



UNIwersytet Medyczny IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego
Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii
Kierownik : Prof.dr hab. n.med. Jacek Szepietowski

Ul. Chałubińskiego 1, 50-368 Wrocław

Tel. +4871/327-09-41 Fax. +4871/327-09-42

e-mail: dermwen@umed.wroc.pl <http://www.derm.umed.wroc.pl>

Chłoniaki pierwotnie skórne (primary cutaneous lymphomas, PCL) są heterogenną grupą rozrostów limfatycznych, pierwotnie zajmujących skórę. Wśród PCL przeważają chłoniaki wywodzące się z limfocytów T (pierwotnie skórne chłoniaki T-komórkowe, primary cutaneous T-cell Lymphomas, CTCL), charakteryzujące się najczęściej przewlekłym przebiegiem i typową progresją zmian skórnych od plam rumieniowych poprzez zmiany naciekowe po guzy i erytrodermię. Uważa się, że istotną rolę w rozwoju choroby odgrywają czynniki genetyczne i epigenetyczne, a także czynniki środowiskowe i infekcyjne, które prowadzą do zaburzeń interakcji patogennych komórek T z komórkami zapalnymi otoczenia.

Łuszczyca jest przewlekłą i nawrotową dermatozą zapalną, w przebiegu której może dochodzić do ogólnoustrojowych zmian zapalnych oraz zajęcia stawów. Istotne znaczenie w rozwoju choroby mają zjawiska autoimmunologiczne, w których znaczącą rolę odgrywają limfocyty T i ich mediatory.

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest często występującą, przewlekłą i nawracającą chorobą skóry, charakteryzującą się występowaniem typowych zmian skórnych i nasilonym świądem. Ważną rolę w rozwoju tej dermatozy mają zaburzenia genetyczne, defekt bariery naskórkowej i zaburzenia immunologiczne o złożonym charakterze.

Cechą łączącą omawiane jednostki chorobowe jest złożona, nie do końca poznana etiopatogeneza, rola mikrośrodowiska zapalnego w rozwoju i przebiegu omawianych chorób, a także zwiększone ryzyko rozwoju PCL w przebiegu ciężkich postaci łuszczycy lub AZS skóry.

W ostatnich latach jesteśmy świadkami znaczącego postępu w zakresie terapii chorób skóry w związku z wprowadzaniem nowych leków biologicznych i małych cząsteczek. Wśród nich w leczeniu łuszczycy ważne miejsce zajmują inhibitory interleukiny 17 (IL-17). Uważa się, że IL-17 może odgrywać także w patogenezie PCL, a podwyższone poziomy tej interleukiny obserwowano w skórze chorych z AZS.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska została przygotowana w oparciu o spójny tematycznie cykl trzech publikacji naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach oraz niepublikowane jak dotąd wyniki badań. Łączna punktacja cyklu publikacji wynosi 11.747 Impact Factor oraz 310 według punktacji MNiSW.

Rozprawa doktorska obejmuje 96 stron starannie opracowanego wydruku komputerowego, zawierającego omówienie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz załączone przedruki tych prac, jak również wyniki badań dotychczas nieopublikowane.

Układ pracy jest typowy dla rozprawy doktorskiej: pierwsza część zawiera wykaz skrótów oraz wykaz prac wchodzących w skład rozprawy, następnie zamieszczono streszczenie pracy w języku angielskim i polskim. W kolejnej części znalazło się omówienie publikacji i wyników badań wchodzących w skład rozprawy, opublikowane prace oraz piśmiennictwo.

W pierwszej części, będącej wprowadzeniem do rozprawy doktorskiej, lek. Karol Kołkowski w przejrzysty sposób przedstawił cele prezentowanego cyklu prac. Doktorant postanowił ocenić możliwe powiązania między występowaniem wybranych pojedynczych polimorfizmów nukleotydowych genów IL-17 a wystąpieniem i progresją CTCL, a następnie określić częstość polimorfizmów IL-17 charakterystycznych dla CTCL u pacjentów z łuszczycą w trakcie terapii lekiem biologicznym. Dodatkowo, Doktorant podjął się zbadać wpływ nowoczesnych terapii biologicznych stosowanych w łuszczycy i atopowym zapaleniu skóry na rozwój CTCL w przyszłości.

W dalszej części rozprawy doktorskiej przedstawiono materiał i zastosowaną do badań metodykę. W badaniu nad polimorfizmem genów IL-17 w CTCL wykorzystano materiał pobrany od 150 pacjentów z CTCL, w tym 139 z ziarniniakiem grzybiastym (Mycosis fungoides, MF) na różnym etapie zaawansowania choroby (stadia I-IV) oraz 11 pacjentów z zespołem Sezary'ego (Sezary Syndrome, SS) diagnozowanych i leczonych w Klinice Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku. Diagnozę choroby postawiono na podstawie obrazu klinicznego oraz wyników badania histologicznego i immunohistochemicznego według kryteriów Europejskiej Organizacji do Badań i Leczenia

Raka (European Organization of Research and Treatment of Cancer, EORTC) . Grupę kontrolną stanowiło 196 zdrowych, niespokrewnionych ochotników. Świąd w grupie chorych z CTCL oceniono z wykorzystaniem skali numerycznej (Numerical Rating Scale, NRS) oraz wzrokowo-analogowej (Visual Analog Scale, VAS). Nasilenie świądu skorelowano z wynikami polimorfizmu IL-17.

