świadczy o interdyscyplinarnym podejściu do medycyny oraz o rozumieniu współczesnych wyzwań zdrowotnych w ich złożonym, systemowym wymiarze.

Całość wprowadzenia jest spójna, logiczna, dobrze udokumentowana i napisana przystępnym, a zarazem precyzyjnym językiem naukowym. Stanowi solidne tło teoretyczne oraz uzasadnienie podjętej tematyki badawczej, wyraźnie wskazując na potrzebę dalszych badań nad molekularnymi mechanizmami odpowiedzialnymi za rozwój RZS. Tym samym należy ocenić wstęp do rozprawy jako bardzo dobry – przemyślany, wielowymiarowy i osadzony zarówno w literaturze przedmiotu, jak i w praktyce klinicznej.

Ocena celu rozprawy doktorskiej

Cel rozprawy doktorskiej należy ocenić jako trafnie sformułowany i istotny z punktu widzenia współczesnych potrzeb nauk biomedycznych oraz praktyki klinicznej. Skoncentrowanie się na





analizie ekspresji genów związanych z odpowiedzią komórkową na stres oraz procesami apoptozy, w kontekście reumatoidalnego zapalenia stawów, stanowi wartościowe podejście do poszukiwania nowych biomarkerów tej choroby. Uwzględnienie genów takich jak PERK, eIF2 α , BAX, Bcl-2 czy TP53 wskazuje na pogłębione rozumienie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw RZS, zaś rozszerzenie analizy o poziom uszkodzeń DNA i apoptozę zwiększa potencjał translacyjny uzyskanych wyników. Zaproponowany cel badania jest więc zarówno ambitny, jak i praktyczny – może przyczynić się do rozwoju bardziej precyzyjnych metod diagnostycznych oraz identyfikacji nowych celów terapeutycznych w leczeniu RZS.

Ocena metodyki badań stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej

Metodyka zastosowana w rozprawie doktorskiej lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny została zaplanowana z dużą starannością i zgodnie z aktualnymi standardami analiz naukowych. Badanie przeprowadzono w sposób etyczny, zgodnie z Deklaracją Helsińską, a uzyskanie zgody Komisji Bioetycznej oraz świadomej zgody pacjentów świadczy o właściwym podejściu do aspektów formalnych i etycznych. Dobór materiału biologicznego – jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMCs) izolowanych od pacjentów z RZS oraz osób zdrowych – jest odpowiedni do analizy procesów molekularnych towarzyszących chorobie. Wykorzystane metody, takie jak izolacja RNA, odwrotna transkrypcja, ilościowy PCR w czasie rzeczywistym z sondami TaqMan, cytometria przepływowa, test kometowy oraz oznaczanie aktywności kaspazy 3, są powszechnie akceptowane i zapewniają wysoką jakość oraz powtarzalność uzyskanych wyników. Zastosowanie kilku niezależnych technik analitycznych pozwala na kompleksową ocenę poziomu ekspresji wybranych genów, uszkodzeń DNA oraz intensywności procesów apoptycznych. Taki wieloaspektowy charakter analizy zwiększa wartość poznawczą badania i podnosi jego znaczenie w kontekście poszukiwania nowych markerów molekularnych RZS. Na uwagę zasługuje także rzetelnie przeprowadzona analiza statystyczna, uwzględniająca ocenę rozkładu zmiennych oraz właściwy dobór testów porównawczych. Przedstawienie wyników w formie średnich \pm SEM lub SD oraz jasne określenie poziomu istotności statystycznej świadczą o profesjonalnym podejściu do opracowania danych. Całość metodyki należy ocenić jako spójną, nowoczesną i w pełni adekwatną do celów pracy badawczej.

