

Białystok, 15 lutego 2017 r.

Komisja Habilitacyjna

Powołana do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego

dr n. med. Łukasza Bołkuna

Rada Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii  
i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim  
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

**Uzasadnienie uchwały w sprawie nadania dr n. med. Łukaszowi Bołkunowi stopnia doktora  
habilitowanego nauk medycznych w dyscyplinie medycyna.**

Komisja habilitacyjna w składzie:

- przewodniczący Komisji: prof. dr hab. Wiesław Jędrzejczak
- sekretarz Komisji: dr hab. Edyta Zbroch
- recenzenci:  
prof. dr hab. Grzegorz Helbig  
prof. dr hab. Sebastian Giebel  
prof. dr hab. Iwona Hus
- członkowie Komisji: dr hab. Maciej Machaczka  
prof. dr hab. Maryna Krawczuk-Rybak

zapoznała się z nadesłanymi recenzjami oceniającymi dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny dr n. med. Łukasza Bołkuna. Opinie wszystkich Recenzentów potwierdzają dużą wartość przedstawionego dorobku naukowego oraz dojrzałość naukową Kandydata, pozytywnie opiniując kandydaturę do stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych.

Komisja ustaliła co następuje:

## **I. Dane biograficzne i informacje ogólne o habilitancie**

Łukasz Bołkun ukończył studia medyczne na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Białymstoku w 2006 roku. Wówczas podjął pracę jako lekarz stażysta w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Akademii Medycznej w Białymstoku. Następnie uzyskał rezydenturę z chorób wewnętrznych, którą realizował w Klinice Hematologii Akademii Medycznej w Białymstoku w latach 2008-2013. Od 2013 roku był zatrudniony początkowo na etacie asystenta, a obecnie adiunkta.

W czasie trwania studiów Habilitant był członkiem Studenckiego Towarzystwa Naukowego, a w latach 2002-2005 był członkiem Zarządu STN AMB. Po ukończeniu studiów brał udział w zagranicznej wymianie naukowej, realizując program badawczy „Molecular biology of the heat stress proteins”, którego doświadczenia wykorzystał w pracy doktorskiej pod kierownictwem prof. dr hab. n med. Janusza Kłoczko pt; „Ocena białek HSP70 i jego przeciwciał u chorych na ostre białaczki”.

Równocześnie z rozwojem naukowym postępował rozwój zawodowy. W 2013 roku Habilitant uzyskał specjalizację z chorób wewnętrznych, a w 2016 roku w dziedzinie hematologii w Klinice Hematologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. W tym samym roku rozpoczął również specjalizację w dziedzinie trasplantologii klinicznej. W pracy klinicznej interesuje się intensywną opieką hematologiczną, w szczególności leczeniem ostrych białaczek.

## **II. Działalność dydaktyczna i organizacyjna**

Recenzenci wyrażają opinię, że dr Łukasz Bołkun jest nauczycielem akademickim o uznanych osiągnięciach. Od początku swojej pracy zawodowej prowadzi ćwiczenia i seminaria ze studentami w dziedzinie propedeutyki interny, chorób wewnętrznych i hematologii, w języku polskim i angielskim. W latach 2014-2015 r. był opiekunem Studenckiego Koła Naukowego przy Klinice Hematologii.

Dr Łukasz Bołkun od 2006 roku jest członkiem Polskiego Towarzystwa Hematologii i Transfuzjologii (PTHiT). Prof Sebastian Giebel, Prezes Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (PALG), podkreślił, iż dr Bołkun aktywnie uczestniczy w konstruowaniu i rekomendacjach klinicznych i prowadzeniu projektów w ramach grupy PALG jak i również Polskiej Grupie Badawczej Chłoniaków.

Habilitant był promotorem pomocniczym 2 rozpraw na stopień naukowy doktora nauk medycznych w zakresie medycyny na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczenia w Języku Angielskim pt. „Znaczenie fenotypu i składu wybranych subpopulacji limfocytów T CD4+ krwi obwodowej w przewlekłej białaczce limfocytowej” oraz „Znaczenie zmian ilościowych subpopulacji monocytów w przewlekłej białaczce limfocytowej”. Jedna z prac po publikacji w Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej otrzymała nagrodę III stopnia Towarzystwa Internistów Polskich.

