

## **AUTOREFERAT**

**1. Imię i nazwisko:** Robert Kieszko

**2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:**

Dyplom Lekarza – 28.11.1987, dokument L.8297/11347/87

Choroby Wewnętrzne I stopień – 16.10.1990, dokument 750/1990

Choroby Płuc II stopień – 1993-11-12, dokument 13209/5/I/1993

Doktor Nauk Medycznych – 26.09.1996 na podstawie rozprawy doktorskiej „Płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL) u chorych na sarkoidozę układu oddechowego” – praca doktorska w Akademii Medycznej w Lublinie, promotor – prof. dr hab. Janusz Milanowski, dyplom nr 1321/98

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu**

Lekarz Stażysta – Państwowy Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie. 1987-1988

Młodszy Asystent – Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy. Akademia Medyczna w Lublinie. 1988-1993

Asystent – Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy. Akademia Medyczna w Lublinie. 1994-1998

Adiunkt – Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy. Akademia Medyczna w Lublinie, obecnie Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii. Uniwersytet Medyczny w Lublinie. 1998-obecnie.

Konsultant wojewódzki w dziedzinie chorób płuc – 2016-obecnie.

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)**

**tytuł osiągnięcia naukowego:**

Immunologiczne, genetyczne i środowiskowe czynniki prognostyczne dla występowania i przebiegu sarkoidozy układu oddechowego.

**autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa:**

A. ROBERT KIESZKO, PAWEŁ KRAWCZYK, OLGA JANKOWSKA, SYLWIA CHOCHOLSKA, ANNA KRÓL, JANUSZ MILANOWSKI. The clinical significance of

interleukin 18 assessment in sarcoidosis patients. *Respir. Med.* 2007 vol. 101 nr 4 s. 722-728. IF=2,235; KBN/MNiSW=20

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji, zbieraniu materiału biologicznego i danych pacjentów. W okresie 4 lat po włączeniu do badania, prowadziłem obserwacje pacjentów; zbierałem dane kliniczne, dane z badań czynnościowych i obrazowanych pozwalających scharakteryzować przebieg choroby u danego pacjenta. Skonstruowałem bazę danych, opracowałem modele i wykonałem analizy statystyczne. Interpretowałem wyniki tych analiz i przygotowałem manuskrypt. Kierowałem grantem, w ramach którego wykonano część tej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

B. ROBERT KIESZKO, PAWEŁ KRAWCZYK, SYLWIA CHOCHOLSKA, AGNIESZKA BOJARSKA-JUNAK, O. JANKOWSKA, A. KRÓL, JACEK ROLIŃSKI, JANUSZ MILANOWSKI. Tumor necrosis factor receptors (TNFRs) on T lymphocytes and soluble TNFRs in different clinical courses of sarcoidosis. *Respir. Med.* 2007 vol. 101 nr 3 s. 645-654. IF 2.235; KBN/MNiSW=20

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu jej koncepcji i zbieraniu materiału biologicznego i danych pacjentów, w tym kilkuletnie obserwacje klinicznej. Wykonałem większość płukań oskrzelowo-pęcherzykowych celem uzyskania popłuczyn do badań. Skonstruowałem bazę danych, opracowałem modele i wykonałem analizy statystyczne. Zinterpretowałem wyniki tych analiz i przygotowałem manuskrypt. Kierowałem grantem, w ramach którego wykonano część tej pracy. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

C. ROBERT KIESZKO, PAWEŁ KRAWCZYK, SYLWIA CHOCHOLSKA, ANNA DMOSZYŃSKA, JANUSZ MILANOWSKI. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in Polish patients with sarcoidosis. Connection with the susceptibility and prognosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2010 vol. 27 nr 2 s. 131-137. IF= 1,541; KBN/MNiSW=27

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu założeń pracy oraz na zaprojektowaniu doświadczeń pozwalających na identyfikacje badanych genotypów. Po włączeniu pacjentów do badania, przez 6 lat prowadziłem obserwacje chorych; zbierałem dane kliniczne, dane z badań czynnościowych i obrazowych pozwalających scharakteryzować przebieg choroby danego pacjenta. Skonstruowałem bazę danych, opracowałem modele i wykonałem analizy statystyczne. Opracowałem i zinterpretowałem

wyniki badań molekularnych w połączeniu z danymi klinicznymi. Przygotowałem manuskrypt. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

D. ROBERT KIESZKO, PAWEŁ KRAWCZYK, TOMASZ POWRÓZEK, ANETA SZUDYSZCZYREK, MICHAŁ SZCZYREK, IWONA HOMA, JADWIGA DANILUK, JANUSZ MILANOWSKI. The impact of ACE gene polymorphism on the incidence and phenotype of sarcoidosis in rural and urban settings. Arch. Med. Sci. 2016 vol. 12 nr 6 s. 1263-1272. IF=1,812; KBN/MNiSW=25

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w opracowaniu założeń pracy oraz na zbieraniu materiału biologicznego i danych pacjentów, w tym dokonałem kilkuletniej obserwacji klinicznej. Wykonałem większość płukań oskrzelowo-pęcherzykowych celem uzyskania popłuczyn do badań. Skonstruowałem bazę danych, opracowałem modele i wykonałem analizy statystyczne. Następnie przedyskutowałem i zinterpretowałem wyniki badań genetycznych, biologicznych oraz klinicznych. Przygotowałem manuskrypt. Mój udział procentowy szacuję na 70 %.

Punktacja powyższych prac:

Sumaryczny Impact Factor – 7,822 pkt.

Punktacja PK (MNiSW) – 92 pkt.

### **Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

Sarkoidoza jest wielonarządową, ziarniniakową chorobą o nieznanym przyczynie. Charakterystyczne dla sarkoidozy ziarniniaki powstają w wyniku odpowiedzi immunologicznej na dotychczas nieznaną antygen(y). Tym antygenem może być czynnik infekcyjny, jak sugerują niektóre badania, występujący sezonowo na ograniczonym obszarze bądź związany z wykonywanym zawodem [Hunninghake i wsp. 1999].

Uważa się, że sarkoidoza jest chorobą o złożonym genetycznym podłożu. Badania genetyczne przeprowadzone w ostatnich latach dają próby odpowiedzi na pytanie, jak genotyp pacjenta może wpływać na wystąpienie sarkoidozy, jej obraz i przebieg kliniczny. Predyspozycja genetyczna tłumaczy, dlaczego tylko niektórzy chorzy odpowiadają ziarniniakowym zapaleniem na ekspozycję na antygen sarkoidalny. Ta predyspozycja najprawdopodobniej ma miejsce w wyniku zaburzeń działania wielu genów. Przemawiają za tym różna częstość występowania choroby i odmienny jej obraz u chorych z różnych grup

etnicznych czy ras, oraz większe prawdopodobieństwo wystąpienia sarkoidozy u ludzi, których krewni chorują na sarkoidozę [Rybicki i wsp.2007].

Sarkoidoza ma nieprzewidywalny przebieg. W większości przypadków kończy się samoistną remisją, ale w 10-30 % przypadków dochodzi do uszkodzenia narządowego. Można wyróżnić przynajmniej dwa fenotypy tej choroby: choroba o ostrym początku i dalej ustępująca oraz ciężka choroba o przewlekłym przebiegu. Choroba o ostrym początku częściej dotyczy rasy kaukaskiej i często ustępuje w okresie do 2 lat. Samoistne remisje dotyczą w szczególności pacjentów z zespołem Löfgrena, na który składają się obecność obustronnej węzkowej limfadenopatii, rumień guzowaty, gorączka, zapalenie stawów, bóle mięśniowe. Przewlekła sarkoidoza często przebiega podstępnie z objawami związanymi z zajętych narządami (kaszel, duszność) i często nawraca [Sharma i WSP. 2008]. Dotychczas stosowane badania, takie jak: określenie składu komórkowego płynu z płukania oskrzelowo - pęcherzykowego (ang. bronchoalveolar lavage fluid – BALF), ocena stopnia aktywacji limfocytów z BALF, czy analiza zmian biochemicznych w surowicy krwi, okazały się niewystarczające do prognozowania przebiegu choroby [Drent i wsp. 1993, Verstraeten i wsp. 1990, Danila i wsp. 2008].

Odpowiedź zapalną w sarkoidozie charakteryzuje gromadzenie się w miejscach toczącej się choroby cytokin pozapalnych, w tym TNF alfa i Interleukiny 18 (IL-18). Produkcja cytokin jest regulowana poprzez: działanie innych cytokin, uwalnianie rozpuszczalnych receptorów cytokin oraz produkcję agonistów swoistych receptorów cytokinowych. Polimorfizm genetyczny przyczynia się do wystąpienia indywidualnych różnic w regulacji produkcji cytokin. Dlatego prawdopodobnie polimorfizm genów kodujących cytokiny oraz czynniki immunomodulujące może przyczyniać się do wystąpienia sarkoidozy, wpływać na tworzenie się ziarniaków i modulować stopień ciężkości i przebieg choroby [Shigehara i wsp. 2001, Dai i wsp. 2005, Grutters i wsp. 2002].

Polimorfizm regionu promotora genu *TNF- $\alpha$*  wpływa na produkcję TNF alfa, modulując jego stężenie w surowicy krwi. W regionie promotorowym genu *TNF- $\alpha$*  opisano wiele polimorfizmów. Jako pierwszy opisano polimorfizm polegający na tranzycji guaniny na adeninę w pozycji -307 (tranzycja G>A w pozycji -307) regionu promotorowego genu *TNF- $\alpha$* . Rzadszy allel -307A (nazywany też *TNF-2*) ma wpływ na zwiększenie transkrypcji mRNA dla TNF alfa [Somoskövi i wsp. 1999]. U chorych na sarkoidozę opisano większą częstość występowania allelu -307A zwłaszcza u pacjentów z zespołem Löfgrena. Określenie precyzyjnej roli czynnika martwicy nowotworu alfa w sarkoidozie budzi wiele zainteresowania, ponieważ obecnie dostępne jest leczenie anty-TNF $\alpha$  [Mrazek i wsp 2005].

Polimorfizm genu enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) od wielu lat przyciąga uwagę badaczy jako istotny czynnik biorący udział w patogenezie sarkoidozy. Inhibitor konwertazy I to enzym odpowiedzialny za konwersję angiotensyny I do II, dezaktywuje szlak

bradykininy w systemie kalikreina-kininogen. Angiotensyna II jest czynnikiem zwężającym naczynia i aktywującym układ renina – angiotensyna. Angiotensyna II wykazuje efekty prozapalne i stymuluje odpowiedź immunologiczną. Aktywuje komórki prozapalne, monocyty, makrofagi i komórki nabłonkowe [Coates i wsp. 2003, Bryant i wsp 2009, Miura i wsp. 2002]. Istnieje korelacja pomiędzy liczbą ziarniaków sarkoidalnych a poziomem ACE w surowicy krwi chorych na sarkoidozę. Poziom ACE w surowicy jest wskaźnikiem aktywności choroby. Gen *ACE* znajduje się na długim ramieniu chromosomu 17 (17q23). Najważniejszy polimorfizm tego genu obejmuje insercję 287 par zasad w intronie 16. Wcześniejsze badania dotyczące roli polimorfizmu genu *ACE* w patogenezie sarkoidozy są kontrowersyjne, ale wydaje się, że ma on wpływ na przebieg kliniczny choroby [Danser i wsp. 1995, McGrath i wsp. 2001, Sari i wsp. 2014].

Wyniki przedstawionych przeze mnie badań reprezentują część naukowych dokonań związanych z próbą określenia roli TNF- $\alpha$ , polimorfizmów genu *TNF- $\alpha$* , interleukiny 18 (IL - 18), polimorfizmu genu *ACE* oraz miejsca zamieszkania na występowanie, przebieg i rokowanie w sarkoidozie układu oddechowego. Efekty prac pomogły ocenić zagrożenie wystąpienia niekorzystnego przebiegu sarkoidozy u poszczególnych pacjentów. Wyniki badań mogą posłużyć w planowaniu wdrożenia wczesnego leczenia u wymagających takiego postępowania chorych oraz określenia ryzyka występowania nawrotów po zaprzestaniu leczenia. Uzasadnieniem dla wdrożenia planowanych badań była też stosunkowo duża liczba pacjentów o niekorzystnym przebiegu sarkoidozy obserwowana w Województwie Lubelskim (obserwacje własne).

