



Prof. dr hab. Michał Pikula

Gdańsk, 14.01.2026

Profesor, Zastępca Dyrektora Pierwszej Szkoły Doktorskiej GUMed

Pracownia Inżynierii Tkankowej i Medycyny Regeneracyjnej

Zakład Embriologii, Katedra Anatomii, Wydział Lekarski

Gdański Uniwersytet Medyczny (GUMed)

ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk, bud. CBM

tel. 58 3491368 (bezp.); 58 3491495 (sekretariat)

e-mail: pikula@gumed.edu.pl

www.medreg.gumed.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej Pana mgra Krzysztofa Sitko pt. „Rola białka Hsp90 w atopowym zapaleniu skóry” („The role of Hsp90 in atopic dermatitis”) przygotowana na wniosek Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego. Rozprawa doktorska na stopień doktora nauk ścisłych i przyrodniczych.

Rozprawa doktorska pt. „The role of Hsp90 in atopic dermatitis” została zrealizowana w Pracowni Immunologii Komórkowej i Molekularnej, Katedry Biologii Molekularnej, Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem prof. dra hab. Stefana Tukaja. Rozprawa doktorska została przygotowana w języku angielskim. Praca ma charakter cyklu publikacji i obejmuje: wykaz prac wchodzących w jej skład, objaśnienie skrótów i nazw, streszczenia w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, cele pracy, omówienie pięciu publikacji stanowiących podstawę rozprawy, podsumowanie całości rozprawy, piśmiennictwo, publikacje, oświadczenia współautorów oraz opis pozostałej aktywności naukowej doktoranta.

Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej:

1. Praca pogładowa: Heat Shock Protein 90 (HSP90) and HSP70 as Potential Therapeutic Targets in Autoimmune Skin Diseases. Stefan Tukaj, Krzysztof Sitko. *Biomolecules*, 2022, doi: 10.3390/biom12081153; (IF2022 5,5; MNiSW 100)
2. Praca oryginalna: Circulating heat shock protein 90 (HSP90) and autoantibodies to HSP90 are increased in patients with atopic dermatitis. Krzysztof Sitko, Marta Bednarek, Jagoda Mantej, Magdalena Trzeciak, Stefan Tukaj. *Cell Stress and Chaperones*, 2021, doi: 10.1007/s12192-021-01238-w (IF2021 3,827; MNiSW 70)
3. Praca oryginalna: Differences in the detection of circulating HSP90 alpha between patients with atopic dermatitis and dermatitis herpetiformis. Krzysztof Sitko, Sarolta Kárpáti, Grzegorz Węgrzyn, Grzegorz Mincewicz, Magdalena Trzeciak, Michael Kasperkiewicz, Stefan Tukaj. *Frontiers in Medicine*, 2024, doi: 10.3389/fmed.2023.1327144 (IF2023 3; MNiSW 70)
4. Praca oryginalna: Heat shock protein 90 (HSP90) inhibitor STA-9090 (Ganetespib) ameliorates inflammation in a mouse model of atopic dermatitis. Krzysztof Sitko, Michał Starke, Stefan Tukaj *Cell Stress and Chaperones*, 2023, doi: 10.1007/s12192-023-01387-0 (IF2023 3,3; MNiSW 70)
5. Praca oryginalna: Topical Application of the HSP90 Inhibitor 17-AAG Reduces Skin Inflammation and Partially Restores Microbial Balance: Implications for Atopic Dermatitis Therapy. Krzysztof Sitko, Ewa Piotrowska, Magdalena Podlacha, Natalia



Zagórska, Michał Starke, Magdalena Trzeciak, Stefan Tukaj. *Scientific Reports*, 2025, doi: 10.1038/s41598-025-05307 3 (IF2023 3,9; MNiSW 140)

Łączna wartość wskaźnika oddziaływania prac (IF): 19,527. Łączna punktacja MNiSW: 450

Streszczenie pracy zawiera wszystkie niezbędne elementy umożliwiające zapoznanie się z tematyką rozprawy. Przedstawia ono w sposób syntetyczny zagadnienie białek szoku termicznego. Streszczenie jasno określa główny cel pracy, którym było zbadanie roli HSP90 w rozwoju atopowego zapalenia skóry (AZS) oraz ocena wpływu jego zahamowania przy użyciu STA-9090 i 17-AAG na procesy zapalne charakterystyczne dla AZS, zarówno w badaniach *in vitro* jak i w mysim modelu choroby. Ponadto streszczenie wskazuje na zastosowaną metodykę badań oraz najważniejsze uzyskane wyniki, podkreślając translacyjny charakter przeprowadzonych analiz.

