



Białystok, 28.08.2023 r.

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Karola Kołkowskiego
studenta VI roku kierunku lekarskiego

pt. „Polimorfizmy genów interleukiny-17 w kontekście bezpieczeństwa i zagrożeń wpływających ze stosowania nowych terapii w atopowym zapaleniu skóry i łuszczycy w pierwotnie skórnych chłoniakach T-komórkowych”

Nowoczesne terapie spowodowały przełom w wielu dziedzinach medycyny. W dermatologii leki biologiczne oraz inhibitory drobnocząsteczkowe znalazły zastosowanie w leczeniu m.in. łuszczycy, chorób alergicznych skóry, autoimmunologicznych chorób pęcherzowych czy zapaleń naczyń. Duża część tych leków wywiera działanie terapeutyczne, hamując aktywność biologiczną cytokin poprzez wiązanie z określoną cytokiną i jej neutralizację lub zablokowanie receptorów cytokinowych. Uważa się, że jest to grupa leków o stosunkowo dobrym profilu bezpieczeństwa. Jednak zdarzają się działania niepożądane. W przebiegu dermatoz zapalnych ryzyko względne wystąpienia chłoniaków pierwotnych skóry (PCL, *primary cutaneous lymphomas*) jest istotnie zwiększone. W wielu badaniach mikrośrodowisko okazało się znaczące w patogenezie PCL. Stąd też niezwykle cenne jest poszerzenie wiedzy i podjęcie przez Doktoranta badań dotyczących ryzyka rozwoju chłoniaków pierwotnych skóry w przebiegu dermatoz zapalnych i nowych metod leczenia, które mogą pomóc w wyodrębnieniu pacjentów z szybką progresją chłoniaków pierwotnych skóry. Problematyka podjętych przez Doktoranta badań jest nie tylko ciekawa i nowatorska, ale też niezwykle przydatna w praktyce klinicznej. Temat rozprawy doktorskiej uważam za trafny, doskonale wpisujący się w aktualny nurt współczesnych badań dotyczących

chłoniaków pierwotnych skóry. Jest to niewątpliwa zasługa promotora - prof. dr hab. med. Małgorzaty Sokołowskiej-Wojdyło, która jest niekwestionowanym autorytetem w tej dziedzinie.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi cykl trzech spójnych tematycznie prac pełnotekstowych: jednej oryginalnej i dwóch przeglądowych, opublikowanych w indeksowanych czasopismach naukowych. Łączny współczynnik wpływu „Impact Factor” publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi **11,747** punktów, a punktacja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego - **310**. We wszystkich trzech publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, co potwierdza Jego główny udział w przeprowadzeniu badań i przygotowaniu publikacji do druku. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (decyzja nr NKBBN/313/2017).

Rozprawa doktorska napisana jest głównie w języku angielskim, składa się z następujących rozdziałów: wykaz stosowanych skrótów i słów kluczowych, wykaz artykułów wchodzących w skład rozprawy, streszczenie w języku angielskim i polskim, omówienia publikacji stanowiących rozprawę doktorską, kopii opublikowanych prac oraz spisu piśmiennictwa. Dodatkowo dołączono oświadczenia wszystkich współautorów publikacji. Rozprawa obejmuje łącznie 96 stron wydruku.

Celem pracy Karola Kołkowskiego było wyjaśnienie, w kontekście ryzyka rozwoju chłoniaków pierwotnych skóry w przebiegu dermatoz zapalnych i nowych metod leczenia - czy częstość wybranych pojedynczych polimorfizmów nukleotydowych genów IL-17 jest związana z podatnością na chłoniaki pierwotnie skórne T-komórkowe (CTCL, *cutaneous T-cell lymphoma*) lub ich progresją. Ponadto Doktorant postanowił także przeanalizować częstość występowania polimorfizmu typowego dla CTCL u pacjentów z łuszczycą leczonych biologicznie w celu sprawdzenia w przyszłości ryzyka rozwoju chłoniaków u tych pacjentów. Zaplanował również ocenę wpływu nowoczesnych terapii skierowanych przeciwko atopowemu zapaleniu skóry i łuszczycy na potencjalną progresję lub/i indukcję PCL.