Ad. A. The clinical significance of interleukin 18 assessment in sarcoidosis patients. Wartość kliniczna oceny stężenia interleukiny 18 u chorych na sarkoidozę.

Sarkoidozę charakteryzuje przewaga limfocytów Th1 (limfocyty pomocnicze typu 1, T helper cells) i obecność cytokin prozapalnych we krwi obwodowej. Interleukina 18 (IL-18) jest plejotropową cytokiną zaangażowaną w polaryzację odpowiedzi T komórkowej. IL-18 jest wydzielana przez wiele komórek takich jak: makrofagi, keratynocyty, komórki dendrytyczne, komórki nabłonka dróg oddechowych i komórki Kupffera [Steele i wsp. 2002]. Jest syntetyzowana w postaci nieaktywnej prekursorowej cząsteczki. IL-18 stymuluje komórki immunologiczne, głównie limfocyty T cytotoksyczne oraz komórki NK do produkcji cytokin. Pierwsze badania nad IL-18 podkreślały jej rolę w indukcji produkcji IFN-gamma i IL-2. Dlatego IL-18 wcześniej została zdefiniowana jako induktor odpowiedzi immunologicznej typu Th1 i induktor cytotoksyczności [Hoshino i wsp. 1999, Steele 2002]. Ekspresja IL-18 wzrasta w przewlekłych stanach zapalnych, w chorobach zakaźnych, w chorobach nowotworowych i w zaburzeniach autoimmunologicznych [Greene i wsp. 2001]. Niektóre badania wykazują

zwiększoną ekspresję IL-18 w aktywnej sarkoidozie, a komórki BALF są zdolne do produkcji IL-18. W aktywnej chorobie komórki nabłonka oskrzelowego wykazują podwyższoną ekspresję IL-18 [Zhou i wsp. 2005, Kelly i wsp. 2005]. Działając synergistycznie z IL-12, IL-18 może indukować produkcję IFN-gamma przez limfocyty Th1 bez konieczności ich kontaktu z antygenem. Ponadto IL-18 indukuje wydzielanie IFN gamma przez makrofagi, limfocyty B, komórki dendrytyczne i komórki NK u chorych na sarkoidozę. U pacjentów z sarkoidozą, w porównaniu do grupy kontrolnej, w BALF i we krwi obwodowej stwierdzono istotnie wyższy odsetek limfocytów T CD4+, wykazujących ekspresję łańcucha alfa receptora dla IL-18 [Shigehara i wsp. 2000 i 2001, Ho i wsp. 2002, Kitasato i wsp. 2004].

W literaturze dostępnych jest tylko kilka opisów badań dotyczących związków pomiędzy poziomem IL-18, a obrazem klinicznym chorych na sarkoidozę. U chorych na aktywną sarkoidozę stwierdzono wyższe stężenie IL-18 w surowicy krwi obwodowej i BALF w porównaniu do osób zdrowych. Pacjenci z dodatnimi wynikami scyntygrafii, wskazującymi na zaburzenia mineralizacji kościa w przebiegu sarkoidozy, mają wyższe stężenia IL-18 aniżeli pacjenci ze scyntyografią negatywną. Poziom IL-18 istotnie koreluje z aktywnością lizozymu w surowicy, ale nie koreluje z wynikami badań czynnościowych płuc [Fukami i wsp. 2001, Hauber i wsp. 2001, Shigehara i wsp. 2001]. Celem naszej pracy była ocena przydatności oznaczenia stężenia IL-18 dla rozpoznania i przewidywania przebiegu sarkoidozy. Do przeprowadzenia badań skłaniał też fakt, że dotychczas nie przeprowadzono badań pozwalających na ocenę progностyczną poziomu IL-18 w surowicy i nadsączu z hodowli komórkowej BALF u chorych na sarkoidozę.

Grupa badanych pacjentów liczyła 88 osób ze świeżo zdiagnozowaną sarkoidozą leczonych w Klinice Pneumonologii, Onkologii i Alergologii okresie od 2004 do 2005 roku. Objawy zespołu Löfgrena były obecne u 33 pacjentów. Pacjenci byli poddani ocenie klinicznej, obrazowej (w tym TK KLP, j. brzusznej lub usg. j. brzusznej) oraz ocenie okulistycznej. Pacjenci mieli wykonaną bronchoskopię z płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym. Rutynowo pacjenci mieli wykonane badania biochemiczne i morfologię krwi. Ponadto pacjenci byli poddani dwuletniej obserwacji polegającej na okresowej ocenie klinicznej czynnościowej i obrazowej. Na podstawie obserwacji, pacjentów podzielono na grupy: 1) ze spontaniczną remisją, 2) z chorobą przewlekłą niewymagającą sterydoterapii systemowej 3) z progresją sarkoidozy z koniecznością sterydoterapii.

Wyniki mojej pracy potwierdziły obecność podwyższonego poziomu IL-18 w surowicy krwi pacjentów w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Najwyższe poziomy IL-18 w surowicy obserwowałem u pacjentów z II i III stopniem radiologicznym. Stężenie IL-18 w nadsączach z hodowli komórek z BALF były najniższe u pacjentów z zespołem Löfgrena. Pacjenci ci charakteryzowali się najwyższymi odsetkami limfocytów CD4+ i wskaźnikiem CD4/CD8 w BALF, a także występowała u nich istotna dodatnia korelacja pomiędzy

stężeniem IL-18 w surowicy a odsetkiem komórek CD4+ w BALF. Pacjenci bez obecności zespołu Löfgrena charakteryzowali się istotną pozytywną korelacją pomiędzy poziomem IL-18 we krwi a odsetkiem aktywowanych limfocytów T HLA-DR+ w BALF. Nie znalazłem związku pomiędzy stężeniami IL-18 we krwi obwodowej i w nadsączu z hodowli komórkowej z BALF a wartościami parametrów czynnościowych (VC, FEV1, TLC) układu oddechowego. Pacjenci z pozapłucną manifestacją choroby charakteryzowali się wyższym stężeniem IL-18 we krwi obwodowej w porównaniu do pacjentów z sarkoidozą płucną. Im więcej zajętych narządów tym wyższe były poziomy IL-18 we krwi. Pacjenci z wyższymi wyjściowymi stężeniami IL-18 we krwi i w nadsączach hodowli komórkowych z BALF mieli tendencję do wystąpienia przewlekłej choroby w przyszłości i częściej byli leczeni sterydami systemowymi. Źródłem IL-18 w surowicy chorych na sarkoidozę mogą być ziarniniaki zlokalizowane w różnych narządach. W związku z tym poziom IL-18 we krwi może odzwierciedlać aktywność choroby. Z drugiej strony, możliwym jest, że jednojądrzaste komórki krwi obwodowej zwiększają produkcję IL-18 w przebiegu sarkoidozy.

Przeważnie rokowanie u pacjentów z sarkoidozą jest dobre, a ponad 60% pacjentów ulega remisji. Ciężkie pozapłucne manifestacje (serce, ośrodkowy układ nerwowy) obserwuje się u kilku procent pacjentów, a odsetek ten zwiększa się wraz z czasem trwania choroby. Systemowa sterydoterapia jest niezbędna w przypadkach zajęcia narządów z bezpośrednim zagrożeniem życia (serce, CUN), w przypadkach z zaburzeniami czynności nerek, ciężkimi zaburzeniami czynności wątroby, śledziony, i ze szpecącymi zmianami skórными. Do 5% chorych na sarkoidozę umiera z powodu choroby. Najczęściej są to przypadki neurosarkoidozy, sarkoidozy serca i niewydolność oddechowa w przebiegu choroby [Costabel i wsp. 2001]. Wczesne wykrycie zajęcia życiowo ważnych narządów może poprawić odległe wyniki leczenia choroby.

Przydatność analizy komórek z BALF w przewidywaniu odległego rokowania w sarkoidozie nie została ostatecznie ustalona. Intensywność limfocytarnego zapalenia pęcherzyków płucnych i wartość wskaźnika CD4/CD8 są najczęściej badanymi komórkowymi parametrami BALF. Niektóre badania sugerowały, że opierając się na ocenie tych parametrów BALF możliwe jest przewidzenie przebiegu sarkoidozy. Wyniki badań wskazują na rokownicze znaczenie odsetka limfocytów i odsetka aktywnych limfocytów T HLA DR+ z BALF [Ziegenhagen i wsp. 2003, Suzuki i wsp. 1996]. W naszym materiale klinicznym odsetki te były istotnie niższe w BALF pacjentów z grupy sarkoidozy przebiegającej progresywnie i/lub wymagającej leczenia sterydami w porównaniu do grupy pacjentów ze spontaniczną remisją choroby. Jednak najbardziej obiecującym markerem progresji sarkoidozy do postaci pozapłucnej wydaje się podwyższone stężenie IL-18 w surowicy krwi i w nadsączach z hodowli komórek z BALF.

Wnioski: Wyniki moich badań potwierdzają hipotezę, że poziom IL-18 w surowicy ma związek z przebiegiem sarkoidozy. Ponadto, wyniki badań wydają się potwierdzać kluczową rolę pozapłucnych ziarniaków sarkoidalnych w generowaniu podwyższonego poziomu IL-18 w surowicy krwi obwodowej. Dotychczas przebadanych zostało wiele cytokin, receptorów dla nich oraz polimorfizmów genów kodujących te cytokiny i receptory pod kątem ich znaczenia prognostycznego w sarkoidozie. Ocena kilku z nich może być użyteczna w praktyce klinicznej. Uważam, że takim markerem jest poziom IL-18 w surowicy krwi. Ocena jej stężenia może być pomocna w analizowaniu aktywności choroby i prognozowaniu jej przebiegu. Taka analiza powinna być brana pod uwagę szczególnie u pacjentów podejrzanych o pozapłucną manifestację sarkoidozy.

Ad B. Tumor necrosis factor receptors (TNFRs) on T lymphocytes and soluble TNFRs in different clinical courses of sarcoidosis. Ekspresja receptorów dla TNF na limfocytach T i stężenie rozpuszczalnych receptorów dla TNF w różnych klinicznych postaciach sarkoidozy.

Czynnik martwicy nowotworu alfa odgrywa kluczową rolę w patogenezie różnych zakażeń i chorób zapalnych. Głównym źródłem TNF-alfa są aktywowane monocyty i makrofagi. Uwalniany jest on również przez limfocyty T. Biologiczne skutki działania TNF-alfa obejmują lokalną aktywację śródbłonka naczyniowego, zwiększenie przepuszczalności naczyń, wzrost ekspresji molekuł adhezyjnych w śródbłonku naczyń i wzrost ekspresji MHC klasy II. Na podstawie zdolności pobudzania makrofagów i komórek zapalnych, TNF-alfa może być zaklasyfikowany jako cytokina prozapalna związana z odpowiedzią immunologiczną typu Th1. Wydzielanie TNF-alfa zwiększa się w płucach pacjentów z sarkoidozą [Liu i wsp. 2005, Agostini i wsp. 2002]. TNF-alfa inicjuje rozwój komórek nabłonka i komórek olbrzymich. Jest on odpowiedzialny za powstawanie ziarniaków w płucach. Przewlekła nadekspresja TNF-alfa i INF-gamma może prowadzić do progresji stanu zapalnego u pacjentów z przewlekłą sarkoidozą [Ziegenhagen i wsp. 1997, Armstrong i wsp. 1999]. Ocena wydzielania TNF-alfa przez makrofagi pęcherzykowe może przyczynić się do wyłonienia grupy chorych ze zwiększonym ryzykiem przedłużenia czasu trwania choroby i jej niekorzystnym przebiegiem.

