

Białystok, dnia 18.06.2025 r.

dr hab. n. med. Julia Nowowiejska

Klinika Dermatologii i Wenerologii

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

julia.nowowiejska@umb.edu.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Mikroskopia sił atomowych (AFM)
jako innowacyjna metoda obrazowania i diagnostyki chorób włosów”
lek. Karoliny Krawczyk-Wołoszyn na stopień doktora nauk medycznych**

Lek. Karolina Krawczyk-Wołoszyn ukończyła studia na kierunku lekarskim na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi w 2018 roku z wyróżnieniem. Następnie, po odbyciu stażu podyplomowego, rozpoczęła specjalizację w dziedzinie dermatologii i wenerologii w Klinice Dermatologii w Rzeszowie oraz kształcenie w Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Rzeszowskiego.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa obejmuje 83 strony opracowanego wydruku. Zawiera kolejno życiorys i dotychczasowy dorobek naukowy Doktorantki, wykaz skrótów użytych w rozprawie, wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy, sformułowane cele pracy, zastosowane materiały i metody, uzyskane wyniki, dyskusję, kopie publikacji stanowiących rozprawę, wyciągnięte wnioski, przeanalizowane piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim, oświadczenia współautorów oraz zgodę komisji bioetycznej na przeprowadzone badanie.

Dotychczasowy dorobek naukowy Doktorantki, z wyłączeniem publikacji wchodzących w skład rozprawy, jest obszerny; zawiera zarówno prace opublikowane w czasopiśmie, jak i rozdziały w podręcznikach. Ponadto, Doktorantka brała udział w badaniach klinicznych i angażowała się w aktywności dydaktyczne oraz współorganizowała wydarzenia naukowe. Należy więc zauważyć, że Doktorantka od początku specjalizacji podejmowała pracę badawczo-naukową i dydaktyczną.

Liszaj płaski mieszkowy (*lichen planopilaris*, LPP) jest najczęstszą przyczyną łysienia bliznowaciejącego, a w ostatnich czasach liczba pacjentów zgłaszających się do dermatologa z tym schorzeniem diametralnie wzrasta. Zgodnie z najnowszymi doniesieniami, wyróżnia się kilka jego odmian, mianowicie postać klasyczną, łysienie czołowe bliznowaciejące (*frontal fibrosing alopecia*, FFA) i zespół Grahama-Little'a, a niektórzy naukowcy rozważają także *fibrosing alopecia in pattern distribution* jako jego czwarty wariant. Patogeneza LPP nie jest do końca poznana, jednakże jest on traktowany jako choroba autozapalna, cechuje się naciekiem limfocytarnym z limfocytów cytotoksycznych, które indukują apoptozę komórek warstwy podstawnej naskórka. W konsekwencji procesu zapalnego dochodzi do bliznowacenia i nieodwracalnej utraty mieszków włosowych. Jak Doktorantka sama podkreśla we wstępie rozprawy – rozpoznanie LPP na najwcześniejszych etapach choroby jest kluczowe, ponieważ wczesne wdrożenie terapii może zapobiec progresji i nieodwracalnemu łysieniu. Wobec powyższego, wybór zagadnienia do analizy w ramach postępowania doktorskiego uważam za ważny i jak najbardziej zasadny.

Doktorantka w swojej pracy wykorzystwała mikroskopię sił atomowych (*atomic force microscopy*, AFM) – narzędzie diagnostyczne, które nie jest powszechnie wykorzystywane w codziennej praktyce klinicznej, przede wszystkim z uwagi na czasochłonność procedury i koszt aparatury, jednakże umożliwiające badanie zjawisk biologicznych przyżyciowo, w czasie rzeczywistym i zobrazowanie ich w sposób trójwymiarowy, przy czym w dodatku zwykle ma rozdzielczość (sub)nanometrową. W dostępnej literaturze nie istnieje wiele doniesień w dziedzinie dermatologii na temat wykorzystania AFM, w związku z powyższym uważam zastosowanie akurat takiej metody za innowacyjne.