Do badań przedstawionych w cyklu publikacji Doktorant włączył 150 pacjentów z CTCL w różnych stadiach, leczonych w Klinice Dermatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, którzy zostali zdiagnozowani na podstawie wyników badań klinicznych, histopatologicznych i immunohistochemicznych, zgodnie z kryteriami Europejskiej

Organizacji Badań i Leczenia Raka. Grupę kontrolną stanowiło 196 zdrowych osób, dobranych pod względem płci i wieku. Wybrane polimorfizmy genów interleukiny-17 u pacjentów z CTCL oceniano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy ze specyficznymi primerami. Intensywność światła Doktorant oceniał za pomocą wizualnej skali analogowej (VAS) i numerycznej skali oceny (NRS) i korelował z polimorfizmami genu IL-17. Przeanalizował też 16 pacjentów z łuszczycą plackowatą, leczonych lekami biologicznymi blokującymi interleukinę 17 (secukinumabem i iksekizumabem). Doktorant postanowił też przeprowadzić analizę danych z piśmiennictwa z bazy PubMed, dotyczącą artykułów o roli interleukin oraz kinaz janusowych/przekaźników sygnału i aktywatorów transkrypcji (JAK/STAT) oraz leków biologicznych wpływających na poziomy i profil działania cytokin oraz leków hamujących JAKi.

Wyniki przedstawiono w trzech publikacjach, których wartość naukowa została już potwierdzona pozytywnymi ocenami recenzentów odpowiednich czasopism:

1. Kolkowski K., Gleń J., Olszewska B., Zabłotna M., Nowicki R.J, Sokołowska-Wojdyło M.: „*Interleukin-17 Genes Polymorphisms are Significantly Associated with Cutaneous T-cell Lymphoma Susceptibility*” *Acta Dermatovenerol* 2022; 102: adv00777. doi: 10.2340/actadv.v102.2416 (**IF- 3.875, MNiSW - 100 pkt**)

2. Kolkowski K., Trzeciak M., Sokołowska-Wojdyło M.: „*Safety and danger considerations of novel treatments for atopic dermatitis in context of primary cutaneous lymphomas*”. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(24):13388. doi:10.3390/ijms222413388 (**IF- 6.208, MNiSW- 140 pkt**)

3. Kolkowski K., Sokołowska-Wojdyło M.: „*Safety and danger of biologic treatments in psoriasis in context of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL)*”. *Adv Dermatology Allergol.* 2021;38(6):953-960. doi: 10.5114/ada.2021.107553 (**IF-1.664, MNiSW- 70 pkt**)

Pierwsza praca (nr 1.) w cyklu stanowiącym podstawę do ubiegania się przez Karola Kolkowskiego o stopień doktora nauk medycznych, to praca oryginalna, której celem było wyjaśnienie, czy konkretne polimorfizmy nukleotydowe genów interleukiny-17A (rs2275913, rs3819024, rs8193036) oraz interleukiny-17F (rs763780, rs2397084) są związane z podatnością na chłoniaki skórne T -komórkowe. Po przeanalizowaniu 150 próbek krwi od pacjentów z CTCL w różnych stadiach, Doktorant zaobserwował, że homozygota GG polimorfizmu rs8193036 A/G IL-17A wystąpiła istotnie rzadziej w grupie pacjentów z CTCL, ale pacjenci posiadający ten wariant istotnie częściej odczuwali intensywniejszy świąd. Natomiast wariant heterozygotyczny AG rs2397084 IL-17F okazał się występować częściej w

populacji pacjentów z chłoniakiem. Podobne wyniki Doktorant wykazał również w odniesieniu do porównania częstości występowania polimorfizmów IL-17A pomiędzy pacjentami z zespołem Sezary'ego oraz z ziarniniakiem grzybiastym. W grupie analizowanych pacjentów z chłoniakami skóry, Doktorant zaobserwował trzy przypadki, u których wcześniej zdiagnozowano łuszczycę na podstawie oceny klinicznej i wyniku badania histopatologicznego skóry. Wszyscy Ci pacjenci mieli heterozygotyczny AG rs2397084 IL-17F, który istotnie częściej występuje w PCL w stosunku do populacji ogólnej. Z tego powodu Doktorant postanowił zbadać ten polimorfizm u pacjentów z łuszczycą i obserwować ich pod kątem potencjalnego rozwoju chłoniaków. Wstępne dane (jeszcze nie opublikowane) wykazały, że pacjenci posiadający homozygotyczny polimorfizm AA rs8193036 IL-17A odpowiadają gorzej na terapię secukinumabem lub iksekizumabem w stosunku do pacjentów posiadających warianty GA i GG. Ponadto Doktorant, udokumentował, że w grupie posiadającej heterozygotyczny polimorfizm AG rs2397084 IL-17F przed włączeniem nowoczesnej terapii biologicznej przeciwko IL-17A (secukinumab lub iksekizumab) pacjenci odczuwali istotnie niższą jakość życia w porównaniu do pacjentów posiadających polimorfizm GG rs2397084 IL-17F. Potwierdza to, że wariant AG charakteryzuje się najprawdopodobniej większą aktywnością IL-17F, co może wiązać się z większym nasileniem choroby. Doktorant zaobserwował też tendencję lepszej odpowiedzi na terapię u pacjentów z polimorfizmem AG, co można tłumaczyć tym, że IL-17F ma wpływ zarówno na przebieg jak i odpowiedź na leczenie łuszczycy. Aby jednak potwierdzić tą tezę konieczne jest badanie na większej grupie chorych. Wyniki badań Doktoranta podkreślają znaczenie blokowania IL-17F w terapii łuszczycy i są zgodne z piśmiennictwem. Secukinumab i iksekizumab blokują tylko homodimer IL-17A i heterodimer IL-17A/F. Możliwe, iż po wdrożeniu leków blokujących również homodimer IL-17F (bimekizumab lub sonelokimab) odpowiedź u tych pacjentów byłaby istotnie różna w porównaniu z pacjentami charakteryzującymi się wariantem GG. Jest to ważna obserwacja, która może mieć istotne implikacje praktyczne. W swojej pracy Doktorant udokumentował istotne związki pomiędzy konkretnymi polimorfizmami IL-17, a częstością występowania i stopniem zaawansowania CTCL oraz obniżeniem jakości życia i gorszą odpowiedzią na terapię secukinumabem lub iksekizumabem w łuszczycy. Ponadto, wyniki Jego badań i analiza danych z piśmiennictwa przyczyniły się do wyjaśnienia roli IL-17 w chłoniakach pierwotnych skóry.