TNF-alfa wywiera swoje działanie poprzez wiązanie się ze specyficznymi receptorami na powierzchni komórek. Zidentyfikowano dwa rodzaje receptorów TNF: 55-kD receptor TNFRI (CD120a) i 75 kD receptor TNFRII (CD120b). Oba typy wykazują wysokie powinowactwo do TNF-alfa. TNFRI jest głównym receptorem i jest wszechobecny w ludzkich tkankach, natomiast ekspresja TNFRII wydaje się być ograniczona do komórek szpiku. Receptory te są enzymatycznie złączane z powierzchni komórki do rozpuszczalnej formy receptorów TNF: sTNFRI i sTNFRII. sTNFRs mogą hamować bioaktywność TNF-alfa



działając w charakterze jego antagonisty lub mogą stabilizować trimeryczne struktury TNF-alfa, przedłużając jego aktywność biologiczną. Wydzielanie TNF-alfa prowadzi do indukcji produkcji TNFRs w regulacyjnym mechanizmie sprzężenia zwrotnego [Agostini i wsp. 1996, Ziegenhagen i wsp. 2000]. U pacjentów z sarkoidozą stwierdza się wzrost poziomu TNFRs w surowicy i w BALF [Nakayama i wsp. 1997]. badania Dai i wsp. 2005 sugerują, że ocena poziomu sTNFRII w surowicy może służyć jako czynnik prognostyczny przewlekłego przebiegu sarkoidozy. Analiza stężenia sTNFRII w surowicy i BALF może być również pomocna w planowaniu leczenia. Badania nad TNFRs jako markerem aktywacji procesu zapalnego w sarkoidozie dotyczą głównie jego rozpuszczalnej formy w surowicy krwi obwodowej i w nadsączu z hodowli komórkowych komórek z BALF [Ziegenhagen i wsp. 2000, Dai i wsp. 2005, Agostino i wsp. 1996] Natomiast dostępne są jedynie fragmentaryczne analizy dotyczące ekspresji receptorów TNFRs na limfocytach T w różnych grupach chorych na sarkoidozę [Hino i wsp. 1997]. Niepełne dane dotyczące roli TNFRs w sarkoidozie skłoniły mnie do oceny poziomu sTNFRs we krwi obwodowej i nadsączu z hodowli komórek z BAL oraz do oceny ekspresji TNFRs na komórkach immunologicznych z BALF i z krwi obwodowej u pacjentów z odmienną kliniczną prezentacją choroby, u chorych w różnym stopniu radiologicznym zaawansowania sarkoidozy oraz w grupach pacjentów o odmiennym przebiegu choroby ocenianym po dłuższej obserwacji.

Do badanej grupy włączono 49 pacjentów z sarkoidozą. Rozpoznanie zostało postawione na podstawie obecności zgodnego obrazu klinicznego i radiologicznego z potwierdzeniem histopatologicznym. Pacjenci zostali podzieleni na grupy w zależności od obrazu radiologicznego i klinicznego. Na podstawie dwuletniej obserwacji pacjenci zostali włączeni do jednej z trzech grup: 1) grupa ze spontaniczną remisją, 2) grupa z chorobą przewlekłą bez konieczności leczenia sterydoterapią systemową 3) grupa z progresją choroby i koniecznością leczenia sterydami. Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych ochotników, u których oznaczono ekspresję TNFRs na limfocytach krwi obwodowej i BALF oraz poziomy sTNFRI i sTNFRII w surowicy krwi i w nadsączach z hodowli komórek z BALF.

Nasze wyniki pokazują, że ocena poziomu sTNFRs w surowicy i nadsączach może być bardzo przydatna w prognozowaniu przebiegu sarkoidozy. Poziom sTNFRI w surowicy krwi obwodowej był podobny u chorych na sarkoidozę i u osób z grupy kontrolnej. Natomiast stężenie sTNFRII w surowicy było istotnie wyższe u chorych na sarkoidozę. Poziom rozpuszczalnych TNFRs w surowicy i nadsączach komórek z BALF nie różnił się istotnie we wszystkich badanych grupach chorych na sarkoidozę. Zaobserwowaliśmy jednak że pacjenci z przewlekłym początkiem choroby i/lub ze zmianami śródmiąższowymi oraz chorzy z grupy z progresją mają tendencję do wyższych poziomów sTNFRs w surowicy i niższych stężeń sTNFRs w nadsączach w porównaniu do pacjentów z zespołem Löfgrena i limfadenopatią śródpiersia oraz pacjentów ze spontaniczną remisją sarkoidozy. Znaleźliśmy też tendencję

do wyższego poziomu sTNFRs w surowicy u chorych z radiologicznymi stopniami choroby II lub III w porównaniu do chorych w I stopniu radiologicznym sarkoidozy. Zaobserwowaliśmy pozytywną korelację pomiędzy poziomami sTNFR I i sTNFR II w nadsączach z hodowli komórek z BALF. W surowicy poziom sTNFR II istotnie dodatnio korelował z odsetkiem limfocytów, odsetkiem komórek CD4+, odsetkiem aktywowanych limfocytów T HLA DR+ i wskaźnikiem CD4:CD8 w BALF. Ponadto, odnotowaliśmy istotne korelacje pomiędzy poziomami sTNFRs w surowicy i w nadsączach a ekspresją TNFR na limfocytach T. Mechanizmy te mogą przyczyniać się do intensyfikacji odpowiedzi immunologicznej w sarkoidozie i tym samym mogą odgrywać rolę w przedłużaniu czasu trwania choroby. Zahamowanie bioaktywności TNF-alfa poprzez zwiększenie poziomu sTNFRs może być większe u pacjentów w radiologicznym stadium I w porównaniu do pacjentów ze stopniami wyższymi, co może stanowić mechanizm homeostazy chroniący przed nadmierną produkcją TNF-alfa, charakteryzującą przewlekłe zapalenie. Hipotezy dotyczące roli sTNFRs w ograniczaniu procesu patologicznego mogą stać się przydatne w rozwijaniu nowych strategii terapeutycznych. Kortykosteroidy są zazwyczaj skuteczne w blokowaniu uwalniania TNF-alfa z komórek immunologicznych. Inne czynniki, które niespecyficznie hamują wydzielanie TNF-alfa to: metotreksat, azatiopryna i pentoksyfilina. Specyficzne czynniki biologiczne antagonistyczne w stosunku do TNF-alfa jak infiksimab, etanercept, adalimumab są obecnie co raz szerzej badane u pacjentów z sarkoidozą [Baughman i wsp. 2003, 2007].

Niewiele wiadomo na temat ekspresji dwóch TNFRs prezentowanych na powierzchni komórek z krwi obwodowej i z BALF u chorych na sarkoidozę. Dotychczas stwierdzono wyższą ekspresję receptora Fas i TNFR I na makrofagach płucnych u chorych w porównaniu z grupą kontrolną. Fas i TNFR I są uznawane za receptory sygnalizujące w apoptozie. W grupie naszych pacjentów, ponad 80% limfocytów BALF i krwi obwodowej wykazywało ekspresję zarówno CD120a jak i CD120b. Wysoka ekspresja zapewnia większą zdolność wiązania TNF-alfa i w ten sposób może dochodzić do nasilenia reakcji immunologicznych przyczyniających się do zapalenia pęcherzyków płucnych i powstawania ziarniaków. Różnice w ekspresji TNFRs mogą być powodowane wpływem innych cytokin: IFN-gamma, IL-2, IL-1 i samego TNF-alfa. Dlatego też, w celu wyjaśnienia związku TNF-alfa/TNFR konieczne są szerokie i precyzyjne badania całej sieci cytokin. Szczególnie interesująca wydaje się być ocena odsetka limfocytów CD4+/CD120b+ we krwi obwodowej. Wysoki odsetek tych komórek występuje u pacjentów z korzystnym przebiegiem choroby. Wyniki te mogą wskazywać na istotną rolę tych komórek w hamowaniu komórkowej odpowiedzi immunologicznej.

Wnioski: Pacjentów z aktywną sarkoidozą cechuje bardzo wysoki odsetek limfocytów z ekspresją zarówno CD120a jak i CD120b we krwi obwodowej i w BALF. Ocena poziomu sTNFRs w surowicy może być przydatna w prognozowaniu przebiegu sarkoidozy. Wysoki

poziom sTNFRs może być niekorzystny rokowniczo, a wysoki odetek limfocytów CD4+/CD120b+ we krwi obwodowej może służyć jako korzystny marker prognostyczny.

Ad. C. TNF-alpha and TNF-beta genes polymorphisms in Polish patients with sarcoidosis. Connection with the susceptibility and prognosis.

Polimorfizm genów dla TNF-alfa i TNF-beta u polskich pacjentów z sarkoidozą. Związek z podatnością na zachorowanie i rokowaniem.

Reakcja zapalna w sarkoidozie charakteryzuje się zwiększoną produkcją kilku cytokin prozapalnych, głównie należących do rodziny czynnika martwicy nowotworu (TNF). TNF- $\alpha$  (kachektyna) i TNF- $\beta$  ( $\alpha$  limfotoksyna, LT- $\alpha$ ) są głównymi cytokinami tej grupy. Wykazano, że uwalnianie TNF- $\alpha$  wzrasta w płucach pacjentów z sarkoidozą. TNF- $\alpha$  stymuluje rozwój komórek olbrzymich i nabłonkowych oraz odpowiada za powstawanie ziarniniaków w płucach. Sugeruje się, że TNF- $\alpha$  jest cytokiną związaną z przewlekłym procesem zapalnym w płucach, co związane jest z przetrwałą ekspresją mRNA dla TNF- $\alpha$  w makrofagach izolowanych od pacjentów z przewlekłą sarkoidozą [Muller-Quernheim i wsp. 1998, Agostini i wsp 2001]. Geny dla TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$  znajduje się w sąsiedztwie regionu genów głównego układu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex – MHC) klasy III zlokalizowanych na chromosomie 6p21.3. Zidentyfikowano kilka polimorfizmów genu TNF- $\alpha$  (*TNFA*). Wśród nich allel *TNFA*\*2 w pozycji -308 promotora genu *TNF- $\alpha$*  okazał się być związany z wyższym poziomem transkrypcji genu i produkcji TNF- $\alpha$ . W pierwszym intronie genu dla *TNF- $\beta$*  (*TNFB*), obecny jest inny polimorfizm będący przedmiotem badań u chorych na sarkoidozę. W przypadku obecności allela *TNFB*\*1 w sekwencji pierwszego intronu pojawia się miejsce restrykcyjne dla enzymu NcoI. Allel *TNFB*\*2 identyfikuje się w przypadku braku miejsca restrykcyjnego dla NcoI. Allel *TNFB*\*1 jest rzadszy u rasy kaukaskiej i jest związany z wyższą produkcją TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$  u osób zdrowych [Messer i wsp. 1997, Pociot i wsp. 1993]. Jak dotąd nie ma dowodu na to, że polimorfizmy genów *TNFA* i *TNFB* wpływają na poziom produkcji TNF-alfa przez komórki jednojądrzaste aktywowane podczas sarkoidalnego zapalenia. Wyniki badań dotyczących sarkoidozy wykazały wyższą częstotliwość występowania alleli *TNFA*\*2 i *TNFB*\*1 u chorych z obecnością zespołu Löfgrena. Obserwacja ta może być tłumaczona przez obecność nierównowagi sprzężeń (linkage disequilibrium – LD) między tymi allelami a allelami HLADR3 czy HLADRB1, związanymi z predyspozycją do sarkoidozy [Seitzer i wsp 1997, 2001]. Kilka badań wskazuje na obecność związku pomiędzy polimorfizmem genów dla TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$  a rokowaniem w sarkoidozie [Mrazek i wsp. 2005, Yamaguchi i wsp. 2001, Sharma i wsp. 2008]. Rozbieżności w wynikach tych badań mogą wynikać z odmienności etnicznych badanych grup, jak też z przewagi różnych fenotypów sarkoidozy w badanych grupach.

