Prof. dr hab.n.med Irena Walecka-Herniczek
Klinika Dermatologii CMKP/PIM MSWiA
02-507 Warszawa, ul. Wołoska 137
tel. 477221813
mail: irena.walecka@cskmswia.gov.pl

Warszawa, 05.12.2023

Ocena

pracy doktorskiej lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk na podstawie cyklu publikacji pt. *„Znaczenie rezydujących w tkankach komórek T pamięci w łuszczycy plakowatej"*

Łuszczyca jest przewlekłą, ogólnoustrojową zapalną chorobą skóry, na którą choruje około 2-3% ogólnej populacji. W jej patogenezie dużą rolę odgrywa podłoże genetyczne predysponujące do rozwoju określonych zaburzeń immunologicznych skutkujących powstaniem charakterystycznych zmian skórnych, a u części pacjentów również rozwojem łuszczycowego zapalenia stawów. Naturalny przebieg łuszczycy plackowatej charakteryzuje się długotrwałym utrzymywaniem się zmian skórnych i skłonnością do nawrotów w tej samej okolicy, pomimo skutecznego leczenia. Wynika to z obecności w pozornie zdrowej skórze rezydujących w tkankach komórek T pamięci (TRM), mających zdolność inicjowania kaskady zapalnej i wywołujących nawrót choroby. Jest to stosunkowo niedawno poznana grupa komórek, która wymaga dalszych badań w celu lepszego poznania i zrozumienia patomechanizmów łuszczycy, stad uważam, że recenzowana rozprawa doktorska dobrze wpisuje się w aktualny nurt badawczy, stanowiąc jednocześnie istotny i oryginalny wkład w rozwój badań nad łuszczycą. Podjęta przez Doktorantkę tematyka jest aktualna, a ujęcie tematu nowatorskie i interesujące.

Pracę doktorską Marty Kasprowicz-Furmańczyk stanowi cykl publikacji powiązanych tematycznie składający się z 4 artykułów, w tym 3 prac oryginalnych i 1 pracy poglądowej o łącznej punktacji **IF 7,414** i **MNiSW 420**, w których doktorantka, w trzech jest pierwszym autorem, a w jednej drugim. Artykuły są napisane w języku angielskimi i zostały opublikowane w

recenzowanych czasopismach. Na osiągnięcie naukowe o tytule: ***„Znaczenie rezydujących w tkankach komórek T pamięci w łuszczycy plakowatej"*** składają się prace:

1) 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.
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).
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.
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)

Doktorantka wyznaczyła sobie następujące cele rozprawy badawczej:

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. Ocenę ilości markerów TRM w zmianach łuszczycowych przed terapią, w trakcie i po 12 tygodniach terapii ogólnej metotreksatem lub sekukinumabem lub iksekizumabem lub adalimumabem.
3. Ocenę 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.

Badania zostały zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną przy Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (Uchwała 24/2020).

Celem rozprawy doktorskiej było usystematyzowanie aktualnie dostępnych danych dotyczących koncepcji bliznowacenia molekularnego ze szczególnym uwzględnieniem TRM w łuszczycy oraz ocena wpływu różnych terapii na pamięć immunologiczną. Omówienie zostało przedstawione jako układ rozprawy z klasycznym podziałem na rozdziały – publikacje stanowiące rozprawę doktorską, streszczenie w języku polskim i angielskim, wprowadzenie, cele badawcze, omówienie wyników i dyskusja, wnioski, piśmiennictwo, spis rycin, spis tabel, zgodnie z wymogami formalnymi zawartymi w Ustawie o Stopniach i Tytułach Naukowych.