Wprowadzenie do rozprawy w sposób szczegółowy omawia białka szoku termicznego, ze szczególnym uwzględnieniem białka HSP90. Doktorant przedstawia również rolę białek szoku termicznego w patogenezie różnych chorób, kładąc szczególny nacisk na ich znaczenie w rozwoju atopowego zapalenia skóry (AZS). W części tej omówiono także aktualne metody leczenia AZS, w tym terapie z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych, a także przedstawiono współczesne poglądy na patogenезę tej choroby. Doktorant podkreśla słusznie wiele podobieństw AZS do chorób autoimmunologicznych. Całość wprowadzenia świadczy o bardzo dobrej znajomości przez Doktoranta omawianej problematyki. Stanowi także wystarczające oraz merytoryczne tło teoretyczne umożliwiające czytelnikowi zrozumienie celów i zakresu przedstawionej pracy.

Następnie przedstawione zostały cele pracy. Za cel „przewodni” doktorant uznał zbadanie roli HSP90 w rozwoju AZS oraz ocenę wpływu zahamowania HSP90 za pomocą STA-9090 i 17-AAG, na procesy zapalne charakterystyczne dla AZS, zarówno *in vitro*, jak i w mysim modelu choroby. Cele szczegółowe pracy:

1. Pogłębienie i systematyzacja dostępnej wiedzy naukowej z badań podstawowych, przedklinicznych oraz klinicznych poprzez przegląd literatury na temat roli białek szoku termicznego, należących do rodziny HSP90 i HSP70, jako potencjalnych celów terapeutycznych w nieinfekcyjnych chorobach zapalnych skóry, ze szczególnym uwzględnieniem autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry, łuszczycy i AZS.
2. Określenie roli zewnątrzkomórkowego białka HSP90 α (eHSP90 α) oraz autoprzeciwciał skierowanych przeciwko HSP90 α u pacjentów z AZS.
3. Ocena przydatności diagnostycznej eHSP90 α w diagnostyce różnicowej AZS i opryszczkowatego zapalenia skóry (choroby Duhringa).
4. Ocena wpływu inhibicji aktywności opiekuńczej HSP90 za pomocą STA-9090 (Ganetespib), na stan zapalny i obraz kliniczny w mysim modelu AZS z uwzględnieniem porównania różnych dróg podania inhibitora.
5. Ocena bezpieczeństwa, skuteczności i mechanizmu działania naskórnej aplikacji inhibitora HSP90 17-AAG (Tanespimycin), na stan zapalny, obraz kliniczny i skład mikrobiomu w mysim modelu AZS.



Cele pracy zostały sformułowane poprawnie, są spójne z tematem pracy, pozwalają na zaprojektowanie badań zarówno podstawowych jak i translacyjnych. Należy jednak zauważyć, że celem nr 1 nie są badania oryginalne a jedynie wprowadzenie do tematyki pracy doktorskiej.

Artykuł poglądowy (nr 1) pt. „Heat Shock Protein 90 (HSP90) and HSP70 as potential therapeutic targets in autoimmune skin diseases” przedstawia aktualny stan wiedzy na temat roli HSP90 i HSP70 w odpowiedzi immunologicznej i ich potencjału terapeutycznego w chorobach autoimmunologicznych skóry. W pracy opisano również AZS z uwagi na obecność mechanizmów wspólnych z chorobami autoimmunologicznymi. Publikacja kompleksowo omawia funkcje HSP, ich ekspresję i zastosowanie terapeutyczne w chorobach skóry. Przedstawia perspektywy wykorzystania modulacji aktywności HSP w terapii chorób zapalnych. Praca stanowi ważny punkt wyjścia do właściwych prac oryginalnych i świadczy o dużej wiedzy Doktoranta z zakresu właściwości biologicznych białek HSP oraz możliwości ich wykorzystania jako celów w terapii chorób autoimmunologicznych skóry. W pracy poglądowej Doktorant jest drugim Autorem.

