KATEDRA I KLINIKA DERMATOLOGII, WENEROLOGII
I DERMATOLOGII DZIECIĘCEJ
UNIWERSYTECKI SZPITAL KLINICZNY NR 1
W LUBLINIE
ul. Staszica 11, 20-081 Lublin, tel/fax : +48 81 532-36-47
klinika.dermatologii@umlub.pl
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Dorota Krasowska

Prof. dr hab. n. med. Dorota Krasowska
Katedra i Klinika Dermatologii,
Wenerologii i Dermatologii Dziecięcej
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Lublin 14.12. 2023

Recenzja pracy doktorskiej lek. Marta Kasprowicz-Furmańczyk

na podstawie cyklu publikacji pt. „Znaczenie rezydujących w tkankach komórek T pamięci w łuszczycy plackowatej"

Przedstawiona do recenzji dysertacja stanowi zbiór spójnych tematycznie czterech artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych, wpośród których jeden jest przeglądowy i trzy oryginalne, o łącznej punktacji **IF 7,414 i punkty MEN 420**. W trzech pracach Kandydatka jest pierwszym autorem. Do zbioru publikacji zostały dołączone oświadczenia wszystkich współautorów, którzy poświadczyli, iż w każdej z nich możliwy jest do wyodrębnienia indywidualny wkład lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk przy opracowaniu koncepcji, wykonaniu części eksperymentalnej, opracowaniu i interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Osiągnięcie naukowe przedstawione do recenzji spełnia warunki określone w Ustawie z dnia z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) art. 187 tejże ustawy. Została przygotowana i napisana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. n. med. Agnieszki Owczarczyk-Saczonek i obejmuje następujące publikacje:

1. Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Placek, W., & Owczarczyk-Saczonek, A. (2021). Assessment of the Tissue Resident Memory Cells in LesionalSkin of Patients with Psoriasis and in Healthy Skin of HealthyVolunteers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(21), 11251. **IF = 4,614 ; punkty MEN =140**

2. Owczarczyk-Saczonek, A., Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J.,Krajewska-Włodarczyk, M., Placek, W. (2022). The effect of therapy on TRM in psoriatic lesions. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, 38(1). **IF= 1,4; punkty MEN =70 IF;**

3. Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Placek, W., Owczarczyk-Saczonek, A. (2022). The Effect of the Long-Term Calcipotriol/Betamethasone Dipropionate Local Therapy on Tissue Resident Memory Cells Markers in Psoriatic Eruptions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(14), 8345. **IF = 0; punkty MEN = 140**

4. Kasprowicz-Furmańczyk, M., Narbutt, J., Borzęcki, A., & Owczarczyk-Saczonek, A. (2023). Does molecular scarring in psoriasis exist? A review of the literature. *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, 40(1). **IF= 1,4; punkty MEN =70**

Lek. **Marta Kasprowicz-Furmańczyk** ukończyła studia na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologicznym Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w 2016 r. Szkolenie specjalizacyjne dermatologii i wenerologii rozpoczęła w kwietniu 2018 r. w Klinice Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunologii Klinicznej w Olsztynie. Od 2020 roku jest zatrudniona na stanowisku asystenta w grupie badawczo-dydaktycznej Kliniki Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunologii Klinicznej w Olsztynie. Warto zauważyć, że Kandydatka jest stypendystką Warmińsko-Mazurskiej Izby Lekarskiej w Olsztynie w związku z uzyskaniem najwyższego wyniku w Lekarskim Egzaminie Końcowym wśród lekarzy stażystów Warmińsko-Mazurskiej Izby Lekarskiej w roku 2017. Dwukrotnie została uhonorowana Nagrodą Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie za wyróżniającą się publikację naukową (2020r. i 2021r.). Jest członkiem PTD a od 2022 r. pełni funkcję Sekretarza Oddziału Warmińsko-Mazurskiego PTD. Należy także do EADV.