W skład rozprawy doktorskiej wchodzi trzy publikacje:

1. Krawczyk-Wołoszyn K, Roczkowski D, Reich A, Żychowska M. **Applying the Atomic Force Microscopy Technique in Medical Sciences-A Narrative Review.** *Biomedicines*. 2024;12(9):2012. doi: 10.3390/biomedicines12092012. – praca przeglądowa
2. Krawczyk-Wołoszyn K, Roczkowski D, Reich A. **Evaluation of Surface Structure and Morphological Phenomena of Caucasian Virgin Hair with Atomic Force Microscopy.** *Medicina (Kaunas)*. 2024;60(2):297. doi: 10.3390/medicina60020297. – praca oryginalna
3. Krawczyk-Wołoszyn K, Żychowska M, Reich A. **Evaluation of hair surface structure and morphology of patients with lichen planopilaris (LPP) by atomic force**

microscopy (AFM). Skin Res Technol. 2024;30(9):e70030. doi: 10.1111/srt.70030. – praca oryginalna

Wszystkie trzy prace zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, a ich łączna punktacja na dzień złożenia rozprawy doktorskiej wynosi IF = 8,3 oraz MEiN = 210, a na dzień dzisiejszy, uwzględniając dane za rok 2024, IF = 9,0 oraz MEiN = 210.

Pierwsza praca, **Applying the Atomic Force Microscopy Technique in Medical Sciences-A Narrative Review**, została opublikowana w czasopiśmie *Biomedicines* i stanowi przegląd dostępnych informacji na temat zastosowania AFM w różnych dziedzinach medycyny. Manuskrypt zawiera rycinę ilustrującą zasadę działania AFM oraz opis metody działania. W zakresie dermatologii, Doktorantka opisuje możliwe wykorzystanie AFM w analizie budowy i funkcjonowania komórek naskórka, co znalazło zastosowanie w atopowym zapaleniu skóry i chorobach pęcherzowych, ponadto w starzeniu się skóry i czerniaku. Wreszcie, Doktorantka analizuje dotychczasowe zastosowanie AFM w chorobach skóry owłosionej głowy, wskazując, iż do tej pory tą metodą badano głównie uszkodzenia łodyg włosowych w następstwie stosowania środków chemicznych lub ekspozycji na niekorzystne czynniki środowiskowe, zmiany morfologii łodyg u pacjentów z łuszczycą skóry owłosionej oraz różnice w budowie łodyg pomiędzy rasami. Dogłębna analiza dostępnych informacji na temat AFM w chorobach skóry wykazała więc, że najprawdopodobniej dotychczas nie opisano wykorzystania AFM u chorych z LPP, co stanowi uzasadnienie dla konieczności podjęcia niniejszego badania. Należy także podkreślić, że sama praca przeglądowa liczy aż 171 pozycji piśmiennictwa.

Kolejne dwie prace wchodzące w skład rozprawy to artykuły oryginalne, napisane w oparciu o wyniki uzyskane w badaniu przeprowadzonym przez Doktorantkę na 20 osobach rasy kaukaskiej (10 pacjentów z potwierdzonym histopatologicznie LPP, 10 uczestników bez chorób skóry). Czyste włosy uczestników badania wyrwane wraz z korzeniami zostały zeskanowane za pomocą AFM w 9 lokalizacjach. Łącznie Doktorantka przeanalizowała aż 836 zdjęć.

Celem badania były:

1. Określenie typowych cech i wyglądu powierzchni zdrowego włosa w nanoskali za pomocą AFM oraz stworzenie schematu referencyjnego włosa zdrowego.

2. Wykazanie wpływu limfocytarnego nacieku zapalnego w mieszkach włosowych i hiperkeratynizacji ujść mieszków włosowych na morfologię łodyg włosów u pacjentów z LPP.
3. Ocenienie skuteczności zastosowania AFM do wykrywania różnic między włosami zdrowymi a chorymi.

W drugiej pracy z cyklu, a pierwszej oryginalnej, **Evaluation of Surface Structure and Morphological Phenomena of Caucasian Virgin Hair with Atomic Force Microscopy**, opublikowanej w czasopiśmie *Medicina*, przeanalizowano łodygi włosowe 10 osób bez chorób skóry. Doktorantka przedstawiła zjawiska obserwowane za pomocą AFM u osób rasy kaukaskiej bez chorób skóry. Pierwsze doniesienia na ten temat pochodzą z 2000 roku, jednakże w dostępnych do dnia dzisiejszego publikacjach nie oceniano szczegółowo dyskretnych cech, jakie można zaobserwować w obrębie łodyg włosowych za pomocą AFM, ani właściwości, które można im przypisać. Doktorantka na podstawie swojego badania oraz analizy literatury scharakteryzowała siedem cech prawidłowej łodygi włosowej, które mogą odzwierciedlać naturalny proces delaminacji. Badanie może stanowić podwaliny dla utworzenia schematu referencyjnego prawidłowej łodygi włosowej, który to będzie przydatny w przyszłych badaniach dotyczących wykorzystania AFM w różnych chorobach skóry owłosionej głowy.