Celem mojej pracy był ocena znaczenia polimorfizmów genów *TNFA* i *TNFB* w polskiej populacji chorych na sarkoidozę. Dokonaliśmy oceny związku pomiędzy tymi polimorfizmami a podatnością na sarkoidozę i przebiegiem klinicznym (fenotypem) oraz rokowaniem co do odległego klinicznego przebiegu choroby. Prospektywnemu badaniu poddano 130 chorych na sarkoidozę i 84 osoby z grupy kontrolnej. Na podstawie kilkuletniej obserwacji pacjentów (do 6 lat) podzieliłem chorych na trzy grupy: 1- pacjenci z samoistną remisją w okresie obserwacji, 2 – pacjenci z chorobą przewlekłą nie wymagającą leczenia sterydami systemowymi, 3 – pacjenci z objawową, radiologiczną i czynnościową progresją choroby, wymagający sterydoterapii systemowej.

Częstość występowania poszczególnych alleli *TNFA* było podobne w grupie pacjentów i u osób z grupy kontrolnej. Allel *TNFA*\*2 występował istotnie częściej w grupie chorych z zespołem Löfgrena w porównaniu do pozostałych chorych jak i do osób z grupy kontrolnej. Natomiast allel *TNFB*\*1 występował istotnie częściej w grupie chorych na sarkoidozę w porównaniu do grupy kontrolnej. Wysoka reprezentacja allela *TNFB*\*1 w grupie chorych wynika głównie z jego nadreprezentacji w grupie pacjentów z zespołem Löfgrena. Pacjenci z powyższym allelem mają trzykrotnie większe ryzyko wystąpienia zespołu Löfgrena niż pozostali chorzy. Oba allele *TNFB* miały podobną dystrybucję w grupach chorych z różnym stopniem radiologicznym sarkoidozy, natomiast allel *TNFA*\*2 występował istotnie częściej u pacjentów z I stopniem radiologicznym choroby w porównaniu do pacjentów z zajęciem miąższu płucnego. Stwierdziliśmy istotne różnice w częstości występowania alleli *TNFA* and *TNFB* w grupach chorych o odmiennym przebiegu choroby i rokowaniu. Allel *TNFA*\*2 i *TNFB*\*1 występowały istotnie częściej u pacjentów z przyszłą samoistną remisją choroby w porównaniu do pacjentów z chorobą przewlekłą i z progresją w przyszłości. (OR=3.53 p<0.001 i OR=2.22 p<0.01). Częstsze występowanie allela *TNFA*\*2 w grupie pacjentów z przyszłą remisją choroby dotyczyło zarówno pacjentów zespołem Löfgrena, jak i bez tej manifestacji fenotypowej. Oceniono też występowanie różnych kombinacji genotypów w grupie chorych i w grupie kontrolnej. Stwierdzono istotną zależność w występowaniu alleli *TNFA*\*2 i *TNFB*\*1. W grupie 29 osób z grupy kontrolnej nosicieli allela *TNFA*\*2, 23 osoby były też nosicielami allela *TNFB*\*1, a w grupie 60 chorych z allelem *TNFA*\*2, 53 pacjentów było nosicielami allela *TNFB*\*1.

Wnioski. W omawianej pracy stwierdziliśmy istnienie związku pomiędzy dwuallelicznymi polimorfizmami w regionie promotora genu dla TNF- $\alpha$  i w pierwszym intronie genu dla TNF- $\beta$ , a predyspozycją do ciężkiej choroby. Nie znaleźliśmy związku pomiędzy genotypem genu dla TNF- $\alpha$  a ryzykiem wystąpienia sarkoidozy. Nadreprezentacja allela *TNFB*\*1 w badanej grupie z sarkoidozą w porównaniu do grupy kontrolnej jest związana z częstszym występowaniem tego allela u pacjentów z zespołem Löfgrena. W naszym badaniu allele *TNFA*\*2, a także *TNFB*\*1 występowały częściej u pacjentów z zespołem Löfgrena niż u

innych pacjentów z sarkoidozą i u osób z grupy kontrolnej. Allel *TNFA*\*2 jest związany z łagodnym przebiegiem sarkoidozy zarówno u pacjentów z i bez zespołu Löfgrena. Uzyskane wyniki dotyczące braku związku dwuallelicznych polimorfizmów w rejonie promotora genu dla TNF- $\alpha$  z występowaniem sarkoidozy są zgodne z wcześniejszymi europejskimi doniesieniami. Natomiast wydaje się, że zaobserwowana przez nas większa częstość występowania allela *TNFA*\*2 w grupie chorych z zespołem Löfgrena u chorych rasy kaukaskiej jest oryginalną obserwacją. Co więcej, nasze badanie dotyczące związku wymienionych polimorfizmów z rokowaniem co do przebiegu choroby jest pierwszą pracą dotyczącą tego tematu u chorych rasy kaukaskiej. Nieliczne prace wiążące polimorfizm genów dla TNF z przebiegiem sarkoidozy dotyczyły populacji japońskiej i z zachodnich Indii. Badania te obejmowały też inne polimorfizmy genów dla TNF, a niektóre formy polimorficzne były związane z niekorzystnym przebiegiem sarkoidozy w tych grupach etnicznych. W związku z tym sugeruję, że pochodzenie etniczne musi być brane pod uwagę przy prognozowaniu przebiegu sarkoidozy na podstawie oceny polimorfizmów genów dla TNF.

Ad D. The impact of *ACE* gene polymorphism on the incidence and phenotype of sarcoidosis in rural and urban settings. Wpływ polimorfizmu genu dla enzymu konwertującego angiotensynę na obraz kliniczny sarkoidozy u chorych zamieszkałych w środowiskach wiejskim i miejskim.

Sarkoidoza najprawdopodobniej jest wywołana podatnością uwarunkowaną genetycznie na działanie różnych czynników środowiskowych jak bakterie, wirusy, cząstki organiczne, pyły, gazy i zanieczyszczenia powietrza. Znajdowano związki pomiędzy występowaniem sarkoidozy, a zatrudnieniem w rolnictwie i narażeniem na środki ochrony roślin, pleśnie i w związku z pracą na fermach drobiu. Częstość występowania sarkoidozy i jej fenotyp w różnych grupach etnicznych są ściśle związane z występowaniem różnych antygenów zgodności tkankowej (HLA) klasy I i II. Na rozwój sarkoidalnych ziarniaków wpływają też polimorfizmy innych genów odpowiedzialnych za syntezę cytokin i chemokin. Należą do nich *TAP1*, *TAP2*, *TNFA*, *TGFB*, *IL-1*, *CCR2*, *EGF*, *CD14*, *TLR4*, *TLR9*, *ACE* i wiele innych [Rybicki i wsp. 2007, Sharma i wsp. 2008, Newman i wsp. 2004]. Polimorfizm genu enzymu konwertującego angiotensynę (*ACE*) od wielu lat przyciąga uwagę jako istotny czynnik biorący udział w patogenezie sarkoidozy. Inhibitor konwertazy I to enzym odpowiedzialny za konwersję angiotensyny I do II. Dezaktywuje on szlak bradykininy w systemie kalikreina-kininogen.

Angiotensyna II jest czynnikiem zwężającym naczynia i aktywującym układ renina – angiotensyna. Angiotensyna II wykazuje efekty prozapalne, stymuluje odpowiedź immunologiczną, aktywuje komórki prozapalne, monocyty, makrofagi i komórki nabłonkowe.

Ma miejsce korelacja pomiędzy liczbą ziarniaków sarkoidalnych a poziomem ACE w surowicy krwi. Poziom ACE w surowicy jest także wskaźnikiem aktywności choroby. Gen *ACE* znajduje się na długim ramieniu chromosomu 17 (17q23). Najważniejszy polimorfizm tego genu obejmuje insercję 287 par zasad w intronie 16. W związku z tym, istnieją trzy genotypy genu *ACE*: I/I, I/D, D/D. Genotyp D/D związany jest z wyższym stężeniem ACE w surowicy i w tkankach i jest ściśle związany z ryzykiem spontanicznego nadciśnienia tętniczego, zawału mięśnia sercowego i niewydolności serca [Wu i wsp 2014, Foley i wsp. 1999, Bryant i wsp 2009, Danser i wsp 1995]. Wcześniejsze badania dotyczące roli polimorfizmu genu *ACE* w patogenezie sarkoidozy są kontrowersyjne, ale wydaje się, że może on mieć wpływ na przebieg kliniczny choroby [Camós i wsp. 2012, Sekhri 2011]. Celem mojej pracy była ocena częstości występowania różnych postaci polimorficznych genu *ACE* u osób zdrowych i pacjentów z sarkoidozą oraz ocena ryzyka wystąpienia sarkoidozy w zależności od występowania różnych postaci polimorficznych genu *ACE* u pacjentów zamieszkałych w środowisku wiejskim i miejskim Województwa Lubelskiego. Podjąłem też próbę oceny wpływu polimorfizmu genu *ACE* na manifestację kliniczną sarkoidozy, ze szczególnym uwzględnieniem występowania ostrej postaci choroby oraz stopnia aktywacji układu odpornościowego w kontekście różnic demograficznych.

Do badania włączono 180 pacjentów z sarkoidozą układu oddechowego, zamieszkałych w województwie lubelskim, diagnozowanych i obserwowanych w Klinice Pneumonologii, Onkologii i Alergologii UM w Lublinie w latach 2002-2010. Kliniczną manifestację sarkoidozy oceniono na podstawie obrazu radiologicznego, obrazu klinicznego choroby podczas diagnozowania sarkoidozy i na podstawie obecności sarkoidozy pozapłucnej. Do grupy kontrolnej włączono 242 zdrowych ochotników, dopasowanych do grupy sarkoidalnej pod względem wieku, płci i miejsca zamieszkania

Wyniki pracy wskazują, że w grupie pacjentów z obszaru Województwa Lubelskiego sarkoidoza występuje z podobną częstością u kobiet i mężczyzn. Ani wiek pacjenta, ani miejsce zamieszkania (miasto/wieś) nie miały wpływu na częstość występowania sarkoidozy. Stopnie radiologiczne sarkoidozy z jednakowym prawdopodobieństwem występowały u mężczyzn i kobiet oraz u mieszkańców miast i wsi. Natomiast zespół Löfgrena częściej występował u kobiet, ale z jednakową częstością w różnych grupach wiekowych oraz u mieszkańców wsi i miast. Odsetki limfocytów i makrofagów w BALF, odsetki różnych subpopulacji limfocytów i wskaźnik CD4/CD8 w BALF były podobne u kobiet i mężczyzn, u osób powyżej 47 roku życia i młodszych oraz u pacjentów w różnych miejscach zamieszkania. Najwyższy wskaźnik CD4/CD8 występował u pacjentów w I stopniu radiologicznym sarkoidozy. Pacjenci z zespołem Löfgrena mieli najwyższe odsetki limfocytów T i komórek CD4+ w BALF. Częstość występowania różnych form polimorficznych genu *ACE* były w zgodności z założeniami prawa Hardy-Weinberga zarówno

u pacjentów jak i u osób z grupy kontrolnej. W obu grupach największą reprezentację stanowiły osoby heterozygotyczne z allelami z insercją i delecją. Osoby homozygotyczne posiadające dwa allele z delecją albo insercją stanowiły kolejno 20% i 30% badanej populacji. Poszczególne allele genu *ACE* występowały z podobną częstością w grupie pacjentów i u osób z grupy kontrolnej. Również ryzyko wystąpienia choroby nie było związane z polimorfizmem genu *ACE*. Nie stwierdziliśmy różnic w częstości wystąpienia różnych alleli genu *ACE* u chorych na sarkoidozę podzielonych w zależności od wieku, płci, miejsca zamieszkania i występowania sarkoidozy pozapłucnej. Podobnie, nie stwierdziliśmy związku pomiędzy polimorfizmem genu *ACE* a kliniczną manifestacją sarkoidozy. Pacjenci z różnym genotypem charakteryzowali się podobnymi odsetkami limfocytów i ich subpopulacji w BALF. Stwierdziliśmy jedynie wyższe odsetki limfocytów T CD8+ w BALF u pacjentów z genotypem D/D genu *ACE* w porównaniu do heterozygot I/D.

Wnioski: Wyniki tej pracy skłoniły mnie do wyciągnięcia wniosku, że polimorfizm genetyczny *ACE* nie jest czynnikiem ryzyka zachorowania na sarkoidozę u chorych o różnych miejscach zamieszkania. Nie stwierdziliśmy też związku pomiędzy występowaniem określonych polimorfizmów a manifestacją kliniczną choroby. W związku z tym postawiłem hipotezę, iż u pacjentów Województwa Lubelskiego nie ma związku pomiędzy polimorfizmami *ACE* a ryzykiem wystąpienia choroby i jej przebiegiem klinicznym nie zależnie od miejsca zamieszkania.