Ocena Publikacji 1

W publikacji pt. „*Gene Expression Profiling to Unfolded Proteins Response as a Risk Modulator of Patients with Rheumatoid Arthritis*”, lek. Aleksandra Kucharska-Lusina podjęła się ambitnego i niezwykle istotnego zagadnienia, jakim jest poszukiwanie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój i przebieg RZS. Praca ta bezsprzecznie zasługuje na pozytywną ocenę ze względu na swoją wysoką wartość naukową, aktualność tematyki oraz innowacyjność podejścia badawczego. Skoncentrowanie się na odpowiedzi komórkowej w warunkach stresu siateczki śródplazmatycznej (ER stress) oraz analizie szlaku UPR (Unfolded Protein Response), w szczególności jego ramienia zależnego od PERK, świadczy o głębokim zrozumieniu najnowszych doniesień z dziedziny immunologii molekularnej i patofizjologii zapaleń przewlekłych. Badanie przeprowadzono na solidnie dobranej i dobrze scharakteryzowanej grupie pacjentów i osób kontrolnych, z zachowaniem wysokich standardów etycznych oraz rygoru metodologicznego. Zastosowanie qPCR do oceny ekspresji genów PERK, BCL-2, eIF2, ATF4 oraz BAX umożliwiło precyzyjną analizę molekularną, której wyniki zostały dodatkowo podzielone według płci, co dodaje pracy wartości interpretacyjnej. Szczegółowe opracowanie statystyczne i wysoka istotność uzyskanych wyników (bardzo niskie wartości p) potwierdzają rzetelność prowadzonych analiz. Na szczególne uznanie zasługuje także warstwa teoretyczna pracy – obszernie i merytorycznie omówienie roli stresu ER, proteostazy oraz





mechanizmów UPR w komórkach eukariotycznych wskazuje na doskonałe przygotowanie lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny i umiejętność syntetycznego przedstawienia skomplikowanych procesów biologicznych. Przedstawienie zależności między utrzymującym się stresem ER a aktywacją szlaku apoptotycznego ma istotne implikacje kliniczne i może stanowić punkt wyjścia do opracowania nowych strategii terapeutycznych, zwłaszcza w kontekście inhibitorów PERK jako potencjalnych leków celowanych w RZS.

Podsumowując, publikacja stanowi przykład badania translacyjnego o wysokim potencjale praktycznym i naukowym. Wnosi nową jakość do badań nad molekularnymi podstawami RZS i może stać się fundamentem do dalszych badań klinicznych nad terapiami ukierunkowanymi na szlaki stresu siateczki śródplazmatycznej. Jest to praca dojrzała, nowoczesna i w pełni zasługująca na uznanie w środowisku naukowym.

Ocena Publikacji 2

Publikacja przeglądowa lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny pt. „*Individual and molecular risk factors for the development of rheumatoid arthritis*” zasługuje na najwyższą ocenę merytoryczną i naukową, stanowiąc znakomity przykład kompleksowego, interdyscyplinarnego podejścia do zagadnień związanych z patogenezą i czynnikami ryzyka RZS. Artykuł wyróżnia się imponującym zakresem tematycznym, obejmującym zarówno czynniki osobnicze, środowiskowe, genetyczne, epigenetyczne i hormonalne, jak i szczegółową analizę mechanizmów molekularnych związanych z odpowiedzią komórkową na stres retikulum endoplazmatycznego. Autorka w sposób syntetyczny, a jednocześnie pogłębiony, przedstawiła najnowszy stan wiedzy z wielu dziedzin – od immunologii, poprzez endokrynologię, aż po biologię molekularną i genetykę – co świadczy o jej znakomitej orientacji w aktualnych trendach badawczych i doskonałym przygotowaniu merytorycznym. Publikacja ma dużą wartość praktyczną i edukacyjną – systematyzuje wiedzę o czynnikach ryzyka RZS, przywołując bogaty materiał źródłowy i wyniki licznych badań populacyjnych, kohortowych oraz eksperymentalnych. Szczególną wartość wnosi rozdział poświęcony szlakowi UPR i roli kinazy PERK jako potencjalnego celu terapeutycznego. To nowoczesne i perspektywiczne podejście, otwierające nowe możliwości w obszarze terapii celowanych, stanowi cenny wkład w rozwój reumatologii molekularnej. Wysoki poziom naukowy tekstu potwierdza znakomita jakość opracowania literaturowego – Doktorantka posługuje się obszernym zasobem aktualnych źródeł, odnosi się do najnowszych publikacji, badań wielośrodkowych oraz przeglądów systematycznych, co dodatkowo wzmacnia wiarygodność i rzetelność prezentowanych informacji. Na uwagę zasługuje również klarowna struktura pracy oraz umiejętność prowadzenia narracji w sposób logiczny i spójny. Każdy z obszarów tematycznych został omówiony z należytą starannością, a wnioski końcowe są przemyślane i trafnie podsumowują znaczenie opisywanych mechanizmów oraz ich potencjał diagnostyczno-terapeutyczny.