Druga praca (nr 2.) z cyklu to publikacja przeglądowa, w której Doktorant podjął się wyjaśnienia roli interleukiny-4, interleukiny-13, interleukiny-22, interleukiny-31 oraz

inhibitorów drobnocząsteczkowych wpływających na szlaki JAK/STAT w PCL w kontekście nowoczesnych metod terapii przeciwko atopowemu zapaleniu skóry. Bazując na przeglądzie piśmiennictwa Doktorant zwraca uwagę na potencjalny wpływ leków biologicznych (dupilumabu, lebrikizumabu, tralokinumabu, fezakinumabu, nemolizumabu) oraz inhibitorów drobnocząsteczkowych na mikrośrodowisko pierwotnych chłoniaków skórnych T-komórkowych. Przegląd literatury przez Doktoranta umożliwił zidentyfikowanie 23 przypadków, w których PCL koegzystowały z podażą dupilumabu. Zaskakująco, u większości pacjentów z chłoniakiem zaobserwowano progresję, a dwóch pacjentów zmarło. Tylko w trzech przypadkach objawy choroby poprawiły się. W większości przypadków przyczyną terapii dupilumabem było atopowe zapalenie skóry lub wyprysk. Omawiana praca pogładowa podsumowuje aktualny stan wiedzy w zakresie zgłębianego przez Doktoranta tematu oraz podkreśla, jak ważna jest świadomość dotycząca problemu rozwoju lub nieprawidłowej diagnozy PCL u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry. Zwraca też uwagę, że u pacjentów z przewlekłym i ciężkim przebiegiem atopowego zapalenia skóry oraz w przypadku nagłego pogorszenia się objawów należy zachować szczególną ostrożność i wykonać badania dodatkowe, przede wszystkim biopsję zmian skórnych, wykluczające ryzyko rozrostu limfoproliferacyjnego.

Trzecia praca (nr 3.) z cyklu to również publikacja przeglądowa w której Doktorant dokonał skrupulatnego podsumowania aktualnej wiedzy na temat roli interleukiny-12, IL-17, IL-23 oraz czynnika martwicy nowotworów alfa w ziarniniaku grzybiastym, co ma istotny wpływ w stosowaniu nowoczesnych terapii przeciwłuszczycowych w kontekście ryzyka rozwoju CTCL. Doktorant w swojej pracy podkreśla, że ciężki przebieg łuszczycy jest czynnikiem ryzyka rozwoju chłoniaka, a ryzyko wystąpienia chłoniaka pierwotnego skóry w przebiegu łuszczycy wynosi ponad 6. Dlatego osoby z polimorfizmem AG rs2397084 IL-17F powinni być szczególnie wnikliwie obserwowani pod kątem rozwoju chłoniaka skóry. Doktorant zwrócił też uwagę na przegląd piśmiennictwa, który wykazał, że interleukina-12 może mieć wpływ terapeutyczny na PCL poprzez promowanie cytotoksycznej odpowiedzi Th-1 zależnej. Natomiast IL-23 działa podobnie jak IL-17, stymulując wzrost pre-Th1 limfocytów, co promuje wzrost subpopulacji Th-17 i wzrost stężenia IL-17 w początkowych stadiach chłoniaka. Komórki ziarniniaka grzybiastego są w stanie syntetyzować IL-17 poprzez aktywację onkogenego szlaku JAK3/STAT3, który jest pobudzany przez enterotoksyny gronkowcowe. Z kolei interleukina-25 (IL-17E) przyczynia się do wzrostu stężenia STAT6, które epigenetycznie zwiększa transkrypcję interleukiny-13, a to skutkuje