Jak dotąd nie było oceny wpływu polimorfizmu genu *ACE* na ryzyko wystąpienia i przebieg kliniczny sarkoidozy u chorych żyjących w środowisku wiejskim i miejskim. Szeroko przebadano natomiast związek pomiędzy polimorfizmami *ACE* a występowaniem sarkoidozy oraz związek pomiędzy wystąpieniem sarkoidozy a zamieszkaniem na wsi. Wyniki naszej pracy są niezgodne z wcześniejszymi ustaleniami o wyższym ryzyku zachorowania na sarkoidozę w środowisku wiejskim. Może mieć to związek z zanikaniem w ostatnich latach różnic pomiędzy charakterem życia na wsi i w mieście. Nastąpiła ogromna zmiana w charakterze i technologii produkcji rolnej. Zmieniła się aktywność ekonomiczna mieszkańców wsi – tylko ok. 40% z nich pracuje w przy produkcji rolnej i hodowli. Mieszkańcy miast w związku z działalnością hobbystyczną co raz częściej narażeni są na czynniki biologiczne. Zanika polaryzacja narażenia na czynniki chemiczne i biologiczne w zależności od miejsca zamieszkania, co prawdopodobnie jest przyczyną podobnych obrazów klinicznych i immunologicznych naszych chorych na sarkoidozę z różnych środowisk zamieszkania.

Wnioski końcowe:

- W grupie pacjentów z obszaru Województwa Lubelskiego sarkoidoza występuje z podobną częstością u kobiet i mężczyzn. Zespół Löfgrena występuje częściej u kobiet.
- Analiza zespołu czynników klinicznych pozwala z dużym prawdopodobieństwem oszacować ryzyko wystąpienia progresji sarkoidozy. Dużą wartość prognostyczną posiada również analiza zespołu czynników świadczących o zaburzeniach immunologicznych w BALF U pacjentów z Województwa Lubelskiego najwyższy wskaźnik CD4/CD8 występuje u chorych w I stopniu radiologicznym sarkoidozy. Pacjenci z zespołem Löfgrena mają najwyższe odsetki limfocytów T i limfocytów T CD4+ w BALF. Ocena stężenia sTNFR1, sTNFR2 w surowicy krwi i w nadsączach z hodowli komórek z BALF ma mniejsze znaczenie prognostyczne.
- Analiza immunologiczna fenotypu limfocytów z krwi obwodowej ma małe znaczenie prognostyczne z wyjątkiem oceny ekspresji TNFR na powierzchni limfocytów T (limfocyty o immunofenotypie CD4+/CD120b+).
- Ocena poziomu IL-18 w surowicy krwi może być pomocna w analizowaniu aktywności choroby i prognozowaniu jej przebiegu. Taka analiza powinna być brana pod uwagę szczególnie u pacjentów podejrzanych o pozapłucną manifestację sarkoidozy.
- Występowanie allela *TNFA*\*2 jest częstsze u chorych z zespołem Löfgrena i w I stopniu radiologicznym sarkoidozy. Ponadto allel *TNFA*\*2 jest związany z łagodnym przebiegiem sarkoidozy zarówno u pacjentów z jak i bez zespołu Löfgrena. Jego obecność może chronić chorych przed przewlekaniem się procesu chorobowego. Natomiast występowanie allela *TNFB*\*1 zwiększa ryzyko zachorowania na sarkoidozę.
- U chorych na sarkoidozę zamieszkałych na terenie Województwa Lubelskiego nie ma związku pomiędzy polimorfizmami *ACE* a ryzykiem wystąpienia choroby i jej przebiegu klinicznego niezależnie od miejsca zamieszkania i związanych z tym narażeń środowiskowych.

### **Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych**

Mój sumaryczny IF wynosi 17,765, natomiast punktacja MNiSW – 246. Poza powyższym monotematycznym cyklem 4 prac będących podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy obejmuje 28 prac oryginalnych w tym 13 oryginalnych pełnotekstowych prac naukowych (IF-4,899, MNiSW-78). Jestem autorem 9 opisów przypadków (IF-2,786, MNiSW-74) i dwóch prac poglądowych. Ponadto jestem autorem i współautorem 14 pełnotekstowych publikacji w suplementach czasopism (IF-



2,357, MNI SW-88). Całkowita liczba prac wynosi 47. Jestem też autorem 54 prezentacji zjazdowych, w tym 31 ze zjazdów międzynarodowych. Jestem autorem 7 rozdziałów w podręcznikach krajowych. Liczba cytowań z dnia 13.05.2017 wg WoS (bez autocytowań) wynosi 54. Index Hirscha wynosi 4.

W 1987 roku ukończyłem studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Lublinie i rozpocząłem pracę w Klinice Chorób Płuc i Gruźlicy pod bezpośrednim kierunkiem pani profesor Biruty Fąfrowicz i pana profesora Leszka Kusia, a od 1998 pod kierownictwem pana profesora Janusza Milanowskiego. Moje pierwsze zainteresowania naukowe dotyczyły nowych wówczas metod diagnostyki bronchoskopowej, głównie płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i zastosowania analizy populacji limfocytów z płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego w ocenie zaawansowania chorób śródmiąższowych i w diagnostyce różnicowej tych chorób, głównie w różnicowaniu sarkoidozy, gruźlicy i alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych. Pierwsze doświadczenia związane z metodologią wykonania BAL i dalszej oceny popłuczyn z BAL (BALF) zdobywałem w Pracowni Bronchoskopii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie pod kierownictwem pana profesora Michała Pirożyńskiego. Efektem klinicznym tych zainteresowań naukowych było wprowadzenie płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i oceny subpopulacji limfocytów z BALF jako pomocniczej metody diagnostycznej sarkoidozy w Klinice Chorób Płuc i Gruźlicy w Lublinie. Badałem też mechanizmy aktywacji odpowiedzi komórkowej miejscowej (BAL) i uogólnionej (krew) w sarkoidozie, określiłem ich zależność od obrazu klinicznego choroby. Wykazałem możliwość zastosowania BAL do diagnostyki różnicowej sarkoidozy, gruźlicy płuc i alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych. Wyniki moich prac związanych z rolą BAL w diagnostyce i ocenie sarkoidozy układu oddechowego zawarłem w pracy doktorskiej „Płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL) u chorych na sarkoidozę układu oddechowego” jak i w publikacjach oraz prezentacjach zjazdowych:

1. Krawczyk P., Kieszko R., Michnar M., Roliński J., Dragan M., Buczkowski J., Milanowski J.: Expression of bcl-2 protein and Fas antigen in lymphocytes from bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and peripheral blood in different clinical presentations of sarcoidosis. *Annales UMCS*. 2000, LV (VI): 97- 107.
2. Buczkowski J., Krawczyk P., Tabarkiewicz J., Kieszko R., Michnar M., Roliński J., Milanowski J.: Markers of activation can help distinguish Extrinsic Allergic Alveolitis for stage III sarcoidosis. *Annales UMCS*. 2002. LVII (Suppl. IX): 121-128.
3. Kieszko R., Milanowski J. Sarkoidoza układu oddechowego - kliniczne aspekty oceny składu komórkowego płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL). W: *Postępy Pulmonologii i Alergologii*. Pod red. Janusza Milanowskiego i Janusza

Błędowskiego. Lublin 1996 Wojewódzka Przychodnia Przeciwgruźlicza i Chorób Płuc, s. 91-108.

4. Koktysz M., Kieszko R., Dmoszyńska A., Milanowski J., Roliński J., Michnar M.: Fenotyp limfocytów krwi obwodowej i płynu oskrzelowo- pęcherzykowego (BAL) u chorych na sarkoidozę. *Annales UMCS* 1998, LIII, 23: 237-244.
5. Koktysz M., Kieszko R., Dmoszyńska A., Milanowski J., Roliński J.: Expression of IL-2 receptor in peripheral blood lymphocytes and bronchoalveolar lavage fluid (BAL) in patients with sarcoidosis. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1998, 99(1): 9-14
6. Kieszko R., Michnar M., Milanowski J., Koktysz M., Dmoszyńska A., Krawczyk P.: Expression of IL-2 receptor (alfa and beta chain) on peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid (BAL) lymphocytes in patients with sarcoidosis. 6th International Conference on Bronchoalveolar Lavage, Corfu, Grecja, 24-27.06.1998, abstract book: 117.
7. Krawczyk P., Kieszko R., Michnar M., Roliński J., Milanowski J.: Expression of BCL-2 protein and FAS antigen in lymphocytes from bronchoalveolar lavage (BAL) and peripheral blood in different clinical presentations of sarcoidosis. 10th International Congress of Immunology. India. *The Immunologist*, 1998, suppl 1: 537.

Moje dalsze zainteresowania naukowe nadal dotyczyły immunologii i genetyki sarkoidozy. W 2003 roku zostałem kierownikiem projektu zwykłego KBN nr 3PO 5B 051 24, pt. „Ocena nowych genetycznych i immunologicznych czynników prognostycznych w przebiegu sarkoidozy układu oddechowego” Celem pracy była ocena wpływu nieprawidłowości immunologicznych na obraz kliniczny i rokowanie w sarkoidozie układu oddechowego oraz analiza niektórych predyspozycji genetycznych warunkujących rozwój i przebieg zaburzeń immunologicznych charakterystycznych dla sarkoidozy. Uzasadnieniem dla wdrożenia planowanych badań jest stosunkowo duża liczba pacjentów o niekorzystnym przebiegu sarkoidozy w Polsce. Projekt ukończyłem w 2007 roku. Pacjenci z ostrą sarkoidozą (zespół Löfgrena) charakteryzowali się silną odpowiedzią immunologiczną typu Th1 w drogach oddechowych w stosunku do pozostałych chorych. Nie przekładało się to jednak na późniejsze rokowanie przebiegu choroby. Analiza zespołu czynników klinicznych pozwala z dużym prawdopodobieństwem oszacować ryzyko wystąpienia progresji sarkoidozy. Dużą wartość prognostyczną posiada również analiza zespołu czynników świadczących o zaburzeniach immunologicznych w BALF. Natomiast ocena stężenia wybranych cytokin (MCP-1, IL-12, IL-10) w surowicy krwi i w nadsączach z hodowli komórek z BALF ma mniejsze znaczenie prognostyczne. Wieloczynnikowa analiza ryzyka wystąpienia progresji sarkoidozy ma o wiele większą wartość niż prognozowanie przebiegu choroby w oparciu o pojedyncze dane kliniczne i wyniki badań laboratoryjnych. Otrzymane wyniki

pozwalają wnioskować o istotnej roli badania fizykalnego, badań czynnościowych i obrazowych w ocenie ryzyka postępu choroby. Nie znalazłem związku pomiędzy występowaniem form polimorficznych genów dla CCR2 i CCR5 a zwiększoną podatnością na zachorowanie na sarkoidozę, a także pojawianiem się objawów klinicznych i przebiegiem choroby. Przeprowadzenie badań umożliwiło znalezienie grupy czynników, których łączna analiza zbliżyła nas do zrozumienia istoty zaburzeń leżących u podłoża sarkoidozy. Poza sprawozdaniem do KBN, wyniki tej pracy posłużyły też jako źródło następujących publikacji (wyłączono prace będące podstawą do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego) i doniesień zjazdowych.