W pracy nr 2 pt. „Circulating heat shock protein 90 (HSP90) and autoantibodies to HSP90 are increased in patients with atopic dermatitis” (praca oryginalna, *Short Communication*), w której Doktorant jest pierwszym Autorem, przedstawiono wyniki badań klinicznych dotyczących stężenia eHSP90 α oraz autoprzeciwciał anti-HSP90 w surowicy pacjentów z atopowym zapaleniem skóry. Wykazano istotnie podwyższony poziom eHSP90 α u chorych na AZS oraz jego dodatnią korelację z nasileniem choroby ocenianym w skali SCORAD (*SCORing Atopic Dermatitis*). Ponadto, stwierdzono istotnie częstsze występowanie autoprzeciwciał anti-HSP90 klasy IgE u pacjentów z AZS, co sugeruje udział swoistej odpowiedzi autoimmunologicznej w patogenezie choroby. Uzyskane wyniki wskazują na potencjalną rolę eHSP90 α i autoprzeciwciał anti-HSP90 IgE jako biomarkerów AZS, choć wymagają potwierdzenia w badaniach prowadzonych na większych grupach pacjentów. Praca jest bardzo ciekawa i zawiera istotne wyniki o potencjale translacyjnym. Istotnym byłoby jednak jeszcze zbadanie, czy czas trwania choroby ma wpływ na badane parametry, w tym poziom autoprzeciwciał IgE anti-HSP90.

W pracy nr 3 (oryginalnej) „Differences in the detection of circulating HSP90 alpha between patients with atopic dermatitis and dermatitis herpetiformis”, w której Doktorant jest pierwszym Autorem, oceniono znaczenie krążącego białka Hsp90 α u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry na tle chorób o podobnym obrazie klinicznym i immunologicznym, tj. dermatitis herpetiformis (DH) oraz celiakii (CD). Autorzy wykazali istotnie podwyższone stężenie Hsp90 α w surowicy pacjentów z AZS w porównaniu z DH, CD oraz osobami zdrowymi. Zaproponowany punkt odcięcia pozwolił na wyraźne rozróżnienie pacjentów z AZS i DH, co wskazuje na potencjalną użyteczność Hsp90 α jako markera różnicującego te jednostki chorobowe. Uzyskane wyniki sugerują odmienną rolę zewnątrzkomórkowego Hsp90 α w patogenezie AZS w porównaniu do DH, jednak ze względu na pilotażowy charakter badań wymagają one z pewnością dalszej weryfikacji. Praca ma jednak istotny walor poznawczy i translacyjny. Dodatkowym atutem pracy jest uwzględnienie możliwego wpływu zakażenia SARS-CoV-2 oraz szczepień przeciwko COVID-19 na poziom eHSP90 α . Warto byłoby



jednak rozważyć dodatkową analizę grupy pacjentów z AZS charakteryzujących się bardzo zróżnicowanym poziomem HSP90 α (maks. stęż. do ok. 600 ng/mL). Zasadne wydaje się pytanie o potencjalne przyczyny tak szerokiego zakresu stężeń tego białka w badanej populacji, które mogą wynikać m.in. z heterogenności klinicznej choroby czy też różnic w nasileniu stanu zapalnego. Interesującym uzupełnieniem badań byłoby również porównanie oraz analiza korelacji poziomu HSP90 α z innymi parametrami immunologicznymi, w szczególności z markerami odpowiedzi immunologicznej typu Th2.