Podsumowując – publikacja ta nie tylko wnosi istotny wkład w zrozumienie złożonej etiopatogenezy RZS, ale również wskazuje na realne kierunki dalszych badań oraz możliwości wdrażania innowacyjnych rozwiązań terapeutycznych. Stanowi bardzo wartościowe źródło wiedzy dla lekarzy, naukowców i studentów kierunków medycznych. Bez wątpienia jest to praca dojrzała, nowoczesna i zasługująca na szczególne uznanie.

Ocena Publikacji 3

W pracy pt. „*ER-dependent apoptotic response to cellular stress in patients with rheumatoid arthritis*”, lek. Aleksandra Kucharska-Lusina, wykorzystując zaawansowane techniki biologii molekularnej, w tym RT-qPCR, cytometrię przepływową oraz test kometowy, przeprowadziła dogłębną





analizę zależności pomiędzy szlakiem UPR (Unfolded Protein Response), a indukcją apoptozy u pacjentów z RZS. Publikacja ta stanowi wyjątkowo istotny wkład w zrozumienie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój i przebieg RZS. Wyniki badań przedstawione w pracy są nie tylko spójne, ale również wysoce przekonujące i dobrze udokumentowane. Zidentyfikowana zwiększona ekspresja eIF2 α , TP53 oraz BBC3 (PUMA) u pacjentów z RZS potwierdza aktywację szlaku odpowiedzi na stres ER, który – jak wykazano – prowadzi do nasilonej apoptozy komórek jednojądrzastych krwi obwodowej. Co więcej, istotne różnice w poziomach aktywności kaspazy-3 oraz wrażliwości komórek PBMC na uszkodzenia oksydacyjne (H₂O₂) wskazują, że proces apoptozy w kontekście przewlekłego stresu komórkowego może mieć kluczowe znaczenie w patogenezie RZS. Na szczególne uznanie zasługuje kompleksowość przeprowadzonych analiz oraz umiejętne powiązanie wyników eksperymentalnych z aktualnym stanem wiedzy. Doktorantka nie ograniczyła się jedynie do analizy ekspresji pojedynczych genów, lecz uwzględniła całościowy kontekst biologiczny, łącząc obserwacje molekularne z kliniczną charakterystyką pacjentów. Wnioski z pracy nie tylko potwierdzają aktywność szlaku PERK–eIF2 α –ATF4–CHOP w RZS, ale też wskazują na potencjalne zastosowanie jego elementów jako markerów diagnostycznych i celów terapii molekularnej. Podkreślić należy również doskonałą organizację metodologiczną oraz rzetelne opracowanie danych statystycznych. Praca została wykonana z najwyższą starannością, a jej wartość naukowa oraz potencjalny wpływ na rozwój spersonalizowanej terapii RZS są niezaprzeczalne.