Publikacje pełne:

1. Buczkowski J., Krawczyk P., Chocholska S., Tabarkiewicz J., Kieszko R., Michnar M., Milanowski J., Roliński J. Blond myeloid and lymphoid dendritic cells reflect Th1/Th2 balance In sarcoidosis and Extrinsic Allergic Alveolitis. Annales UMCS, 2003, section D, vol LVIII, N1: 137-141.
2. Kieszko R., Roliński J., Chocholska S., Buczkowski J., Milanowski J.: Genetic factors in sarcoidosis. Annales UMCS. 2004. LIX (suppl. 1.): 55-60.
3. Krawczyk P., Gryglicka B., Kieszko R., Korobowicz E., Sojczuk S., Milanowski J.: Malignant neoplasms and pulmonary sarcoidosis – a case report. New Medicine. 2005. 7: 94-96.
4. Kieszko R., Krawczyk P., Bojarska-Junak A., Król A., Chocholska., Roliński J., Milanowski J.: Serum and BALF cell culture supernatant IL-12 level and IL-12 receptor expression in pulmonary sarcoidosis. Polish Journal of Environmental Studies. 2005. 14 (Suppl. II, Part I): 192-195.
5. Kieszko R., Król A., Chocholska S., Michnar M., Krawczyk P., Buczkowski J., Roliński J., Milanowski J.: C-C Chemokine Receptor 2 gene polymorphism V64I (*CCR2-64I*) in Polish patients with pulmonary sarcoidosis. Polish Journal of Environmental Studies. 2005. 14 ( Suppl. II, Part I): 196-198.
6. Buczkowski J., Tabarkiewicz J., Krawczyk P., Kieszko R., Michnar M., Milanowski J., Roliński J.: CD80 and CD86 on immature myeloid and plasmacytoid blood dendritic cells in pulmonary sarcoidosis. Polish Journal of Environmental Studies. 2005. 14 (Suppl. II, Part II): 464-467.
7. Buczkowski J., Kieszko R., Krawczyk P., Tabarkiewicz J., Michnar M., Bojarska-Junak A., Chocholska S., Milanowski J., Roliński J.: Serum IL-12 level and the percentages of immature myeloid and plasmacytoid blood dendritic cells in pulmonary sarcoidosis have a prognostic value. Polish Journal of Environmental Studies. 2005. 14 (Suppl. II, Part II): 468-471.

8. Buczkowski J., Krawczyk P., Kieszko R., Tabarkiewicz J., Michnar M., Bojarska-Junak A., Król A., Milanowski J., Roliński J.: BALF level of the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) correlates with the percentage of immature myeloid and plasmacytoid blood dendritic cells in pulmonary sarcoidosis. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2005. 14 (Suppl. II, Part II): 472-475.

Doniesienia zjazdowe:

1. Krawczyk P., Kieszko R., Chocholska S., Michnar M., Paprzycki P., Dmoszyńska A., Milanowski J.: IL-12 level and different clinical outcome of pulmonary sarcoidosis. 18<sup>th</sup> Congress of the Romanian Society of Pneumology. Sibiu, Rumunia. 22-24 April 2004. *Pneumonologia* 2004; 53(2): 59.
2. Kieszko R., Krawczyk P., Chocholska S., Dmoszyńska A., Milanowski J.: Expression of monocyte chemotactic protein – 1 (MCP-1) receptor on lymphocytes in sarcoidosis patients. 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of FOCIS. Montreal, Kanada. 18-23 July 2004. *Clinical and Investigative Medicine* 2004; 27(4): 12B.
3. Krawczyk P., Kieszko R., Chocholska S., Dmoszyńska A., Milanowski J.: Expression of tumour necrosis factor-receptor I and II on BAL and peripheral blood lymphocytes in sarcoidosis patients. 14<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Glesgow, UK. 4-8 September 2004. *European Respiratory Journal*. 2004. 24(48): 321s.
4. Chocholska S., Krawczyk P., Kieszko R., Erasmus J., Milanowski J.: Molecular analysis of bronchoalveolar lavage fluid for mycobacterium tuberculosis complex DNA and RNA in sarcoidosis patients. 14<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Glesgow, UK. 4-8 September 2004. *European Respiratory Journal*. 2004. 24(48): 712s.
5. Krawczyk P., Sokołowska B., Gryglicka B., Węgrzyn-Szkutnik I., Michnar M., Kieszko R., Jawniak D., Dmoszyńska A., Milanowski J.: Współistnienie postaci płucnej sarkoidozy i nowotworów złośliwych. XXVIII Zjazd PTF, Łódź 22-25.09.2004. *Pneumonologia i Alergologia Polska* 2004; 72 (7-8): 344-345.
6. Paprzycki P., Krawczyk P., Kieszko R., Milanowski J., Schabowski J.: Ocena całkowitej pojemności dyfuzyjnej tlenu węgla u chorych na sarkoidozę układu oddechowego. XXVIII Zjazd PTF, Łódź 22-25.09.2004. Materiały zjazdowe: PS CD129.
7. Kieszko R., Krawczyk P., Bojarska-Junak A., Król A., Chocholska Chocholska., Roliński J., Milanowski Soliński.: Serum and BALF cell culture supernatant IL-12 level and IL-12 receptor expression in pulmonary sarcoidosis. 12<sup>th</sup> Congress of Polish Society of Clinical Immunology. Lublin. 19-22 May 2005. *Central European Journal of Immunology*. 2005. 30 (Suppl. 1): 46.

8. Kieszko R., Krawczyk P., Chocholska S., Król A., Michnar M., Milanowski J.: Sarcoidosis in younger and elderly patients – similarities and differences. 15<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Kopenhaga, Dania. 17-21 September 2005. European Respiratory Journal. 2005. : 79s.
9. Król A., Kieszko R., Chocholska S., Krawczyk P., Michnar M., Milanowski J.: C-C chemokines receptor 2 gene polymorphism V64I and CCR2 expression on T lymphocytes in pulmonary sarcoidosis patients. 15<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Kopenhaga, Dania. 17-21 September 2005. European Respiratory Journal. 2005. : 268s.
10. Krawczyk P., Paprzycki P., Kieszko R., Bełz M., Król A., Czajka A., Milanowski J. Wskaźniki obturacji w badaniu pirometrycznym pacjentów z sarkoidozą układu oddechowego a wybrane parametry immunologiczne. VIII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Obturacja dróg oddechowych – astma, alergologia i POChP”, 8-11.09.2005. Jachranka. Medycyna po Dyplomie (wydanie specjalne, wrzesień 2005): 54.
11. Chocholska S., Kieszko R., Król A., Michnar M., Krawczyk P., Milanowski J.: TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphism in pulmonary sarcoidosis patients. 16<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Monachium, Niemcy. 2-6 września 2006.
12. Kieszko R., Krawczyk P., Jankowska O., Chocholska S., Król A., Milanowski J.: Increased levels of interleukin-18 in patients with different course and clinical manifestation of sarcoidosis. 16<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Monachium, Niemcy. 2-6 września 2006.
13. Król A., Kieszko R., Chocholska S., Michnar M., Krawczyk P., Milanowski J.: C-C chemokine receptor 2 gene polymorphism V64I and C-C chemokine receptor 5 gene polymorphism  $\Delta$ 32 in pulmonary sarcoidosis patients. 16<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Monachium, Niemcy. 2-6 września 2006. 16<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Monachium, Niemcy. 2-6 września 2006.
14. Krawczyk P., Kieszko R., Chocholska S., Jankowska O, Król A., Milanowski J.: Evaluation of monocyte chemoattractant protein-1 level and MCP-1 receptor expression in estimation of sarcoidosis activity. 16<sup>th</sup> ERS Annual Congress. Monachium, Niemcy. 2-6 września 2006.
15. Kieszko R., Krawczyk P., Michnar M., Chocholska S., Milanowski J.: Wieloparametryczna analiza czynników ryzyka wystąpienia progresji w sarkoidozie układu oddechowego. XXIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Ftyzjopneumonologicznego. Opole 14-17 września 2006.
16. Kieszko R., Krawczyk P., Chocholska S., Bojarska-Junak A., Król A., Roliński J., Milanowski J.: Receptory dla czynnika martwicy nowotworów (TNFRs) na limfocytach T i poziom rozpuszczalnych receptorów u pacjentów z odmiennym przebiegiem i

obrazem klinicznym sarkoidozy. Międzynarodowe Nałęczowskie Sympozjum Naukowe „Środowiskowe Źródła Zagrożeń Zdrowotnych”. Nałęczów, 25-27 maja 2006.

Moje naukowe zainteresowania sarkoidozą wykraczają poza jej aspekty immunologiczne i genetyczne i dotyczą także praktycznych problemów diagnostycznych w połączeniu z zaburzeniami w badaniach czynnościowych, związku z zakażeniem prątkiem gruźlicy, nietypowych obrazów sarkoidozy w badaniach radiologicznych. Poniżej zamieściłem dane publikacji na powyższe tematy z krótkim opisem ich zawartości:

1. Czekańska-Chehab E., Kieszko R., Drop A., Milanowski J., Krawczyk P: Nodular lesion in spleen diagnosed US and CT in the course of sarcoidosis. *Annales UMCS*, 2003, section D, vol LVIII, N1: 118-123. W pracy zaprezentowano przypadki zajęcia śledziony w przebiegu sarkoidozy węzłowo-płucnej. Zmiany guzkowe o średnicy 5-15 mm zajmowały cały miąższ powiększonej śledziony. Zmianom nie towarzyszyło zajęcie brzusznych węzłów chłonnych ani zajęcie wątroby, co zazwyczaj ma miejsce przy sarkoidozie śledziony. Podczas leczenia sterydami systemowymi wielkość i liczba zmian ulegała zmniejszeniu. Ten nietypowy obraz sarkoidozy porównano z istniejącym piśmiennictwem.
2. Kieszko R., Krawczyk P., Michnar M., Chocholska S., Milanowski J.: The yield of endobronchial biopsy In pulmonary sarcoidosis: connection between spirometric impairment and lymphocyte subpopulations in bronchoalveolar fluid. *Respiration*. 2004, 71: 72-76. Wewnątrzoskrzelowa biopsja śluzówki oskrzeli (endobronchial biopsy – EBB) jest jedną z metod uzyskania potwierdzenia histopatologicznego sarkoidozy. Dokonałem oceny 60 pacjentów diagnozowanych w kierunku sarkoidozy przy użyciu EBB. Analizowałem również subpopulacje limfocytów z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i wyniki badań czynnościowych w kontekście rozpoznania drogą EBB. U 40% pacjentów poddanych EBB uzyskano tą drogą potwierdzenie histopatologiczne. Wszyscy pacjenci z zaburzeniami restrykcyjnymi i połowa z obturacją mieli dodatnie wyniki biopsji przezoskrzelowej (transbronchial biopsy – TBB w postaci obecności ziarniniaków sarkoidalnych w materiale z TBB. Ponadto pacjenci, u których uzyskano potwierdzenie histopatologiczne sarkoidozy drogą TBB charakteryzowali się istotnie wyższym odsetkiem limfocytów CD8+ i CD19+ oraz istotnie niższym odsetkiem limfocytów CD3+ i CD4+ w płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego w porównaniu do pacjentów bez uzyskania potwierdzenia histopatologicznego. Na podstawie uzyskanych wyników postawiłem hipotezę, że dodatnie wyniki EBB i TBB związane są z nasileniem zaburzeń czynnościowych i immunologicznych oraz wskazują na zaawansowaną postać sarkoidozy.