powstaniem Th-2 zależnego sprzyjającego wzrostowi guza mikrośrodowiska, przede wszystkim w zaawansowanych stadiach chłoniaków. Są to ważne obserwacje, które mają istotne znaczenie kliniczne. Doktorant w swej pracy zwraca też uwagę na konieczność uważnego badania pacjentów z łuszczycą plackowatą, która może klinicznie przypominać PCL, ponieważ jak wynika z przeglądu piśmiennictwa w większości przypadków nowoczesne terapie mogą mieć bezpośredni wpływ na progresję PCL.

W oparciu o przeprowadzone badania Doktorant wyciągnął istotne wnioski, które są zgodne z uzyskanymi wynikami oraz odpowiadają postawionym przez Autora celom rozprawy. Każdy z wniosków jest przydatny klinicznie, zarówno w procesie diagnostycznym jak i terapeutycznym. Wskazują one jak istotnym i złożonym problemem jest bezpieczeństwo oraz zagrożenia wynikające ze stosowania nowoczesnych terapii w atopowym zapaleniu skóry i łuszczycy, w pierwotnie skórnych chłoniakach T-komórkowych. Wydaje się, że wpływ nowych terapii na mikrośrodowisko chłoniaków jest istotny, jednak nie w pełni wyjaśniony. Dlatego w przypadku nietypowego przebiegu dermatoz zapalnych, podczas leczenia nowoczesnymi terapiami, należy wykonać badania dodatkowe celem wykluczenia współistnienia lub wystąpienia chłoniaka.

Podsumowując, rozprawę doktorską Karola Kołkowskiego oceniam bardzo wysoko z uwagi na ważność podjętego tematu badań oraz wymierne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników. Udział Doktoranta w powstawaniu prac był znaczący, co podkreśla fakt bycia przez niego pierwszym autorem wszystkich publikacji. Wszystkie trzy publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej są spójne tematycznie, właściwie udokumentowane i zilustrowane. Na uwagę zasługuje opublikowanie własnych wyników badań oraz prac przeglądowych w wiodących, wysokopunktowanych czasopismach naukowych, co dodatkowo podkreśla ważność podejmowanego zagadnienia i wymierny aspekt praktyczny uzyskanych wyników. Doktorant wykazał się dużą znajomością problematyki stanowiącej przedmiot rozprawy, zrealizował założone cele badawcze, poprawnie dobrał i zastosował metody badawcze i analizy statystyczne, umiejętnie zinterpretował uzyskane wyniki oraz logicznie sformułował wnioski wynikające z przeprowadzonych badań. Piśmiennictwo we wszystkich publikacjach jest dobrze wyselekcjonowane i właściwie dobrane do własnego materiału, co świadczy o dobrej znajomości tematu i umiejętności posługiwania się literaturą naukową. Całość pracy wskazuje, że Doktorant, pomimo młodego wieku posiada odpowiednie umiejętności potrzebne do rozwiązywania problemów naukowych i jest dobrze przygotowany do prowadzenia dalszych prac badawczych. Jednocześnie mam nadzieję, że

dopełnieniem rozprawy stanie się publikacja pozwalająca upowszechnić uzyskane wstępne wyniki badań jeszcze nie opublikowane a uwzględnione w rozprawie.

Na podstawie powyżej przedstawionych danych, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska studenta VI roku kierunku lekarskiego Karola Kołkowskiego pt. „Polimorfizmy genów interleukiny-17 w kontekście bezpieczeństwa i zagrożeń wpływających ze stosowania nowych terapii w atopowym zapaleniu skóry i łuszczycy w pierwotnie skórnych chłoniakach T-komórkowych” **spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2021 r. poz. 478 ze zm.)**. Mam więc zaszczyt przedłożyć Radzie Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego moją pozytywną ocenę rozprawy wraz z wnioskiem o dopuszczenie studenta VI roku kierunku lekarskiego Karola Kołkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie ze względu na wysoką wartość merytoryczną rozprawy, rzetelność przeprowadzonych analiz, wartość poznawczą oraz fakt opublikowania wyników badań w wiodących czasopismach naukowych (IF=11,747), zwracam się do Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Karola Kołkowskiego.

prof. dr hab. n. med. Iwona Flisiak

K I E R O W N I K
Kliniki Dermatologii i Wenerologii

Iwona Flisiak
prof. dr hab. n. med. Iwona Flisiak