Pierwsza praca z cyklu (*Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Placek, W., & Owczarczyk- Saczonek, A. Assessment of the Tissue Resident Memory Cells in Lesional Skin of Patients with Psoriasis and in Healthy Skin of Healthy Volunteers.)* jest pracą oryginalną, której celem było 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. Do badania włączono 32 dorosłych pacjentów z łuszczycą plackowatą i 10 zdrowych ochotników. W grupie badanej pobrano biopsję skóry ze zmian łuszczycowych, które nawróciły w tych samych miejscach po zakończeniu poprzedniego leczenia. W grupie badanej oceniono także nasilenie choroby za pomocą skal: PASI, BSA, DLQI. W pobranych bioptatach oceniono obszar immunoreaktywny i lokalizację markerów TRM (CD4, CD8, CD103, CD69, CD49, CXCR6) i ekspresję tkankową cytokin (IL-17, IL-22) w skórze ze zmianami chorobowymi w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną. Wykazano zwiększoną liczbę komórek TRM i ich markerów w naskórku i skórze właściwej wykwitów łuszczycowych w porównaniu ze skórą zdrowych ochotników, co potwierdza znaczenie tych komórek w patogenezie łuszczycy plackowatej. Ciekawym i ważnym wnioskiem jest stwierdzenie przez autorów, że istnieje wyraźna dodatnia zależność pomiędzy ekspresją markerów TRM u chorych na łuszczycę plackowatą a czasem trwania choroby. Im dłuższy jest przebieg choroby, tym większa jest ekspresja markerów TRM (czas vs. marker, $p < 0,05$), co niewątpliwie świadczy o zdolności do kumulowania się TRM w skórze pacjentów chorych na łuszczycę. Ocena skal PASI, BSA i DLQI pozwoliła na analizę korelacji pomiędzy uzyskanymi wartościami i ekspresją analizowanych markerów. Ekspresja analizowanych markerów nie była zależna od nasilenia zmian skórnych (marker vs. PASI, BSA, DLQI).

Druga praca (*Owczarczyk-Saczonek, A., Kasprowicz-Furmańczyk, M., Czerwińska, J., Krajewska-Włodarczyk, M., & Placek, W. The effect of therapy on TRM in psoriatic lesions.)* jest pracą oryginalną w której doktorantka jest drugim autorem. W artykule poddano ocenie ilości markerów TRM w zmianach łuszczycowych przed terapią, w trakcie i po 12 tygodniach

terapii ogólnej metotreksatem lub sekukinumabem lub iksekizumabem lub adalimumabem. Badaniem objęto łącznie 13 pacjentów chorych na łuszczycę plackowatą, bez współistniejącego łuszczycowego zapalenia stawów. Grupę kontrolną (n = 10) stanowili zdrowi ochotnicy. Za pomocą immunohistochemii w bioptatach oceniano markery TRM (CD4, CD8, CD103, CD69, CD49, CXCR6) i ekspresję tkankową cytokin (IL-17, IL-22). Próbki biopsyjne pobierano trzykrotnie z tej samej blaszki łuszczycowej przed oraz po 4 i 12 tygodniach terapii. Autorzy wykazali, że ekspresja markerów TRM w zmianach chorobowych zmniejszyła się w trzech punktach czasowych (W0, W4, W12), co wskazuje na zmniejszenie intensywności fluorescencji w czasie w przypadku każdej z wdrożonych terapii. Najszybszą odpowiedź zaobserwowano w przypadku terapii anty-IL-17 - w 4. tygodniu leczenia, natomiast w przypadku MTX i ADA w 12. tygodniu leczenia. Co więcej stwierdzono, że w przypadku leków stosowanych ogólnie zmniejszona ekspresja markerów TRM, występuje głównie w zmienionej chorobowo skórze właściwej, a nie w naskórku w ciągu 12 tygodni obserwacji. Obecność TRM w naskórku pomimo wdrożonej skutecznej terapii ogólnej i makroskopowego ustąpienia zmian skórnych, może wyjaśniać tendencję do nawrotów zmian łuszczycowych w tych samych lokalizacjach.

Trzecia praca z cyklu (*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.*) jest pracą oryginalną, której celem była 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 grupie 10 pacjentów chorujących na łuszczycę plackowatą o nasileniu lekkim wdrożono terapię miejscową preparatem zawierającym Cal/BD w pianie. Lek aplikowany był na zmiany łuszczycowe raz dziennie przez 4. tygodnie, następnie dwa razy w tygodniu. Za pomocą immunohistochemii oceniano markery TRM (CD4, CD8, CD103, CD69, CD49, CXCR6) i ekspresję tkankową cytokin (IL-17, IL-22) w zmianach łuszczycowych pobranych od 10 pacjentów w porównaniu z 10 zdrowymi próbkami skóry. Próbki biopsyjne pobierano trzykrotnie z tej samej blaszki łuszczycowej przed oraz po 4 i 12 tygodniach terapii. Po 4 tygodniach terapii autorzy stwierdzili statystycznie istotny spadek pola immunoreaktywnego jedynie w przypadku CD4 w naskórku. W 12. tygodniu terapii statystycznie istotne spadki powierzchni fluorescencji w porównaniu z tygodniem 0 zaobserwowano dla markerów: CD8, CD4, CD103, CD69, CXCR6, IL-17A oraz IL-22 w obrębie naskórka ($p < 0,05$) i CD4, IL-22 w obrębie skóry właściwej ($p < 0,05$). Co więcej po 12. tygodniach terapii powierzchnia