3. Krawczyk P., Sokołowska B., Jawniak D., Węgrzyn-Szkutnik I., Kieszko R., Michnar M., Mańdziuk S., Korobowicz E., Dmoszyńska A., Milanowski J.: The chemotherapy of malignant neoplasms and the pulmonary sarcoidosis. Case reports and literature review. *Acta Haematologica*. 2006; 37: 209-215. W tej pracy omówiono problem współistnienia sarkoidozy z procesem nowotworowym. Już w 1974 roku Brincker stwierdził kilkakrotnie częstsze występowanie chłoniaków i raka płuca u pacjentów z sarkoidozą w porównaniu do chorych bez sarkoidozy. Wyjaśnienie problemu komplikuje częsta obecność odczynu sarkoidalnego w węzłach chłonnych, wątrobie i śledzionie pacjentek chorujących na raka piersi i u pacjentów z rakiem jądra. W pracy przedstawiono przypadek pacjentki z sarkoidozą węzłowo płucną z wysokim wskaźnikiem CD4/CD8 w BALF i ziarninami sarkoidalnymi w śluzówce oskrzeli z towarzyszącą limfadenopatią jamy brzusznej o etiologii nowotworowej z punktem wyjścia z narządu rodowego.
4. Chocholska S., Kieszko R., Roliński J., Milanowski J.: Is *Mycobacterium tuberculosis* an infectious cause of sarcoidosis? *Polish Journal of Environmental Studies*. 2006; 15(5 A): 10-13. Sarkoidoza i gruźlica charakteryzują się wieloma podobieństwami w odpowiedzi immunologicznej i budowie histopatologicznej ziarniny. Od początków naukowego zainteresowania sarkoidozą, infekcja prątkami gruźlicy jest brana pod uwagę jako potencjalna jej przyczyna. Z drugiej strony wytyczne wskazują na konieczność wykluczenia infekcji gruźliczej w przypadku rozpoznania sarkoidozy. Niektóre nowe dane wskazują jednak na prątki gruźlicy jako potencjalny czynnik wyzwalający reakcje immunologiczne prowadzące do sarkoidozy, głównie w obszarach o wysokiej zachorowalności na gruźlicę. W pracy dokonano analizy związków sarkoidozy z gruźlicą i opisano praktyczne wnioski wynikające z tej analizy.
5. Dybiec E., Pietrzak A., Bartoska J., Kieszko R., Kanitakis J. Ultrasound findings in cutaneous sarcoidosis. *Post. Dermatol. Alergol.* 2015; 32(1): 51-55. Praca jest wynikiem współpracy z zespołem Kliniki Dermatologii UM w Lublinie. Opisano przypadek 38 letniej kobiety z sarkoidozą wielonarządową, w tym z sarkoidozą skóry, której skuteczność leczenia sterydami systemowymi i hydrochlorochiną oceniano ultrasonograficznie przy użyciu sond liniowych częstotliwości 15 i 17 MHz. Nasze obserwacje wskazują na przydatność badania ultrasonograficznego w monitorowaniu leczenia sarkoidozy skóry ułatwiającego obiektywną ocenę odpowiedzi na leczenie i umożliwiającego adekwatną modyfikację stosowanej dawki leku.

Oprócz problematyki sarkoidozy moje zainteresowania naukowe dotyczą infekcji układu oddechowego. Brałem udział w badaniach dotyczących etiologii zewnątrzszpitalnego zapalenia płuc we współpracy z Zakładem Mikrobiologii Lekarskiej Uniwersytetu

Medycznego w Lublinie. Na uwagę zasługuje opisanie *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* jako nowego czynnika etiologicznego mającego udział w zapaleniach płuc o etiologii pojedynczej i mieszanej. Ponadto znaleźliśmy i opisaliśmy dużą grupę pacjentów o mieszanej etiologii typowej i atypowej pozaszpitalnych zapaleń płuc. Zwróciliśmy uwagę na konieczność stosowania w empirycznej antybiotykoterapii zapaleń płuc antybiotyków działających wewnątrzkomórkowo na patogeny atypowe, jeszcze przed publikacją zaleceń empirycznej antybiotykoterapii opublikowanych przez towarzystwa naukowe. Zwróciłem również uwagę na *Haemophilus parainfluenzae*, dotychczas traktowany jako saprofit, jako potencjalny patogen zaostreń POCHP, szczególnie u pacjentów z umiarkowaną i łagodną obturacją. Postawiłem hipotezę o zależności etiologii zaostreń POCHP od stopnia obturacji. Ponadto dokonałem analizy piśmiennictwa dotyczącego roli zapaleń wirusowych i różnicowania etiologii wirusowej i bakteryjnej pozaszpitalnego zapalenia płuc oraz opisałem rolę chlamydii w etiologii infekcji dróg oddechowych. Na podstawie piśmiennictwa dokonałem analizy roli antybiotyków makrolidowych w leczeniu zakażeń układu oddechowego z uwzględnieniem roli zakażeń atypowych i roli makrolidów w leczeniu rozsianego zapalenia oskrzelików. Poniżej wymieniono publikacje dotyczące powyższej problematyki.

1. Chudnicka A., Szmygin-Milanowska K., Kieszko R., Milanowski J., Koziół-Montewka M. The role of opportunistic species of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* in pathogenesis of CAP (Community Acquired Pneumonia). (Udział oportunistycznego gatunku *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* w patogenezie zewnątrzszpitalnego zapalenia płuc.). Ann. UMCS Sect. D 2003; 58(1): 142-148.
2. Szmygin-Milanowska K., Kieszko R., Chudnicka A., Milanowski J. Microbial etiologies in community acquired pneumonia (CAP). (Charakterystyka bakteryjnych czynników etiologicznych zewnątrzszpitalnego zapalenia płuc.) Ann. UMCS Sect. D 2003; 58(1): 466-474.
3. Kieszko R. Wirusowe i bakteryjne zapalenie płuc - różnicowanie kliniczne. (Viral and bacterial pneumonias - clinical differentiation.) Nowa Med. 2009; 16(2): 138-141.
4. Kieszko R. Chlamydie - patogen niedoceniony. Alma Mater 1997; 7(4): 108.
5. Kieszko R., Szmygin-Milanowska K., Chudnicka A., Gołębiewska I., Łagoźna J., Milanowski J. Bacterial exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. The role of lung function in aetiology of exacerbation (Bakteryjne zaostrzenia przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POCHP). Znaczenie badań czynnościowych w etiologii zaostrzeń). Ann. UMCS Sect. D 2003; 58(1): 475-480.
6. Kieszko R. Zapalenia płuc W: Zarys chorób wewnętrznych dla studentów pielęgniarstwa. Pod red. Jadwigi Daniluk, Grażyny Jurkowskiej. Lublin 2005, Czelej, s. 106-114.



7. Kieszko R. Milanowski J. Makrolidy w leczeniu chorób oskrzeli i płuc u dorosłych. W: *Mycoplasma pneumoniae* i *Chlamydia pneumoniae* w zakażeniach dróg oddechowych i chorobach obturacyjnych płuc. Red. Andrzej Emeryk. Kraków 2001, Med. Prakt, s. 29-43.

Kolejną dziedziną moich zainteresowań naukowych są nowotwory układu oddechowego. Wraz z panią dr Barbarą Chabros dokonałem analizy pacjentów leczonych w Klinice Chorób Płuc i Gruźlicy w latach 1981-1990, pod kątem trudności w wykrywaniu i diagnozowaniu międzybłoniaka opłucnej. Dokonałem analizy piśmiennictwa dotyczącego problematyki rozpoznawania tego nowotworu. Brałem udział w pracach zespołu Pracowni Immunologii i Genetyki UM w Lublinie w ocenie czynników prognostycznych i predykcyjnych u pacjentów z rakiem niedrobnokomórkowym płuca leczonych erlotynibem w drugiej i trzeciej linii leczenia. Najistotniejszymi czynnikami zwiększającymi ryzyko progresji u pacjentów leczonych erlotynibem były: brak aktywującej mutacji genu *EGFR* i brak trądzikopodobnych zmian skórnych w trakcie leczenia. Natomiast najistotniejszymi czynnikami zwiększającym ryzyko wczesnej śmierci okazały się być zły stan sprawności, brak trądzikopodobnych zmian skórnych i krótki okres odpowiedzi na pierwszorazową chemioterapię. Poniżej przytoczono publikacje dotyczące powyższej problematyki.

1. Rybacka-Chabros B., Kieszko R. Trudności w rozpoznawaniu międzybłoniaków złośliwych opłucnej. (Diagnostic difficulties in pleural mesothelioma). *Pneumonol. Alergol. Pol.* 1993 t. 61 nr 1/2 s.
2. Rybacka-Chabros B., Kieszko R. Trudności w rozpoznawaniu międzybłoniaków złośliwych opłucnej - obserwacje własne. (Difficulties in diagnosing pleural malignant mesothelioma. A retrospective study.) *Folia Soc. Sci. Lub.* 1989 vol. 31 nr 1/2 s. 61-66.
3. Krawczyk P., Michnar M, Kieszko R., Król A., Wójcik M., Chocholska S., Milanowski J. Is the lung cancer among the hereditary malignancies? *Bull. Vet. Inst. Puławy* 2002 vol. 46 Suppl. s. 151-157.
4. Krawczyk P., Kowalski D, Wojas-Krawczyk K., Szczyrek M., Mlak R., Rolski A., Szudy A., Kieszko R., Winiarczyk K, Milanowski J., Krzakowski M. Predictive and prognostic factors in second- and third-line erlotinib treatment in NSCLC patients with known status of the EGFR gene. *Oncol. Rep.* 2013 vol. 30 nr 3 s. 1463-1472.

Jestem autorem rozdziałów w monografiach dotyczących szkodliwość palenia tytoniu i programu walki z nałogiem. Dokonałem analizy piśmiennictwa dotyczącego toksykologii dymu tytoniowego: znaczenia nikotyny w uzależnieniu od palenia tytoniu, farmakologii, farmakokinetyki i metabolizmu oraz działania nikotyny, toksycznego działania składników ciał

smołowatych: akroleiny i acetaldehydu, specyficznych tytoniowych N-nitrozamin, policyklicznych węglowodorów oraz metali ciężkich i pierwiastków śladowych. Ponadto opisałem działanie chlorowodoru bupropionu, jego farmakologię i mechanizm działania, metabolizm i skuteczność kliniczną w leczeniu uzależnienia od nikotyny:

1. Kieszko R. Nowe metody leczenia - chlorowodorek bupropionu (Zyban®). W: Palenie tytoniu. Wpływ na zdrowie i program walki z nałogiem. [Red.] Janusz Milanowski. Lublin 2001, BiFolium, s. 190-198.
2. Kieszko R., Michnar M. Toksykologia dymu tytoniowego. W: Palenie tytoniu a zdrowie. Pod. red. Janusza Milanowskiego i Janusza Błędowskiego. Lublin 1995, Inst. Med. Wsi, s. 43-57, bibliogr. poz. 34.

Ponadto jestem autorem rozdziałów w podręcznikach:

1. Kieszko R., Milanowski J. Sarkoidoza układu oddechowego - kliniczne aspekty oceny składu komórkowego płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL). W: Postępy pulmonologii i alergologii. Pod red. Janusza Milanowskiego i Janusza Błędowskiego. Lublin 1996. Wojewódzka Przychodnia Przeciwgruźlicza i Chorób Płuc, s. 91-108.
2. Kieszko R. Alergiczna aspergiloza oskrzelowo-płucna. W: Immunologia kliniczna. Pod red. Marka L. Kowalskiego. Łódź 2000, Mediton, s. 291-296.
3. Kozielski J., Kieszko R., Milanowski J., Kuś J., Chyczewska E., Ziora D., Naumnik W., Bestry I., Górecka D. Choroby układu oddechowego. W: Zarys chorób wewnętrznych dla studentów pielęgniarstwa. Pod red. Jadwigi Daniluk, Grażyny Jurkowskiej. Lublin 2005, Czelej, s. 99-183.
4. Kieszko R. Zapalenia płuc W: Zarys chorób wewnętrznych dla studentów pielęgniarstwa. Pod red. Jadwigi Daniluk, Grażyny Jurkowskiej. Lublin 2005, Czelej, s. 106-114.

Jestem autorem i współautorem opisów następujących nieprzytaczanych wcześniej przypadków klinicznych:

1. Krawczyk P., Czekajska-Chehab E., Kieszko R., Siwiec J., Węgrzyn-Szkućnik I., Gryglicka B, Milanowski J. Difficulties in the diagnosis of rare immunological diseases manifesting with cystic lung disease and spontaneous pneumothorax: case reports. Heart Lung 2004 vol. 33 nr 1 s. 21-25. W pracy opisano przypadki kliniczne pacjentów z limfangioleiomiomatozą płucną i histiocytozą x, prezentujących w badaniach obrazowych obecność mnogich cyst w miąższu płucnym. Przebiegi kliniczne tych chorób wikłane były nawracającymi odmami opłucnowymi. Omówiono diagnostykę różnicową, naturalny przebieg tych chorób i postępowanie lecznicze.