W publikacji nr 4 (oryginalnej) pt. „Heat shock protein 90 (HSP90) inhibitor STA-9090 (Ganetespib) ameliorates inflammation in a mouse model of atopic dermatitis” wykazano skuteczność terapeutyczną inhibitora aktywności opiekuńczej HSP90 STA-9090 w przedklinicznym, mysim modelu atopowego zapalenia skóry. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem modelu AZS indukowanego 1-chloro-2,4-dinitrobenzenem (DNCB), który odzwierciedla kluczowe cechy ostrej postaci choroby obserwowanej u ludzi. Inhibitor HSP90 podawano zwierzętom zarówno systemowo (dootrzewnowo), jak i miejscowo na skórę. Analizy wykazały, że systemowa inhibicja HSP90 prowadziła do istotnej poprawy parametrów skóry (zmniejszenie hiperplazji naskórka, ograniczenie nacieku leukocytarnego w skórze właściwej oraz redukcję świądu), przy jednoczesnej niewielkiej utracie masy ciała zwierząt. Z kolei miejscowe stosowanie STA-9090 skutkowało istotną redukcją objawów choroby, obniżeniem stężenia IgE w surowicy oraz zwiększoną ekspresją filagryny w skórze, bez obserwowanych ogólnoustrojowych działań niepożądanych. W obu schematach terapeutycznych nie stwierdzono wpływu inhibitora na poziom histaminy w surowicy ani na nacieki mastocytów do skóry. Uzyskane wyniki potwierdzają potencjał inhibitora STA-9090 jako nowej strategii terapeutycznej w AZS oraz wskazują, że miejscowa inhibicja HSP90 może stanowić szczególnie obiecujące podejście kliniczne. Autorzy zasadnie podkreślają jednak potrzebę dalszych badań, obejmujących inne modele choroby oraz analizę dodatkowych mediatorów patogenezы AZS, w celu pełnego wyjaśnienia mechanizmów działania terapeutycznego. Chciałbym jednak poprosić Doktoranta o wyjaśnienie zastosowanego schematu podawania badanych związków zwierzętom, w którym w pierwszej kolejności aplikowano inhibitor HSP90, a następnie (po 2 godzinach) indukowano zmiany skórne za pomocą DNC. Schemat ten nie odzwierciedla bowiem rutynowej sytuacji klinicznej (objaw/leczenie).

W publikacji nr 5, pt. „Topical Application of the HSP90 Inhibitor 17-AAG Reduces Skin Inflammation and Partially Restores Microbial Balance: Implications for Atopic Dermatitis Therapy” Autorzy przedstawili kompleksową ocenę skuteczności miejscowej inhibicji HSP90 z wykorzystaniem 17-AAG w przedklinicznym modelu AZS. Badania przeprowadzono z użyciem mysiego modelu DNCB, materiału klinicznego od pacjentów z AZS oraz szerokiego panelu badań *in vitro* obejmujących keratynocyty, limfocyty i eozynofile. Wykazano, że miejscowe zastosowanie 17-AAG, zarówno w schemacie profilaktycznym, jak i terapeutycznym, prowadzi do istotnego złagodzenia objawów klinicznych AZS, zmniejszenia hiperplazji naskórka, obniżenia ekspresji kluczowych cytokin prozapalnych oraz redukcji stężenia IgE w surowicy. Terapia nie wpływała na infiltrację komórek zapalnych do skóry, lecz modulowała ich aktywność. Powyższe obserwacje przedkliniczne zostały rozszerzone o



badania mechanistyczne prowadzone w modelach komórkowych *in vitro*, w których wykazano zależny od dawki, korzystny efekt terapeutyczny 17-AAG, obejmujący modulację proliferacji keratynocytów, ekspresji mediatorów zapalnych i markerów bariery naskórkowej (IL-33, TSLP, IL-6, FLG, IL-22, IL-17A, IL-5), obniżenie poziomu aktywowanych form czynników transkrypcyjnych p-NFκB, p-STAT-1 i p-STAT-3, zahamowanie wytwarzania reaktywnych form tlenu oraz ograniczenie zdolności *Staphylococcus aureus* do tworzenia biofilmu. Istotnym elementem pracy było wykazanie bezpieczeństwa miejscowej terapii 17-AAG oraz jej korzystnego wpływu na mikrobiom, co dodatkowo podkreśla translacyjny potencjał zaproponowanego podejścia terapeutycznego. Prosiłbym jednak Doktoranta o odniesienie się do modelu *in vitro* z wykorzystaniem komórek linii HaCaT. Do jakiego stopnia model ten imituje warunki kliniczne. Jakie mogą być ograniczenia zastosowania tego modelu? Moim zdaniem publikacja stanowi wartościowe i oryginalne uzupełnienie cyklu prac doktorskich, dostarczając silnych przesłanek do dalszych badań klinicznych z zastosowaniem inhibitorów HSP90 w AZS. Doktorant w tej publikacji jest również pierwszym Autorem. W tym miejscu chciałbym podkreślić, iż praca ta zawiera bardzo szerokie i czasochłonne analizy, które wymagały od Zespołu oraz samego Doktoranta dużego zaangażowania oraz staranności w pracy eksperymentalnej.