Z pełnym przekonaniem oceniam publikację jako wybitną, zarówno pod względem merytorycznym, jak i praktycznym. Stanowi ona przykład nowoczesnych badań translacyjnych, które mogą przyczynić się do wyznaczenia nowych standardów diagnostycznych i terapeutycznych w reumatologii.

Podsumowanie

Przedstawiona mi do oceny rozprawa lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny zasługuje na najwyższą ocenę merytoryczną, metodologiczną i poznawczą. Przedstawione badania łączą w sobie wnikliwą analizę aktualnego stanu wiedzy z oryginalnym podejściem eksperymentalnym, skupionym na molekularnych mechanizmach odpowiedzi komórkowej związanych z przewlekłym stresem retikulum endoplazmatycznego w patogenezie RZS. Autorka w sposób niezwykle kompetentny i interdyscyplinarny podejmuje tematykę, która wymaga biegłości zarówno w zakresie reumatologii klinicznej, jak i biologii molekularnej. Badania nad ekspresją genów PERK, BCL-2, eIF2, ATF4, BAX, TP53 i BBC3 (PUMA) w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej chorych z RZS ukazują zaawansowany poziom warsztatu badawczego, a także trafność hipotez badawczych opartych o najnowsze dane światowej literatury. Na szczególne uznanie zasługuje integracja wyników badań własnych z aktualnymi kierunkami badań nad patogenezą RZS, zwłaszcza w kontekście możliwego wykorzystania szlaku UPR zależnego od kinazy PERK jako biomarkera diagnostycznego oraz celu dla terapii spersonalizowanej. Wysoka jakość opracowania, bardzo dobra struktura cyklu, logiczny i spójny tok rozważań oraz umiejętność formułowania wniosków praktycznych i teoretycznych potwierdzają dojrzałość naukową Autorki. Warto także podkreślić imponującą wartość punktową całości dorobku Doktorantki, co potwierdza jego wartość naukową i znaczenie dla środowiska medycznego. Lek. Aleksandra Kucharska-Lusina wykazała się dużą samodzielnością badawczą, znakomitą znajomością literatury przedmiotu oraz doskonałą umiejętnością interpretacji i prezentacji wyników badań. Przedstawiony cykl stanowi znaczący wkład w rozwój wiedzy na temat molekularnych mechanizmów RZS, a jednocześnie daje realne podstawy do rozwoju innowacyjnych strategii terapeutycznych. Praca ta nie tylko spełnia wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim w





dziedzinie nauk medycznych, ale w wielu aspektach znacząco je przewyższa. Obejmuje zarówno nowatorskie badania własne, jak i ich dojrzałą, interdyscyplinarną interpretację z pogranicza reumatologii, biologii molekularnej i medycyny translacyjnej. Zastosowanie zaawansowanych metod analizy ekspresji genów, rzetelne opracowanie statystyczne, logiczna konstrukcja cyklu oraz wysokie walory publikacyjne prac świadczą o ponadprzeciętnej dojrzałości naukowej lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny.

Stwierdzam zatem z głębokim przekonaniem, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny pt.: „Profilowanie molekularnych markerów ryzyka rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów”, spełnia wszelkie warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 oraz Dz. U. 2018 poz. 1669, z późn. zm.). Jest oryginalnym i wartościowym dorobkiem Autorki, Ośrodka oraz Promotora. W związku z tym, z przyjemnością mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Aleksandry Kucharskiej-Lusiny do dalszych etapów przewodu doktorskiego. W związku z wyjątkowo wysokim poziomem merytorycznym, nowatorskim podejściem do problematyki reumatoidalnego zapalenia stawów oraz imponującą jakością i wartością publikacyjną przedstawionego cyklu prac, wnoszę o wyróżnienie tej rozprawy.

KIEROWNIK
Zakładu Immunologii Doświadczalnej
Katedry Nauk Biomedycznych
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Ewelina Grywalska
prof. dr hab. n. med. Ewelina Grywalska