W trzeciej pracy z cyklu, a drugiej oryginalnej, **Evaluation of hair surface structure and morphology of patients with lichen planopilaris (LPP) by atomic force microscopy (AFM)**, opublikowanej w czasopiśmie *Skin Research & Technology*, Doktorantka porównała morfologię łodyg włosowych 10 pacjentów z histopatologicznie potwierdzonym LPP, zarówno postacią klasyczną, jak i FFA, do 10 osób bez chorób skóry. Odnotowano istotnie statystycznie wyższą liczbę zadrapań, większą intensywność falistych krawędzi, wyższą liczbę łusek z ubytkami i mniejszą liczbę łusek z prążkowaną powierzchnią u pacjentów z LPP w porównaniu do łodyg włosów osób zdrowych. Ponadto unikalnymi cechami morfologicznymi, jakie zaobserwowano jedynie u pacjentów z LPP były zakrzywione elipsoidalne wgniecenia, pęknięcia wzdłużne wolnych brzegów łusek i perforowane struktury na powierzchni włosów.

W obu publikacjach część zdjęć z AFM została przedstawiona w postaci wysokiej jakości, kolorowych rycin ze wskazaniem zjawisk obserwowanych w obrębie łodyg włosów,

ponadto wyniki zostały zebrane w tabeli w postaci ilościowej i opisowej, a dystrybucja kluczowych objawów została także przedstawiona w postaci tzw. mapy cieplnej (*heat-map*).

Na podstawie badania Doktorantka wyciągnęła następujące wnioski:

1. W zdrowym włosie można wyróżnić cztery podstawowe powierzchnie morfologiczne (prążkowana powierzchnia, gładka powierzchnia, endokutikula, kora), które odzwierciedlają proces naturalnej delaminacji włosa, oraz kilka cech morfologicznych typowych dla wszystkich włosów (*pitting, oval indentations, rod-shaped macro-fibrillar elements, globules, scratches, wavy endge*).
2. Nasiloną obecność zmian morfologicznych takich jak: *scratches, pitting, wavy edges* i perforowane struktury we włosach pobranych od osób chorych mogą być efektem zmian w architektonice mieszka włosowego spowodowanych naciekiem zapalnym.
3. Niniejsze badanie stanowi porównanie pomiędzy dziewiczymi, zdrowymi włosami rasy kaukaskiej a włosami pacjentów z LPP za pomocą AFM. Włosy osób z LPP i zdrowe włosy mają zauważalne różnice widoczne w zakresie ich powierzchni. Wyniki tego badania mogą być wykorzystane do dalszych badań i prac związanych z LPP.

Założone cele badania zostały zrealizowane. Istotnie uzyskane wyniki poszerzają nasz stan wiedzy na temat morfologii prawidłowych łodyg włosowych w AFM, jak również LPP i mogą stanowić podwaliny do dalszych badań, a Doktorantce życzę ich rozwinięcia w przyszłości w innych chorobach skóry owłosionej głowy. Należy także podkreślić, że AFM została po raz pierwszy wykorzystana do oceny chorych z LPP, co podnosi wartość badania.

Całość pracy udowadnia, że Doktorantka posiada odpowiednie umiejętności, aby zaplanować badanie, zrealizować je, opracować uzyskane dane i je zinterpretować. Załączone oświadczenia współautorów niniejszego badania wskazują na znaczący udział Doktorantki w jego przebiegu.

Rozprawa doktorska nie budzi zastrzeżeń pod kątem edytorskim i cechuje się przejrzystym, logicznym układem.

Podsumowując, rozprawę lek. Karoliny Krawczyk-Wołoszyn na stopień doktora nauk medycznych oceniam **pozytywnie**. Rozprawa spełnia ustawowe wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2022

r., poz. 574 ze zm.). Wnoszę o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę nowatorski aspekt badania, zaangażowanie Doktorantki w jego przeprowadzenie oraz jakość opublikowanych artykułów z przyjemnością wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

dr hab. n. med. Julia Nowowiejska