W kolejnym punkcie Doktorant opisał syntetycznie całość pracy doktorskiej, wskazując na główne cele oraz najważniejsze uzyskane wyniki. Jest to bardzo istotny i prawidłowo opisany element pracy doktorskiej. Warto jednak byłoby uzupełnić tą część o szersze wnioski/wniosek płynące z uzyskanych wyników. Dodatkowo, cenne byłoby wskazanie w tym miejscu ograniczeń badania, szczególnie w odniesieniu do badań z użyciem modelu mysiego. W dalszej części zostało przedstawione piśmiennictwo, które zostało prawidłowo wykorzystane w pracy.

Podsumowując, rozprawa doktorska stanowi spójne i kompleksowe opracowanie dotyczące roli białka HSP90 w patogenie atopowego zapalenia skóry. Autor, wykorzystując modele komórkowe, zwierzęce oraz materiał pochodzący od pacjentów, wykazał istotne znaczenie HSP90, w szczególności eHSP90α, jako elementu zaangażowanego w procesy zapalne i immunologiczne charakterystyczne dla AZS. Praca dostarcza oryginalnych danych wskazujących na przydatność eHSP90α jako potencjalnego biomarkera choroby oraz potwierdza skuteczność i bezpieczeństwo miejscowej terapii inhibitorami HSP90, zwłaszcza 17-AAG, wraz z identyfikacją mechanizmów molekularnych leżących u podstaw obserwowanych efektów terapeutycznych. Uzupełnieniem badań eksperymentalnych jest wartościowy artykuł poglądowy, który porządkuje aktualny stan wiedzy i wzmacnia kontekst interpretacyjny uzyskanych wyników. Całość rozprawy wnosi istotny wkład w rozwój wiedzy na temat molekularnych mechanizmów AZS oraz otwiera nowe perspektywy diagnostyczne i terapeutyczne w leczeniu tej choroby.

Każda z czterech oryginalnych prac cechuje się klarowną strukturą, odpowiednio sformułowanymi celami badawczymi oraz logiczną prezentacją wyników na podstawie których wyciągnięto prawidłowe wnioski. W badaniach zastosowano adekwatne, często zaawansowane metody eksperymentalne oraz właściwie dobrane analizy i testy statystyczne. Całość rozprawy doktorskiej, włączając w to pracę poglądową, świadczy o dojrzałości naukowej Doktoranta oraz



Jego bardzo dobrej znajomości podejmowanej problematyki badawczej. Jednocześnie Doktorant, realizując przedstawione badania, rozwiązał szereg istotnych problemów naukowych i wykazał się wysokim stopniem samodzielności w prowadzeniu prac badawczych. Na podkreślenie zasługuje również interdyscyplinarny charakter badań oraz kompleksowe podejście do analizowanego zagadnienia naukowego. Na uwagę zasługują imponujące wskaźniki bibliometryczne dorobku przedstawionego w rozprawie doktorskiej (łączna wartość współczynnika IF = 19,527, natomiast łączna punktacja MNiSW = 450). Na podstawie załączonych oświadczeń Autorów publikacji, można stwierdzić, iż udział Doktoranta w powstawaniu prac miał charakter kluczowy. Doktorant brał aktywny udział oraz samodzielnie przeprowadzał dużą część istotnych doświadczeń, w tym głównie z wykorzystaniem modelu zwierzęcego oraz analizach histologicznych i molekularnych. Doktorant brał także udział w analizie statystycznej oraz interpretacji wyników, pisaniu oraz korekcie prac.