immunoreaktywna markerów TRM w naskórku i skórze właściwej u pacjentów z grupy badanej była podobna do grupy kontrolnej w przypadku: CD8; CD4; CD69; IL17; IL-22. Powyższe wyniki świadczą o tym, że leczenie miejscowe preparatem zawierającym Cal/BD istotnie obniża ekspresję markerów TRM głównie w naskórku i w mniejszym stopniu w skórze właściwej w 12-tygodniowym okresie obserwacji. Autorzy opisane wyniki tłumaczą słabszą penetracją leku do skóry właściwej oraz działania preparatu głównie na naskórek. Według autorów utrzymywanie się wysokiej ekspresji markerów TRM w skórze właściwej w przypadku stosowania jedynie terapii miejscowej może skutkować szybkim nawrotem zmian po zaprzestaniu leczenia. Kolejnym ciekawym i istotnym klinicznie wnioskiem jest czas niezbędny do uzyskania istotnych statystycznie zmian w ilości markerów TRM. W badaniu statystycznie istotny efekt leczenia miejscowego Cal/BD mierzony zmniejszeniem powierzchni immunofluorescencyjnej swoistych markerów TRM zaobserwowano dopiero w 12. tygodniu terapii (CD8, CD103, CXCR6, IL-17A, IL22), a w 4. tygodniu spadek dotyczył tylko CD4. Powyższe wyniki potwierdzają zasadność i konieczność stosowania terapii proaktywnej. W przypadku większości leków miejscowych, zgodnie z charakterystyką produktów leczniczych, terapia może być kontynuowana przez maksymalnie 3–4 tygodnie, co okazuje się być niewystarczającym czasem na osiągnięcie redukcji TRM. Nie wiadomo, jak długo powinno trwać leczenie, aby całkowicie wyeliminować TRM i uzyskać długotrwałą remisję, jednak wiadomo, że nawroty choroby są częste, zwłaszcza w przypadku leczenia reaktywnego. Długofalowe, proaktywne podejście do leczenia, w tym terapia podtrzymująca po skutecznym leczeniu wstępnym, może pomóc w osiągnięciu dłuższych remisji choroby oraz pozytywnie wpłynąć na jakość życia pacjentów

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki badań w pracy drugiej i trzeciej, autorzy wyciągnęli wniosek, że połączenie terapii ogólnej z terapią miejscową może mieć istotny wpływ na uzyskanie skuteczniejszej redukcji TRM zarówno w skórze właściwej, jak i naskórku, a co za tym idzie wpłynąć na dłuższe remisje choroby.

Czwarta praca z cyklu (*Kasprowicz-Furmańczyk, M., Narbutt, J., Borzęcki, A., & Owczarczyk-Saczonek, A. Does molecular scarring in psoriasis exist? A review of the literature.*) to praca poglądowa, której celem było omówienie koncepcji bliznowacenia molekularnego ze szczególnym uwzględnieniem TRM w łuszczycy oraz ocena wpływu różnych terapii na pamięć immunologiczną. Pomimo stosowania najnowocześniejszych metod leczenia łuszczycy w skórze pacjentów pozostają blizny molekularne. To właśnie TRM zapewnia biologiczne wyjaśnienie obserwacji klinicznej, że blaszki łuszczycowe pojawiają się wielokrotnie w tych samych lokalizacjach anatomicznych w trakcie przebiegu choroby.

Szczególnej uwagi i dalszych badań wymagają także LC, DC i Treg wpływające na aktywację uśpionego TRM i biorące udział w tworzeniu „blizny molekularnej". Wpływ leczenia na TRM pozostaje trudnym i nie do końca zbadanym problemem w dermatologii, jednakże na podstawie aktualnych doniesień naukowych wydaje się, że na właściwą kontrolę choroby i redukcję TRM wpływa kilka czynników, do których zalicza się: wczesne rozpoczęcie leczenia, rodzaj stosowanej terapii i czas jej trwania. Wydaje się, że stosowanie terapii skojarzonych – ogólnego i miejscowego – może skuteczniej oddziaływać na liczbę TRM w skórze chorych na łuszczycę, dając dłuższe i trwalsze remisje choroby.