Łuszczyca jest wieloczynnikową chorobą o podłożu autoimmunologicznym, ma przewlekły i nawracający charakter. Obecność zmian na skórze oraz w miejscach szczególnych: głowa owłosiona, narządy płciowe, dłonie, stopy, płytki paznokciowe jest wysoce stygmatyzująca dla chorego i w znaczący sposób obniża jego jakość życia. Często także

przyczynia się do rozwoju uzależnień, depresji i wyobcowania z życia zawodowego, społecznego i osobistego. Dodatkowo u wielu chorych obecność przewlekłego stanu zapalnego stymuluje rozwój współchorobowości, które w znaczący sposób obciążają system opieki zdrowotnej. Do chwili obecnej nie ma skutecznej metody wyleczenia choroby. Stosowane terapie systemowe a przede wszystkim biologiczne przynoszą dla pacjentów nie tylko remisję choroby ale także inny wymiar funkcjonowania w każdym obszarze życia. Niemniej jednak przerwanie takiej terapii wiąże się z nawrotem zmian skórnych w wielu przypadkach nawrót dotyczy miejsc wcześniej wykazujących objawy choroby. Uważa się, że za nawroty zmian odpowiedzialne są komórki pamięci T rezydujące w tkankach *(tissue-resident memory cells-TRM),* które odpowiadają za zjawisko „pamięci immunologicznej". Po zadziałaniu czynnika zewnętrznego np. uraz, infekcja i/lub utrata tolerancji immunologicznej, dochodzi do aktywacji TRM rezydujących w naskórku CD8 i skórze właściwej CD4 przez autoantygeny lub cytokiny. Dlatego koncepcja i przeprowadzone przez Doktorantkę badania doskonale wpisują się w poznawanie mechanizmów działania TRM, które to mogą odpowiadać nie tylko za nawroty choroby ale wydają się być możliwym i potencjalnym celem w terapii i zapobieganiu nawrotom choroby.

Celem pracy Doktorantki było:

1. Określenie lokalizacji i ilości markerów TRM w zmianach łuszczycowych u pacjentów z łuszczycą plackowatą oraz analiza związku między ekspresją markerów TRM a czasem trwania i nasileniem choroby.
2. Ocena ilości markerów TRM w zmianach łuszczycowych przed terapią, w trakcie i po 12 tygodniach terapii ogólnej metotreksatem lub sekukinumabemlub iksekizumabem lub adalimumabem.
3. Ocena ilości markerów TRM w zmianach łuszczycowych przed terapią, w trakcie i po 12 tygodniach terapii u pacjentów leczonych miejscowo preparatem zawierającym kalcypotriol i dipropionian betametazonu.

W pierwszej publikacji: *Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Placek, W., & Owczarczyk-Saczonek, A. (2021). Assessment of the Tissue Resident Memory Cells in Lesional Skin of Patients with Psoriasis and in Healthy Skin of Healthy Volunteers. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18*(21), 11251, **IF = 4,614 ; punkty MEN =140** Doktorantka metodą immunofluorescencji dokonała oceny odsetka obszaru

immunoreaktywnego obejmującego markery komórek T pamięci rezydujących w tkankach TRM (CD8, CD4, CD103, CD69, CD49, CXCR6, IL-17A i IL22) w skórze 32 chorych na łuszczycę w porównaniu do 10 osób zdrowych. Kandydatka w naskórku chorych obserwowała istotny wzrost powierzchni immunoreaktywnej CD8, zaś w skórze właściwej CD4 i nieco mniej w naskórku w porównaniu z grupą kontrolną. Co ciekawe naskórkowe komórki CD8+TRM wykazywały ekspresję antygenów CLA, CCR6, CD103 i IL-23R i wytwarzały po stymulacji *ex vivo* IL-17A co wskazywało na ich patogenność. Interesującym okazała się także korelacja badanych markerów komórek TRM z czasem trwania choroby, im dłużej trwała choroba tym wyższa okazała się ekspresja badanych markerów komórek TRM. Świadczy to o długim przeżyciu i zdolności komórek TRM do kumulowania się w skórze i może mieć ogromne znaczenie w prowokowaniu nawrotu zmian łuszczycowych po zadziałaniu odpowiedniego bodźca, co słusznie zauważa Kandydatka. Wydaje się, że dopiero całkowita supresja komórek TRM może odpowiadać za remisję choroby, zatem w przyszłych badanich mogły by one stanowić cel terapeutyczny.