W badaniu oceniającym polimorfizmy IL-17A IL-17A (rs2275913, rs8193036) i IL17F (rs2397084) u pacjentów z łuszczycą w trakcie terapii lekiem biologicznym, inhibitorem IL-17 (sekukinumab lub iksekizumab) wykorzystano materiał zebrany od 16 pacjentów z łuszczycą diagnozowanych i leczonych w Klinice Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku.

Analizę polimorfizmów nukleotydowych genów IL-17A (rs2275913, rs3819024, rs8193036) oraz IL17F (rs763780, rs2397084) przeprowadzono z użyciem reakcji polimerazy łańcuchowej z użyciem specyficznych starterów (Polymerase Chain Reaction with sequence-specific primers, SSP-PCR). Zastosowana metodologia odpowiada obecnym standardom prowadzenia tego rodzaju badań i nie budzi zastrzeżeń.

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono starannie z dobrze wyselekcjonowanymi testami. Podnosi to rangę pracy i uwiarygodnia prezentowane przez Doktoranta w dalszej części rozprawy własne wyniki badań.

W dalszej części pracy omówiono publikacje oraz wyniki badań dotychczas niepublikowane, wchodzące w skład rozprawy doktorskiej.

W pracy oryginalnej pt.:” Interleukin-17 Genes Polymorphisms are Significantly Associated with Cutaneous T-cell Lymphomas” opublikowanej na łamach „Acta Dermatovenerologica” (IF 3,875, punktacja MNiSW 100 pkt) doktorant podjął się analizy wybranych polimorfizmów nukleotydowych genów IL-17A (rs2275913, rs3819024, rs8193036) oraz IL17F (rs763780, rs2397084), a także ich potencjalnej korelacji z podatnością na rozwój CTCL. W toku starannie przeprowadzonego eksperymentu badawczego doktorant wykazał, że homozygota GG polimorfizmu rs8193036 A/G interleukiny 17A występowała istotnie rzadziej w grupie CTCL, jednak pacjenci posiadający ten wariant istotnie częściej odczuwali bardziej nasilony świąd. Z kolei wariant heterozygotyczny AG rs2397084 interleukiny IL-17F występował istotnie częściej u pacjentów z CTCL. Dodatkowo doktorant udokumentował również istotne różnice pomiędzy częstością występowania polimorfizmów IL-17A w zależności od stadium choroby (wczesne vs późne) oraz jednostki chorobowej (MF i SS). Wyniki prezentowane w pracy stanowią cenny przyczynek do zrozumienia patogenicznej roli IL-17 w CTCL.

W badaniu obejmującym pacjentów z łuszczycą (dane niepublikowane) Doktorant wykazał, iż pacjenci posiadający homozygotyczny polimorfizm AA rs8193036 IL-17A gorzej odpowiadają na leczenie inhibitorem IL-17 (sekukinumab, iksekizumab) w porównaniu do pacjentów z wariantami GA i GG. Ponadto, pacjenci posiadający heterozygotyczny polimorfizm AG rs2397084 IL-17F wyjściowo (przed włączeniem leczenia biologicznego) charakteryzowali się istotnie niższą jakością życia w porównaniu do pacjentów homozygotycznych (GG rs2397084 IL-17F). Na podstawie otrzymanych wyników Doktorant wyciągnął wnioski, że wariant AG może charakteryzować się większą aktywnością IL-17F, co może wiązać się z większym nasileniem choroby, a pacjenci z tym wariantem mogą lepiej odpowiadać na terapię, zwłaszcza lekiem blokującym również homodimer IL-17F (bimekizumab, sonelokizumab). Dodatkowo, w oparciu o wyniki badań Doktorant wysunął postulat konieczności bardziej wnikliwego monitorowania pacjentów z łuszczycą i z polimorfizmem AG rs2397084 IL-17, typowym dla CTCL, pod względem ryzyka rozwoju CTCL u tych chorych. Wysunięte przez Doktoranta wnioski stanowią ważny przyczynek do zwiększenia naszej wiedzy na temat roli IL-17F w patogenezie łuszczycy i roli inhibitorów IL-17 w leczeniu tej choroby.

Przedstawione przez Doktoranta cele badawcze zostały w pełni zrealizowane w opublikowanych pracach, tworzących spójny cykl, co świadczy o dużej umiejętności planowania badań naukowych. Badania realizowane w ramach rozprawy doktorskiej zostały zatwierdzone przez Niezależną Komisję Bioetyczną przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym.