### **III. Ocena dorobku naukowo-badawczego**

#### **Działalność naukowa**

W kategoriach bibliograficznych dorobek naukowy Habilitanta obejmuje łącznie 28 prac naukowych, w tym: 26 prac oryginalnych twórczych (w tym 5 prac stanowiących rozprawę habilitacyjną), 2 prace kazuistyczne oraz 19 komunikatów zjazdowych. Sumaryczny wskaźnik Impact Factor wynosi 58,851, a łączna punktacja MNiSW 600. Dr Łukasz Bołkun jest ponadto autorem 10 rozdziałów w podręcznikach dla lekarzy i studentów.

**Ocena szczególnego osiągnięcia naukowego stanowiącego w rozumieniu Ustawy z dn. 14 marca 2013 r. podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.**

Wymienione osiągnięcie naukowe obejmuje pięć oryginalnych prac badawczych opublikowanych w znaczących anglojęzycznych pismach naukowych. Zostały one opatrzone tytułem „Rola białek rodziny TNF w patogenezie chorób rozrostowych układu kriotwórczego”. Łączny IF tych publikacji wynosi 15, 366, a punktacja MNiSW 125. We wszystkich pięciu publikacjach dr Bołkun jest pierwszym autorem i pomysłodawcą pracy. Jego udział w projektach polegał na zaprojektowaniu planu badań i eksperymentów, przygotowaniu bazy danych, zebraniu

danych dotyczących przeżycia pacjentów, analizie statystycznej wyników, interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Wszystkie prace były finansowane w ramach prac statutowych Habilitanta.

Analizując recenzowany cykl prac, recenzenci wspólnie podkreślili, iż prace będące przedmiotem osiągnięcia cechuje spójność tematyczna, co za tym idzie mogą być traktowane jako cykl objęty mianem dzieła. Przedmiot badań Habilitanta jest istotny zarówno z naukowego punktu jak i klinicznego punktu widzenia. Dostarczają one wiedzy dotyczącej patogenezы, mechanizmow lekoopornosci i prognozowania u chorych na choroby hematologiczne, a w szczególności szpiczaka plazmocytowego i ostrych białaczek. Jak podkreślił Prof. Giebel wszystkie prace cechuje duża oryginalność. Podejmowane przez Habilitanta zagadnienia wcześniej nie były, bądź były skąpo reprezentowane w literaturze, a przedstawione wyniki miały charakter nowatorski. Jak podkreśliła prof Iwona Hus wszystkie publikacje ukazały się w renomowanych czasopismach hematologicznych o wysokim współczynniku oddziaływania, w krótkim czasie, co dodatkowo wskazuje na duży potencjał twórczy Habilitanta.

W ramach swojego szczególnego osiągnięcia naukowego Habilitant skupił się na poznaniu roli mediatorów stanu zapalnego w szczególności białek należących do nadrodziny czynnika martwicy nowotworu (nadrodzina TNF, *ang. Tumor Necrosis Factor superfamily*) i ich roli jaką pełnią podczas rozwoju nowotworu, a także indukcji oporności na stosowane leki cytostatyczne. Należy zaznaczyć, że ich funkcja i znaczenie w rozwoju chorób nowotworowych układu krwiotwórczego jest słabo poznana.

Nadrodzina TNF to grupa ponad 13 białek o plejotropowych aktywnościach biologicznych, włączając w to m.in.: regulację procesu apoptozy, działanie prozapalne i immunomobilizujące. Relatywnie nowymi członkami tej rodziny są APRIL (*ang. a Proliferation Inducing Ligand*, znany również jako TNFSF13, *ang. Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily Member 13*) oraz BAFF (*ang. B-cell Activating Factor*, znany również jako TNFSF13B, *ang. Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily Member 13*). Czynniki te są glikoproteinami błonowymi typu II, które mogą być również wydzielane jako białka rozpuszczalne lub złączane z błony komórkowej nie tracąc swojej aktywności biologicznej, która zależy bezpośrednio od poziomu ekspresji charakterystycznych receptorów na komórkach docelowych.