Do pracy doktorskiej załączono także opis dodatkowej aktywności naukowej Doktoranta. W ramach realizacji rozprawy doktorskiej uzyskano m.in. patent RP.445930 (2023) pt. „Inhibitory białka Hsp90 - tanesprimycyna (17-AAG) lub ganetespib (STA-9090) do zastosowania w leczeniu atopowego zapalenia skóry u ludzi”, co podkreśla aplikacyjny i translacyjny charakter prowadzonych badań. Dorobek naukowy Doktoranta obejmuje ponadto szereg publikacji niewchodzących bezpośrednio w skład rozprawy, opublikowanych w recenzowanych czasopismach międzynarodowych (m.in. *Frontiers in Immunology*, *International Journal of Molecular Sciences*, *Cell Stress and Chaperones*). Prace te dotyczą głównie roli białek szoku cieplnego i autoprzeciwciał w chorobach zapalnych i autoimmunologicznych skóry, odpowiedzi immunologicznej po szczepieniach mRNA oraz zagadnień z zakresu immunologii eksperymentalnej i mikrobiologii. Całość tej aktywności potwierdza spójność tematyczną zainteresowań badawczych Doktoranta oraz Jego wysoką aktywność publikacyjną. Na uwagę zasługują również zdolność do prowadzenia badań o charakterze zarówno podstawowym jak i aplikacyjnym.

Podsumowując stwierdzam, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska Pana mgr Krzysztofa Sitko pt. „Rola białka Hsp90 w atopowym zapaleniu skóry” (*The role of Hsp90 in atopic dermatitis*) spełnia ustawowe (art. 187 ust. 1 i 2 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) oraz zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim. W związku z tym, zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o dopuszczenie Pana mgr Krzysztofa Sitko do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Jednocześnie wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o wyróżnienie pracy po spełnieniu odpowiednich wymogów formalnych stawianym pracom doktorskim. Moim zdaniem przedstawiona rozprawa doktorska Pana mgr Sitko wyróżnia się na tle standardowych prac doktorskich w dyscyplinie nauk biologicznych zarówno pod względem merytorycznym, jak i metodologicznym. Autor podjął aktualny i istotny problem badawczy dotyczący molekularnych mechanizmów atopowego zapalenia skóry, koncentrując się na roli białka



HSP90. Na szczególne podkreślenie zasługuje kompleksowy i interdyscyplinarny charakter badań, obejmujący analizy na poziomie molekularnym, komórkowym, tkankowym oraz całego organizmu. Tak szerokie i konsekwentnie realizowane podejście badawcze pozwoliło na uzyskanie oryginalnych i wzajemnie uzupełniających się wyników. Rozprawa wnosi istotny wkład do rozwoju wiedzy w zakresie biologii molekularnej i immunologii w szczególności poprzez wykazanie kluczowej roli HSP90 w patogenezie AZS oraz zaproponowanie tego białka jako potencjalnego biomarkera diagnostycznego. Wysoki poziom metodologiczny badań, właściwy dobór zaawansowanych technik eksperymentalnych, poprawność analiz statystycznych oraz dojrzałość interpretacji wyników świadczą o bardzo wysokich kompetencjach naukowych Doktoranta. Dodatkowym atutem rozprawy jest bardzo dobra jakość publikacyjna uzyskanych wyników (łączny IF prac 19,5). Biorąc pod uwagę oryginalność uzyskanych wyników, ich znaczenie poznawcze i potencjał translacyjny, wysoki poziom merytoryczny oraz wyraźny wkład Doktoranta w rozwój nauk biologicznych, uważam, że przedstawiona rozprawa w pełni zasługuje na wyróżnienie.

Zakład Embriologii
Pracownia Inżynierii Tkankowej
i Medycyny Regeneracyjnej

prof. dr hab. Michał Piśula
Profesor