Kolejną pracę stanowi artykuł poglądowy pt.: "Safety and danger considerations of novel treatments for atopic dermatitis in context of primary cutaneous lymphomas" opublikowany w czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences w 2021 roku (IF 6,208; punktacja MNiSW 140 pkt). W artykule tym Doktorant zajął się niezwykle aktualnym tematem wpływu nowych terapii na rozwój i przebieg PCL. W tym celu zebrał, przeanalizował i omówił aktualne piśmiennictwo dotyczące roli interleukin IL-4, 13, 22 i 31 oraz ścieżek sygnałowych JAK/STAT w PCL w świetle bezpieczeństwa terapii atopowego zapalenia skóry lekami biologicznymi i inhibitorami małych cząsteczek. Z przeprowadzonej analizy Doktorant wysnuł wnioski, iż niektóre leki, takie jak dupilumab czy ruksolitiniib stosowane w terapii atopowego zapalenia skóry mogą mieć wpływ na progresję PCL, a także, że u pacjentów z AZS, powyżej 40 r.ż., u których dochodzi do gwałtownego zaostrzenia zmian chorobowych należy wykonać biopsję skóry celem wykluczenia współwystępowania PCL. Praca została zilustrowana niezwykle starannie wykonaną ryciną oraz zestawieniami tabelarycznymi.

W drugim artykule poglądowym, wchodzącym w cykl publikacji pt. "Safety and danger of biologic treatments in psoriasis in context of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL)." opublikowanym w 2021r. na łamach czasopisma *Advances in Dermatology and Allergology* (*Adv Dermatology Allergol*; IF 1,361, punktacja MNiSW 70) Doktorant przeanalizował dostępne piśmiennictwo dotyczące roli interleukin IL-12, 17, 23 oraz czynnika martwicy nowotworów- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) w CTCL w celu określenia bezpieczeństwa stosowania inhibitorów w.w. cytokin w leczeniu łuszczycy. Na podstawie analizy dostępnych danych Doktorant wykazał, że nowoczesne leki biologiczne stosowane w łuszczycy mogą przyczyniać się do progresji CTCL oraz wysunął postulat, że pacjenci ze zmianami łuszczycowymi o niepewnym charakterze powinni zostać poddani dokładnej ewaluacji, w tym biopsji skórnej, celem wykluczenia współistnienia CTCL.

Całość rozprawy jest podsumowana logicznymi, uważnie przemyślanymi wnioskami, konsekwentnie wypływającymi z przeprowadzonych badań. Według mojej oceny, wszystkie wnioski są trafne i ważne. Znaczącą wartość praktyczną niosą z sobą wnioski Doktoranta, o konieczności dokładnej ewaluacji pacjentów z ciężką postacią atopowego zapalenia skóry lub łuszczycą o nietypowym przebiegu ze względu na możliwość zwiększonego ryzyka rozwoju CTCL u tych chorych. Wyniki dotyczące różnic w występowaniu poszczególnych polimorfizmów IL-17 w zależności od jednostki chorobowej CTCL (MF lub SS) oraz stadium choroby i współwystępowania świądu stanowią cenny przyczynek do naszego zrozumienia etiopatogenezy CTCL. Z kolei wyniki dotyczące występowania poszczególnych wariantów polimorfizmów IL17-A i IL-17F w łuszczycy mogą nieść z sobą potencjalne implikacje terapeutyczne w przyszłości.

Reasumując, oceniam rozprawę lekarza Karola Kołkowskiego bardzo wysoko. Prezentowany cykl stanowi cenną pozycję zarówno pod względem poznawczym, jak i praktycznym, o czym świadczy publikacja omawianych prac na łamach czasopism o współczynniku wpływu IF odpowiednio 3.875, 6.208 oraz 1.664. Przedstawione publikacje cechuje staranność, rzetelność, konsekwencja i dokładna realizacja wytyczonych celów. Całość rozprawy udowodniła, że Doktorant posiadał odpowiednie umiejętności i jest w pełni przygotowany do prowadzenia prac badawczych.

Na tej podstawie stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska lekarza Karola Kołkowskiego pt. „Interleukin-17 genes polymorphisms in the context of safety and danger of novel treatments for atopic dermatitis and psoriasis in cutaneous T-cell lymphoma” spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Mam więc zaszczyt przedłożyć Wysokiej

Radzie Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego moją pozytywną ocenę rozprawy wraz z wnioskiem o dopuszczenie lekarza medycyny Karola Kołkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wysoka merytoryczna ocena rozprawy, rzetelność analizy, wartość poznawcza w pełni upoważniają mnie do wystąpienia z wnioskiem do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lekarza medycyny Karola Kołkowskiego.

dr hab. n. med. Alina Jankowska-Konsur