W pracy pod tytułem **“BAFF and APRIL as TNF superfamily molecules and angiogenesis parallel progression of human multiple myeloma”**; (*Annals of Hematology*. 2014; 93(4): 635 – 644) Habilitant ocenił stężenia ligandów APRIL i BAFF w surowicy u nowo zdiagnozowanych pacjentów ze szpiczakiem mnogim (MM) i skorelował je z dobrze znanymi parametrami aktywności MM, takimi jak stężenie TNF- $\alpha$  (*ang. Tumor Necrosis Factor alpha*) i IL-6 (*ang. Interleukin-6*), jak również z czynnikami pro-angiogennymi, takimi jak VEGF (*ang. Vascular Endothelial Growth Factor*) i rozpuszczalną formą jego receptora (sVEGFR2, *ang. Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2*), w surowicy pacjentów oraz ich ekspresją w materiale kostnym uzyskanym w trakcie standardowej trepanobiopsji (TB). Habilitant wykazał, iż stężenie analizowanych białek należących do rodziny TNF, jak również badanych białek związanych z procesem angiogenezy, było wyższe u pacjentów z nowo rozpoznany MM w porównaniu do zdrowych wiekowo dobranych dawców krwi oraz korelowało ze stopniem zaawansowania choroby. Dodatkowo dr Bołkun wykazał również istnienie proporcjonalnej zależności pomiędzy stężeniem APRIL w surowicy krwi, a wykrywanymi stężeniami VEGF, IL-6. Uzyskane wyniki wskazują na istotne znaczenie APRIL w patogenezie MM. Stężenie tego białka jest bezpośrednio zależne od aktywności choroby, co daje możliwość jego wykorzystania jako czynnika monitorującego aktywność choroby. Dodatkowo analizowane białko wydaje się być potencjalnym celem terapeutycznym, jak podkreśliła prof. Iwona Hus.

W kolejnej pracy pt. **“Relationship between tumour necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) and vascular endothelial growth factor in human multiple myeloma patients”**; (*Hematological Oncology*. 2015; 33(4): 199 – 205, Habilitant zbadał rolę białka TRAIL (*ang. TNF-related apoptosis-inducing ligand*) mającego zdolność indukowania apoptozy w komórkach nowotworowych, nie będąc toksycznym w stosunku do prawidłowych komórek organizmu. Fizjologiczną funkcją TRAIL jest nadzór immunologiczny i udział w odporności przeciwnowotworowej. W badaniach Habilitant w grupie pacjentów ze szpiczakiem mnogim wykazał znamienne niższe stężenie TRAIL w porównaniu do grupy zdrowych osób, jak i jego znamienne wzrost po zastosowaniu chemioterapii u pacjentów, u których uzyskano całkowitą remisję. Jednocześnie Habilitant wykazał, iż stężenie TRAIL korelowało negatywnie ze stężeniem VEGF (czynników proangiogennych) oraz ekspresją syndecanu-1 (CD138) na powierzchni komórki plazmatycznej, co wskazuje, iż stężenia analizowanych białek zależne są

od aktywności oraz progresji choroby. Z przeprowadzonych badań wynika możliwość zastosowania tych ligandów jako wskaźników prognostycznych aktywności choroby i zajęcia szpiku kostnego przez MM.

W kolejnych pracach pt.: „**Prognostic significance of ligands belonging to tumour necrosis factor superfamily in acute lymphoblastic leukaemia**”; (*Leukemia Research*. 2015; 39(3): 290 – 295) oraz “**The impact of TNF superfamily molecules on overall survival in acute myeloid leukaemia: correlation with biological and clinical features**”; (*Annals of Hematology*. (2015; 94(1): 35 - 43.) Habilitant skupił się na znaczeniu prognostycznym białek TNF, a w szczególności stężeniach rozpuszczalnych form białek APRIL i BAFF i TRAIL u chorych na ostre białaczki szpikową i limfoblastyczną. W dobrze scharakteryzowanych pod względem molekularnym i cytogenetycznym grupach doktor Bołkun wykazał, iż wysokie wyjściowe stężenie APRIL ocenione w surowicy pacjenta przed leczeniem wiązało się z krótszym czasem przeżycia całkowitego jak i okresu wolnego od progresji. Co więcej stężenie APRIL w surowicy pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną wykazywało związek z obecnością minimalnej choroby resztkowej u pacjentów, którzy uzyskali całkowitą remisję i byli poddani procedurze allotransplantacji szpiku kostnego.