2. Krawczyk P., Wojas-Krawczyk K., Czekajska-Chehab E., Kieszko R., Zdunek E., Sawicki M., Milanowski J. Pulmonary hamartoma mimicking lung tuberculoma in tuberculosis patient - a case report. (Hamartoma płuc diagnozowana jako gruźliczak u chorego z gruźlicą płuc - opis przypadku.) *Kardiochir. Torakochir. Pol.* 2011 t. 8 nr 3 s. 371-373. Hamartoma płuc jest łagodnym guzem składającym się z wielu tkanek o różnorodnej budowie histopatologicznej. Rozpoznanie różnicowe obejmuje gruźliczaki i nowotwory złośliwe. W pracy zaprezentowano przypadek pacjenta z gruźlicą płuc i z hamartoma naśladującym gruźliczaka. Wstępne rozpoznanie postawiono na podstawie obrazu uwidocznionego w TK, a właściwe rozpoznanie postawiono po ocenie histopatologicznej chirurgicznie usuniętej zmiany.
3. Adamczyk-Korbel M. Kieszko R., Krawczyk P., Homa I., Ramlau R., Milanowski J. Good's syndrome twelve years after thymectomy due to thymoma. A case study. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2013 vol. 38 nr 4 s. 505-510. W pracy przedstawiono przypadek 63 letniego mężczyzny cierpiącego na zespół nabytego niedoboru odporności który rozwinął się 12 lat po usunięciu grasiczaka. Pacjent miał nawracające infekcje górnych i dolnych dróg oddechowych z obrazem rozstrzeni oskrzeli i zmian marskich mięszu płucnego w TK płuc. Ocena immunologiczna krwi obwodowej wykazała śladowy poziom immunoglobulin, niską liczbę i odsetek limfocytów B, odwrócenie wskaźnika CD4/CD8 oraz wysoki odsetek podwójnie dodatnich CD4+ i CD8+ limfocytów T. Zespół Gooda jest bardzo rzadki i występuje głównie w obecności grasiczaka. Opisany przez nas przypadek jest wyjątkowy spośród blisko 100 opisanych w literaturze zespołów Gooda.
4. Kieszko R., Krawczyk P., Milanowski J. Diagnosis of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after allogeneic bone marrow transplantation. Case report. (Rozpoznanie zarostowego zapalenia oskrzelików z organizującym się zapaleniem płuc po alogenicznym przeszczepie szpiku. Opis przypadku. *Ann. UMCS Sect. D* 2003 vol. 58 nr 1 s. 132-136. Opisano przypadek 40-letniej pacjentki po alogenicznym przeszczepie szpiku kostnego z powodu przewlekłej białaczki szpikowej. Rok po transplantacji pojawiły się objawy nawracających infekcji dróg oddechowych, nieefektywnie leczonych antybiotykami. Choroba była powikłana niewydolnością wątroby wynikającą z mieszanego zakażenia HBV i HCV, a także przewlekłą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD). TK kłp i badania czynnościowe wskazywały na BOOP, ale pomimo wielokrotnej przezoskrzelowej biopsji płuca nie uzyskano rozpoznania histopatologicznego. Stan chorej był ciężki z niewydolnością oddechową. Zastosowanie antybiotykoterapii empirycznej i sterydoterapii systemowej zaowocowało poprawą kliniczną pacjentki. Ostatecznie

postawiono rozpoznanie BOOP o mieszanej etiologii, a rozpoznanie potwierdzone dobrą odpowiedzią na leczenie sterydami systemowymi.

5. Szmygin-Milanowska K, Krawczyk P., Kieszko R., Milanowski. J. Tracheal adenoid cystic carcinoma presenting with bronchial asthma. A case report. Case Rep. Clin. Pract. Rev. 2005 vol. 6 s. 136-139. W pracy przedstawiono przypadek 53 letniej pacjentki z przewlekłą ciężką dusznością, suchym kaszlem i bólem w klatce piersiowej. U pacjentki rozpoznano astmę oskrzelową. Pacjentka nie odpowiadała na typowe leczenie. W badaniu bronchoskopowym stwierdzono obecność egzofitycznej zmiany obturującej w 90% tchawicę. Badanie histopatologiczne pozwoliło na rozpoznanie raka gruczołowo-torbielowatego. Pacjentkę zakwalifikowano do dalszego leczenia operacyjnego i do radioterapii. W przypadku braku odpowiedzi na leczenie astmy należy poszerzyć diagnostykę o bronchofiberoskopię i o tomografię komputerową, aby wykluczyć inne przyczyny duszności.
6. Brzostek D., Kieszko R., Błażewicz T. Poprawa kontroli astmy po zamianie steroidu wziewnego na cykлезonid w dawkach ekwiwalentnych. (Improvement of asthma control after switching from another inhaled steroid to ciclesonide in equipotent doses.) Terapia 2013. 21 nr 4 z. 2 s. 21-24. Przeprowadziliśmy analizę dwóch pacjentów z częściowo kontrolowaną astmą oskrzelową leczonych małymi i średnimi dawkami sterydów wziewnych. Pierwszą próbą poprawy kontroli było zwiększenie dawki sterydu wziewnego i dodanie drugiego leku kontrolującego (montelukast, LABA). Wobec braku efektu klinicznego podjęto decyzję o przejściu na równoważną dawkę cykлезonidu (320 µg i 640 µg). Leczenie to znacząco poprawiło kontrolę astmy w obu przypadkach. Za efekt kliniczny cykлезonidu odpowiada wysoka depozycja płucna i penetracja do drobnych dróg oddechowych.

W latach 2011-2015 brałem udział w pracach konsorcjum pana prof. Joachima Mullera Querheim – The GenPhenReSa (Genotype-Phenotype-Relationship in Sarcoidosis). Ośrodek Lubelski jest drugim ośrodkiem z Polski, obok ośrodka pani profesor Anny Dubaniewicz z UM w Gdańsku. Konsorcjum GenPhenReSa to europejski wieloośrodkowy projekt powołany w celu zbadania wpływu genotypów na występowanie i manifestację kliniczną sarkoidozy. Baza pacjentów projektu GenPhenReSa składa się z 2163 chorych na sarkoidozę, rekrutowanych z 31 ośrodków europejskich. W ośrodku lubelskim dokonałem rekrutacji 52 pacjentów, których materiał biologiczny i szczegółowe dane kliniczne i dane przebiegu choroby zostały włączone do bazy pacjentów europejskich. Prace konsorcjum zaowocowały odkryciem nowych fenotypów sarkoidalnych o niezauważonym dotychczas powiązaniu zajętych narządów. Opracowywane jest znaczenie prognostyczne tych fenotypów i ich związek z genotypem. Opracowanie fenotypowej bazy danych zostanie

przedstawione w pracy, której jestem współautorem „Morbidity and phenotypes of organ involvements in sarcoidosis”, obecnie recenzowanej w European Respiratory Journal (ERJ-00991-2017).

W uznaniu osiągnięć naukowych w 2004 i 2014 roku została przyznana mi Nagroda Rektora III stopnia, zaś w 2012 roku Nagroda Rektora za wieloletni wkład pracy.

### **Działalność zawodowa i organizacyjna**

Posiadam 2 specjalizacje zawodowe: choroby wewnętrzne pierwszy stopień, uzyskana w 1991 roku oraz choroby płuc drugi stopień, uzyskana w 1993 roku. Przez cały okres pracy zawodowej pracuję w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym nr 4 w Lublinie w Oddziale Chorób Płuc i Gruźlicy Kliniki Pneumonologii Onkologii i Alergologii. Jestem Kierownikiem Pracowni Bronchoskopowej Kliniki. W latach 1999-2002 byłem członkiem Rady Wydziału Lekarskiego I Oddziału Stomatologii AM w Lublinie z grupy pomocniczych pracowników nauki. Od 2001 roku pełnię funkcję zastępcy ordynatora, a następnie zastępcy Lekarza Kierującego Oddziałem. Od 2014 roku jestem konsultantem Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej w zakresie chorób płuc. Od 2012 roku kieruję pracą Oddziału Chemioterapii Kliniki Pneumonologii, Onkologii i Alergologii. Za najważniejsze osiągnięcia w pracy zawodowej uważam wprowadzenie do zastosowania w Pracowni Bronchoskopii metod diagnostycznych: płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL) i przezoskrzelowej biopsji cienkoigłowej pod kontrolą usg. (endobronchial ultrasound – thin needle aspiration – EBUS-TBNA).

Byłem członkiem komitetów organizacyjnych krajowych konferencji naukowych organizowanych przez Zespół Kliniki Pneumonologii, Onkologii i Alergologii m. in. w Kazimierzu Dolnym oraz w Lublinie. Obecnie zaangażowany jestem w działalność Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc (wcześniej Polskiego Towarzystwa Ftyzjopulmonologicznego). Przez kilka kadencji pełniłem funkcje skarbnika i sekretarza Oddziałów Lubelskich Polskiego Towarzystwa Alergologicznego i Polskiego Towarzystwa Ftyzjopulmonologicznego.

Od stycznia 2016 roku pełnię funkcję konsultanta wojewódzkiego Województwa Lubelskiego w dziedzinie chorób płuc. Biorę aktywny udział w pracach Wojewódzkiej Rady do spraw Potrzeb Zdrowotnych dla województwa lubelskiego. W 2016 roku brałem udział w pracach nad opracowaniem map potrzeb zdrowotnych w zakresie ostrych i przewlekłych chorób układu oddechowego. Jestem autorem opinii eksperckich: dla Agencji Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji w sprawie objęcia refundacją produktów leczniczych oraz dla OL NFZ w sprawie aktualnego zabezpieczenia potrzeb zdrowotnych populacji Województwa Lubelskiego w dziedzinie chorób płuc, a także dla Departamentu Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Ministerstwa Zdrowia w sprawie oceny zasobów kadrowych

oraz potrzeb kadrowych w zawodzie lekarza i zapotrzebowania na miejsca szkoleniowe w dziedzinie chorób płuc dla Województwa Lubelskiego.

### **Działalność dydaktyczna**

Od początku mojej pracy w pracy w Akademii Medycznej (Uniwersytecie Medycznym) w Lublinie prowadzę ćwiczenia, seminaria i wykłady w przedmiotach: Ftyzjatria, Choroby Płuc i Medycyna Rodzinna dla studentów III, IV i V roku Wydziałów Lekarskiego, Lekarskiego z Oddziałem Anglojęzycznym, Elektroradiologii, Fizjoterapii. Prowadzę zajęcia, seminaria i wykłady w języku angielskim dla studentów grup Europejskich, Tajwańskich, Norweskich i Amerykańskich.

Brałem udział w Programie Współpracy Transgranicznej Polska – Białoruś – Ukraina 2007 -2013 współfinansowanym ze środków Unii Europejskiej oraz w projekcie „Zdrowie Priorytetem. Partnerstwo Uniwersytetów Medycznych Polski i Ukrainy na rzecz podniesienia jakości opieki medycznej pogranicza polsko – ukraińskiego”. W ramach programu prowadziłem we Lwowskim Uniwersytecie Medycznym zajęcia dydaktyczne pn. „Przewlekła obturacyjna choroba płuc, astma” podczas seminariów szkoleniowych z opieki farmaceutycznej.

Uczestniczyłem w kursach szkoleniowych „Etiologia, obraz kliniczny i diagnostyka zakażeń układu oddechowego 2008-2010, prowadząc wykłady „Obraz kliniczny a przebieg zakażenia dolnych dróg oddechowych”.

Od 1998 roku jestem opiekunem Przyklinicznego Studenckiego Koła Naukowego. Praca naukowa koła skupia się na aspektach klinicznych, immunologicznych i genetycznych raka płuca, sarkoidozy, astmy oskrzelowej i POCHP. Jestem opiekunem naukowym ponad stu prac publikowanych na konferencjach studenckich i sympozjach w kraju i za granicą. Wiele z nich zdobyło nagrody w swoich kategoriach. Wykaz prac zawarłem w załączniku III.I „Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy międzynarodowej habilitanta”. Ponadto jestem opiekunem naukowym specjalizacji czworga lekarzy i opiekunem naukowym w charakterze promotora pomocniczego u dwojga doktorantów – załącznik III, J, K.

*Przew. Prof. dr hab. n. med. J. K.*  
2017-06-14