Uzyskane w każdej z prac wyniki autorka poddała analizie statystycznej, co umożliwiło wyciągnięcie następujących wniosków:

1. W naskórku i skórze właściwej wykwitów łuszczycowych w porównaniu ze skórą zdrowych ochotników jest zwiększoną ilość markerów TRM.
2. Istnieje wyraźna dodatnia zależność między ekspresją markerów TRM u pacjentów z łuszczycą plackowatą a czasem trwania choroby.
3. Na ilość markerów TRM nie ma wpływu intensywność zmian skórnych (oceniana według skal PASI, BSA, DLQI).
4. Wykazano zmniejszenie ekspresji markerów TRM w zmianach łuszczycowych, ujawniając zmniejszoną intensywność fluorescencji w czasie z każdą terapią ogólną (anty-IL-17, ADA, MTX).
5. Najszybsza redukcja ekspresji markerów TRM dotyczyła terapii anty-IL-17 w 4. tygodniu leczenia, natomiast w przypadku MTX i ADA w 12. tygodniu leczenia.
6. W ciągu 12-tygodniowej obserwacji terapia ogólna (anty-IL-17, ADA, MTX) zmniejsza ekspresję markerów TRM głównie w skórze właściwej zmian chorobowych, a w zdecydowanie mniejszym stopniu w naskórku.
7. W ciągu 12-tygodniowej obserwacji terapia miejscowa Cal/BD zmniejsza ekspresję markerów TRM głównie w naskórku, ale nie wpływa znacząco na ich ekspresję w skórze właściwej.
8. Spadek markerów TRM zaobserwowano dopiero w 12. tygodniu terapii miejscowej preparatem Cal/BD, co potwierdza zasadność terapii proaktywnej w miejscowym leczeniu łuszczycy plackowatej. Cztery tygodnie ciągłej terapii nie zmniejszyły istotnie ilości TRM w skórze pacjentów z łuszczycą zwykłą.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska świadczy o dużej wiedzy Doktorantki, która swobodnie porusza się w piśmiennictwie fachowym, umiejętnie je analizuje i adekwatnie przedstawia uzyskane przez siebie i innych autorów wyniki badań. Podjęta przez Doktorantkę tematyka jest ze wszech miar aktualna, a sposób ujęcia tematu ciekawy i innowacyjny.

Całość stanowi oryginalny zbiór aktualnego stanu wiedzy na temat znaczenia rezydujących w tkankach komórek T pamięci w łuszczycy plackowatej. Prace napisane są poprawnie językowo, stylistycznie i interpunkcyjnie. Spis piśmiennictwa w cyklu publikacji obejmuje 14 pozycji, w przeważającej większości z lat 2019-2021, co stanowi duży plus pracy. Dobór piśmiennictwa jest prawidłowy, a sposób cytowania nie odbiega od ogólnie przyjętych zasad.

Na całkowity dorobek naukowy Doktorantki, składają się 23 prace o łącznej wartości IF 26.965 oraz MNiSW 1336. Zainteresowania naukowe lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk są zbieżne z zagadnieniami omawianymi w ramach recenzowanego przewodu doktorskiego.

Reasumując, przedstawiony cykl prac składający się na rozprawę doktorską oceniam pozytywnie. Analiza uzyskanych wyników, porównanie ich z danymi dostępnymi w literaturze, dobór literatury, wskazują, że lek. Marta Kasprowicz-Furmańczyk jest osobą umiejącą prowadzić badania naukowe, oraz wyciągać właściwe wnioski. Rozprawa odpowiada warunkom określonym w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 z późniejszymi zmianami (Dz. U. nr. 65, poz. 595) w związku z art.179 ust.1 ustawy z dnia 03 lipca 2018. Przepisy wprowadzające ustawę- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U z 2018 poz 1669 z późn. zm.)

W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego wniosek o dopuszczenie lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, mając na względzie nowatorski charakter prac, wagę uzyskanych wyników oraz staranność, z jaką została przygotowana rozprawa przez Doktorantkę, wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Marty Kasprowicz-Furmańczyk

Prof. dr hab. n. med.
Irena Walecka-Herniczek
Specjalista dermatolog-wenerolog
Specjalista balneologii i medycyny fizykalnej
7005389197 4