Kontynuacją powyższego tematu była następna praca „**Involvement of BAFF and APRIL in resistance to apoptosis of acute myeloid leukemia**”; (*Journal of Cancer*, 2016 30;7(14):1979-1983. W badaniu tym Habilitant wykazał, iż dodanie rozpuszczalnego APRIL do hodowli komórkowych chroniło blasty białaczkowe przed spontaniczną i indukowaną lekami apoptozą. Badania te wskazują, że komórki białaczkowe AML mogą unikać apoptozy w mechanizmie autologicznego oddziaływania pomiędzy APRIL, a ich receptorami. Dodatkowo na podstawie analizy komórek blastycznych pobranych od pacjentów z nowo rozpoznaną ostrą białaczką szpikową dr Bołkun wykazał statystycznie wyższą ekspresję białek APRIL i BAFF u pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na leczenie indukujące w porównaniu do pacjentów, którzy osiągnęli całkowitą remisję. W analizie dotyczącej poziomu ekspresji receptorów Habilitant wykazał, iż u pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na chemioterapię indukcyjną remisję choroby, odnotowano ledwie wykrywalną (poniżej 1%) ilość komórek z ekspresją BCMA, w odróżnieniu do pacjentów z CR, u których poziom tych komórek był znacząco wyższy. Jak podkreślił prof. Helbig, brak komórek blastycznych AML wykazujących ekspresję receptora BCMA we krwi

obwodowej umożliwia wyselekcjonowanie pacjentów nieodpowiadających na stosowany standardowy protokół leczenia.

Recenzenci stwierdzili, iż opracowanie cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe upoważniło Habilitanta do sformułowania w pełni uprawnionych wniosków:

1. Określenie stężenia BAFF i APRIL w surowicy krwi może być wykorzystane jako marker umożliwiający monitorowanie aktywności i progresji MM. Ponadto, obecność zależności pomiędzy stężeniem VEGF oraz jego receptora, a APRIL wskazuje na możliwość potencjalnego wykorzystania tego białka w terapiach MM.
2. U pacjentów z MM stwierdza się nie tylko podwyższoną ekspresję VEGF, ale również syndecan-1 oraz stężenie TRAIL. Stężenie analizowanych białek zależne jest od aktywności oraz progresji choroby, dlatego możliwe jest zastosowanie tych ligandów jako wskaźników prognostycznych aktywności choroby i zajęcia szpiku kostnego przez MM. Zahamowanie patologicznej waskularyzacji tkanki nowotworowej poprzez zaburzenie poziomu czynników kontrolujących proces angiogenezy (pro-angiogennych i anty-angiogennych) wydaje się być istotną i obiecującą strategią terapii wielu nowotworów złośliwych włączając w to MM.
3. Ocena stężenia białek należących do rodziny TNF w surowicy krwi u pacjentów z AML stanowi przydatne narzędzie umożliwiające określenie aktywności choroby oraz jej progresji. Ponadto określenie wyjściowego poziomu BAFF i TRAIL przed rozpoczęciem leczenia może służyć jako czynnik prognostyczny OS (czasu przeżycia). Analizowane białka wydają się być ciekawym celem terapeutycznym w AML.
4. APRIL i BAFF stanowią ważny element regulujący proces apoptozy komórek blastycznych AML. Brak komórek blastycznych AML wykazujących ekspresję receptora BCMA we krwi obwodowej umożliwia wyselekcjonowanie pacjentów nieodpowiadających na stosowany standardowy protokół leczenia. BCMA na powierzchni komórek AML we krwi obwodowej może być wykorzystywany jako przydatny marker wskazujący na oporność na zastosowane leczenie.

5. Podwyższone stężenia APRIL, ale nie BAFF czy TRAIL w surowicy krwi pacjentów z ALL warunkują krótszy czas przeżycia wolnego od progresji jak i całkowitego przeżycia. Poziom APRIL w surowicy krwi umożliwia lepsze zróżnicowanie pacjentów z całkowitą remisją pod względem obecności lub braku choroby resztkowej, wskazując tym samym na znaczenie tego ligandu jako istotnego czynnika prognostycznego.

Profesor Iwona Hus uznała, że przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe jest nowatorskie, ma istotne walory poznawcze i stanowi istotny przyczynek do wiedzy na temat podłoża chorób nowotworowych.