W drugiej w ciekawie zaprojektowanej pracy publikacji: *Owczarczyk-Saczonek, A., Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Krajewska-Włodarczyk, M., & Placek, W. (2022). The effect of therapy on TRM in psoriatic lesions. Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii, 38(1).* **IF= 1,4; punkty MEN =70** Doktorantka z zastosowaniem metody immunohistochemicznej i immunofluorescencji oceniała ekspresję markerów komórek T pamięci rezydujących w tkankach TRM (CD4, CD8, CD103, CD69, CD49, CXCR6) oraz tkankową ekspresję cytokin IL-17 i IL-22 u chorych na łuszczycę leczonych terapią systemową z zastosowaniem metotreksatu (MTX), sekukinumabu (SEC), iksekizumabu (IXE) i adalimumabu (ADA). Ocena ekspresji markerów komórek TRM i cytokin została przeprowadzona w skórze z tej samej blaszki łuszczycowej u 13 chorych w porównaniu do 10 zdrowych i odbywała się w następującej sekwencji: przed włączeniem leczenia (tydzień 0), oraz w trakcie (tydzień 4 i 12). Zgodnie z danymi przedstawionymi w pracy (Fig. 1.) po leczeniu inhibitorami IL-17 Doktorantka obserwowała istotny spadek obszaru immunoreaktywnego w badaniu immunofluorescencyjnym w 4-tym i 12 tygodniu leczenia w zakresie ekspresji CD8 i CD4 w naskórku i skórze właściwej, zaś CD 69 tylko w naskórku a CXCR6 w skórze właściwej w porównaniu do tygodnia 0. Ekspresja tkankowa cytokin IL-17 i IL-22 pod wpływem leczenia inhibitorami IL-17 uległa istotnemu zmniejszeniu w skórze dopiero w 12 tym tygodniu terapii. Poziomy w naskórku pozostały bez zmian w porównaniu do tygodnia 0. W przypadku leczenia adalimumabem istotne spadki ekspresji CD4, CD69 obserwowano zarówno w naskórku jak i skórze właściwej dopiero w 12 tym tygodniu leczenia.

Spadek immunoreaktywności tkankowej IL-17A i IL-22 obserwowano w tygodniu 12 w skórze właściwej. Ciekawe, że u chorych leczonych MTX istotny spadek obszaru immunoreaktywnego dotyczył komórek CD4 w skórze dopiero w 12 tygodniu leczenia, analogiczne spadki immunoreaktywności w zakresie ekspresji IL-17A i IL-22 dotyczyły skóry i 12 tygodnia leczenia. Doktorantka zauważa, że obserwowany spadek ekspresji markerów komórek TRM i cytokin w skórze właściwej w 12 tygodniu terapii może być wynikiem słabszej penetracji stosowanych leków do naskórka.

W trzeciej publikacji: *Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Placek, W., & Owczarczyk-Saczonek, A. (2022). The Effect of the Long-Term Calcipotriol/Betamethasone Dipropionate Local Therapy on Tissue Resident Memory Cells Markers in Psoriatic Eruptions. International Journal of Environmental Research and PublicHealth, 19(14), 8345.* **IF = 0; punkty MEN = 140** Doktorantka metodą immunohistochemiczną i immunofluorescencyjną oceniała ekspresję markerów komórek T pamięci rezydujących w tkankach TRM i tkankową ekspresję cytokin IL-17A i IL-22 w naskórku i skórze właściwej przed i po leczeniu w 4 i 12 tygodniu z zastosowaniem piany z dipropionianem betametazonu i kalcipotriolem (Cal/BD) u chorych o łagodnym nasileniu łuszczycy w porównaniu do 10 zdrowych ochotników. W 12. tygodniu lek. Marta Kasprowicz-Furmańczyk obserwowała istotny spadek obszaru fluorescencji w naskórku dla markerów: CD8, CD4, CD103, CD69, CXCR6, IL-17A oraz IL-22 zaś w skórze właściwej spadek obszaru fluorescencji dotyczył markerów CD4 i IL-22 . Otrzymane przez Doktorantkę wyniki wskazują, że po 12 tygodniach miejscowego leczenia Cal/DB istotnie obniża się ekspresja markerów TRM głównie w naskórku a nieco mniej w skórze właściwej, co może wynikać ze słabszego przenikania preparatu do skóry właściwej. Obecność ekspresji markerów TRM i cytokin w skórze właściwej po 12 tygodniach terapii a także jej przerwaniu może odpowiadać za szybki nawrót zmian chorobowych i wskazuje na konieczność stosowania terapii proaktywnej.

W czwartej publikacji: *Kasprowicz-Furmańczyk, M., Narbutt, J., Borzęcki, A., Owczarczyk-Saczonek,A. (2023). Does molecular scarring in psoriasis exist? A review of the literature. Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologiii Alergologii, 40(1).* **IF= 1,4; punkty MEN =70** Doktorantka dokonała przeglądu literatury dotyczącego koncepcji bliznowacenia molekularnego z uwzględnieniem komórek T pamięci rezydujących w tkankach TRM w łuszczycy oraz oceny wpływu stosowanych terapii systemowych i biologicznych na pamięć immunologiczną. Na podstawie dokonanego przeglądu piśmiennictwa Autorka postuluje, że nie tylko komórki T pamięci rezydujące w skórze (TRM), ale także limfocyty regulatorowe (Treg), komórki dendrytyczne (DC) oraz komórki