Profesor Sebastian Giebel podkreślił, że dzięki zaangażowaniu dr Łukasza Bołkuna, cykl prac tworzących rozprawę habilitacyjną w istotny sposób poszerzył współczesną wiedzę, przyczyniając się do lepszego poznania patogenezы oraz lepszego prognozowania wyników leczenia pacjentów poddanych chemioterapii.

Profesor Grzegorz Helbig zwrócił uwagę na możliwość w perspektywie kolejnych lat, iż badania Habilitanta mogą przyczynić się do modyfikacji obecnych protokołów terapeutycznych oraz opracowania nowych form leczenia. Podsumowując, uznał pracę habilitacyjną za bardzo cenne opracowanie naukowe, zarówno pod względem poznawczym, jak i z klinicznego punktu widzenia.

### **Pozostały dorobek naukowy Habilitanta**

Recenzenci podkreślają spójność i konsekwencję dr Łukasza Bołkuna w doborze tematów badań naukowych. Główne tematy pozostałych prac naukowych Habilitanta obejmują:

1. Rola kompleksu białka Z w chorobach hematologicznych
2. Zaburzeń układu immunologicznego w patogenezie przewlekłej białaczki limfocytowej oraz chłoniaków B komórkowych
3. Ocena markerów prognostycznych szpiczaka plazmocytoowego

Jednym z najważniejszych, jak podkreśliła prof. dr hab. Iwona Hus, jest cykl prac dotyczących kompleksu białek Z oraz inhibitora proteaz zależnego od białka Z (kompleks



ZP/ZPI) na częstość powikłań zakrzepowych i krwotocznych u chorych na nowotwory hematologiczne. W pracach tych wykazano, iż niedobór białka Z może być czynnikiem zwiększającym występowanie epizodów zakrzepicy żyłnej u chorych na szpiczaka plazmocytozowego oraz choroby mieloproliferacyjne.

Ważne obserwacje przyniosły również badania Habilitanta dotyczące zaburzeń w układzie odporności u chorych na choroby hematologiczne. Spośród prac dotyczących tego zagadnienia uwagę recenzentów zwróciły szczególnie prace, w których wykazano negatywne znaczenie rokownicze liczby limfocytów T z ekspresją cząsteczki PD-1 u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową, co ma istotne znaczenie w świetle nowych strategii immunoterapii z wykorzystaniem przeciwciał antyPD-1 w nowotworach limfoproliferacyjnych. Interesujące są również wyniki badań, w których wykazano korelację między zmniejszoną liczbą limfocytów T, Tregi obniżonym odsetkiem komórek apoptycznych, a bardziej zaawansowanym stadium klinicznym chłoniaka rozlanego z dużych komórek B.

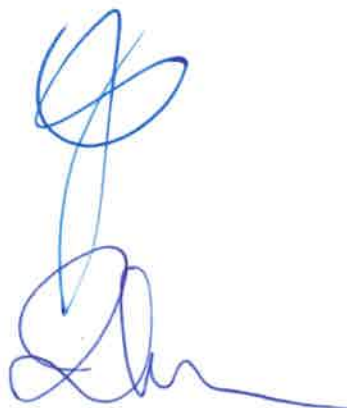
Recenzenci podkreślają udział Habilitanta w realizacji bardzo licznych projektów badawczych, co dowodzi wysokich umiejętności pracy w zespołach badawczych i stania na ich czele.

W uznaniu wyników pracy naukowej i dydaktycznej dr Łukasza Bołkuna był wielokrotnie nagradzany. Otrzymał 4 Nagrody Naukowe I stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

W podsumowaniu wszyscy Recenzenci wnioskuje do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie Kandydata do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Na podstawie przedstawionych recenzji, autoreferatu, opisu osiągnięć naukowych oraz pozytywnego wyniku głosowania członków Komisji Habilitacyjnej stwierdzamy, że osiągnięcia dr n. med. Łukasza Bołkuna spełniają kryteria określone w art. 16 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz.595 z późn. zmianami).

Podsumowując swoją opinię Komisja podkreśla niezwykle pozytywną ocenę dorobku naukowego i klinicznego oraz działalności dydaktycznej Kandydata. W związku z powyższym Komisja zwraca się do Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o nadanie dr n. med. Łukaszowi Bołkunowi stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the end.