Langerhansa (LC) wydają się odgrywać ogromną rolę w koncepcji bliznowacenia molekularnego w łuszczycy. W dalszej części pracy przeanalizowała doniesienia literaturowe świadczące o możliwym wpływie fototerapii, leczenia konwencjonalnego MTX, cyklosporyny oraz leczenia biologicznego: anty TNF, anty IL-17, anty IL-23 i anty IL12/23 na ekspresję markerów komórek bliznowacenia molekularnego. W podsumowaniu Doktoranta zauważa, że pomimo stosowania nowoczesnych metod leczenia łuszczycy pozostaje molekularne bliznowacenie w skórze. Obecność komórek TRM wydaje się być odpowiedzialna za nawroty choroby w tych samych anatomicznych lokalizacjach. Interesujące, że w skórze chorych po ustąpieniu blaszek łuszczycowych poziom ekspresji ponad 250 genów nie wraca do poziomu ekspresji w skórze zdrowej. Publikacja ta jest niejako zwieńczeniem i podsumowaniem wykonanych przez Doktorantkę prac oryginalnych i wskazuje na konieczność prowadzenia dalszych badań w tym obszarze.

Przedłożona do recenzji praca składająca się z cyklu czterech prac powiązanych tematycznie, opublikowanych w recenzowanych czasopismach z IF i wysoką punktacją MEN doskonale wpisuje się w aktualny nurt badawczy dotyczący łuszczycy plackowatej w aspekcie skuteczności obecnie stosowanych celowanych terapii biologicznych w porównaniu do terapii konwencjonalnych i leczenia miejscowego. Warto podkreślić oryginalny i nowatorski charakter przeprowadzonych badań, z których jednoznacznie wynika, że leczenie łuszczycy powinno być stosowane, o ile nie ma przeciwwskazań , bez zbędnych przerw aby zapewnić choremu właściwy komfort życia i zapobiegać rozwojowi marszu łuszczycowego nieuchronnie prowadzącego do manifestacji innych współchorobowości i związanego z tym znacznego obciążenia systemu opieki zdrowotnej. Warto zauważyć, że całość stanowi ciekawy i aktualny stan wiedzy dotyczący możliwości nawrotu choroby po przerwaniu adekwatnego leczenia i stanowi przesłankę uzasadniającą konieczność kontynuowania terapii. Warto zwrócić uwagę na wspaniałe porozumienie Doktorantki i Promotora prof. dr hab. n. med. Agnieszki Owczarczyk-Saczonek z pacjentami biorącym udział w badaniu, którym wielokrotnie pobierano biopsje z tej samej okolicy. W przedstawionej do recenzji pracy Doktorantka konsekwentnie zaplanowała i wykonała żmudne procedury z zastosowaniem nowoczesnych technik badawczych a interesujące wyniki przedyskutowała i opublikowała w recenzowanych czasopismach. Spis pozycji piśmiennictwa w cyklu publikacji obejmuje 144 pozycje, głównie anglojęzycznego, znaczna część opublikowana w ostatnich latach nie budzi zastrzeżeń, a sposób cytowania odbywał się na ogólnie przyjętych zasadach.

Podsumowując, rozprawę doktorską lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk oceniam bardzo wysoko. Kandydatka udowodniła, że potrafi doskonale zaplanować pracę, sformułować cele badawcze, konsekwentnie wykonać pracę laboratoryjną i obliczenia statystyczne, stosownie formułować wnioski, a także opublikować wyniki badań w recenzowanych czasopismach medycznych. Całość pracy świadczy o dużej dojrzałości naukowej Kandydatki. Na kształtowanie tej postawy niewątpliwie miała Pani Promotor prof. Agnieszka Owczarczyk-Saczonek będąca niekwestionowanym ekspertem w łuszczycy plackowatej i leczeniu biologicznym. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2020 r. poz. 85 z późn. zm.) w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, habilitacyjnym o nadanie tytułu profesora. W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie ds. Stopni i Tytułu Naukowego Dyscypliny Nauki Medyczne Warmińsko-Mazurskiego Uniwersytetu wniosek o dopuszczenie lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na oryginalny, nowatorski charakter pracy przekładający się na praktykę kliniczną w aspekcie konieczności ciągłego leczenia chorych na łuszczycę wnoszę Wysokiej Rady ds. Stopni i Tytułu Naukowego Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum Warmińsko-Mazurskiego Uniwersytetu o wyróżnienie rozprawy.

Lublin 18.12.2023