



ul. Szpitalna 27/33

60-572 Poznań

tel. 061 849 13 13

fax. 061 849 12 43

e-mail: [klinikapad@skp.ump.edu.pl](mailto:klinikapad@skp.ump.edu.pl)

email: [ambreborowicz@ump.edu.pl](mailto:ambreborowicz@ump.edu.pl)

---

Poznań, dnia 9.06. 2022

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. med. Joanny  
Połomskiej w dyscyplinie Nauki Medyczne**

pt. „Arginina i jej analogi jako nowe biomarkery oznaczane w surowicy i kondensacie  
wydychanego powietrza w celu rozpoznawania i monitorowania przebiegu astmy oskrzelowej  
w populacji dziecięcej”

Astma, uznawana za najczęstszą przewlekłą chorobę wieku dziecięcego pozostaje nadal dużym wyzwaniem zarówno w kontekście poznania jej patogenezы, ustalenia zasad rozpoznawania i leczenia. Nadal kluczowym kryterium rozpoznania choroby pozostają objawy kliniczne będące następstwem zmiennej obturacji i nadreaktywności oskrzeli – zjawisk patofizjologicznych spowodowanych głównie zapaleniem dróg oddechowych. Duże znaczenie przypisuje się obiektywizacji zaburzeń w oparciu o badania czynnościowe, a ich standaryzacja podlega ciągłym modyfikacjom. Wielokierunkowe poszukiwania markerów zapalenia w astmie ujawniły heterogenne podłoże choroby, ale nadal problemem pozostaje powiązanie tychże markerów z określonymi fenotypami i endotypami astmy oraz ich wykorzystanie w monitorowaniu choroby, prognozowaniu jej przebiegu i indywidualizacji leczenia.

Przedstawiona do recenzji praca wpisuje się w prowadzone na szeroką skalę badania różnych ogniw zapalenia astmatycznego. Przedmiotem badań Doktorantki jest ocena znaczenia argininy i jej analogów w astmie dziecięcej poprzez odniesienie stężeń analizowanych parametrów do wartości oznaczonych w grupie kontrolnej. Obszar zainteresowań jest wąski i względnie mało poznany, czego potwierdzeniem są nieliczne

publikacje, mimo, że problem został wywołany już przed wieloma laty. Zdecydowanie więcej uwagi poświęcono dotąd badaniom innego konkurencyjnego szlaku przemiany argininy z udziałem indukowalnej syntazy tlenu azotu, szlaku prowadzącego do wzrostu stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym. Jego oznaczanie jest wykorzystywane w praktyce dla monitorowania zapalenia eozynofilowego i zdaje się korelować z predyspozycją atopową. Podkreślić należy, że Doktorantka nie tylko zajęła się oryginalnym problemem, ale badania przeprowadziła z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych pozwalających na charakterystykę lokalnego zapalenia.

Rozprawa oparta jest o 2 artykuły stanowiące spójną całość. W obu publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Pierwsza praca ma charakter pracy poglądowej, druga jest prezentacją własnych oryginalnych wyników. Obie zostały opublikowane na łamach tego samego recenzowanego czasopisma. Tym samym obie prace musiały przed dopuszczeniem do druku uzyskać pozytywne opinie recenzentów i opinie te podzielałam w prezentowanej recenzji.

Praca poglądowa poświęcona jest omówieniu badania kondensatu powietrza wydychanego – metody wykorzystanej w badaniach własnych i będącej jedną z najbardziej obiecujących metod pozyskiwania materiału dla bezpośredniej oceny procesu zapalnego w drogach oddechowych. Doktorantka szczegółowo omawia techniczne aspekty badania z uwzględnieniem dostępnego dotychczas sprzętu, sposobu pobrania materiału, jego przechowywania, sposobu analizy pobranych próbek. Przedstawia szeroki zakres możliwych do wykonania oznaczeń biomarkerów i badań mikrobioty. Wśród omawianych biomarkerów niewiele miejsca poświęca tym, których oznaczenie będzie przedmiotem badań własnych. Opracowanie ma charakter wszechstronny, uporządkowany i krytyczny. Większość cytowanych badań dotyczy astmy, ale Doktorantka cytuje także publikacje poświęcone wykorzystaniu badań w takich chorobach przewlekłych jak przewlekła obturacyjna choroba płuc, mukowiscydoza, a także w chorobach infekcyjnych. Badania wykonywano u dorosłych i dzieci w celach poznawczych, diagnostycznych i monitorowania leczenia. Doktorantka syntetycznie omawia wiele badań, których wyniki nierzadko są zróżnicowane. Wskazuje na potencjalne przyczyny braku zgodności i istotne trudności techniczne, w tym niewystarczającą czułość testów diagnostycznych, problemy ze standaryzacją. Doktorantka opiera się na aktualnym, dobrze dobranym piśmiennictwie.

Zasadniczą część przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej stanowi praca oryginalna pt. „*Metabolites of L-ARG in Exhaled Breath Condensate and Serum Are Not Biomarkers of Bronchial Asthma in Children*”.

W oparciu o przesłanki teoretyczne i niejednoznaczne wyniki dotychczasowych doświadczeń Doktorantka ustaliła główne cele badań w postaci określenia różnic w metabolizmie argininy u dzieci chorych na astmę w porównaniu z grupą kontrolną i ustalenia przydatności



oznaczeń lokalnych i systemowych stężeń argininy, jej metabolitów i interleukiny 4. Przebieg głównych szlaków metabolizmu argininy z udziałem arginazy i syntazy NO oraz wpływ metabolitów na ich aktywność zostały opisane we wstępie. Oprócz standardowej oceny klinicznej, spirometrycznej i alergologicznej oraz badań krwi przeprowadzono badania kondensatu powietrza wydychanego. Ogromną zaletą tego badania jest możliwość nieinwazyjnego pozyskania materiału do oceny zmian na poziomie narządowym. Na podkreślenie zasługuje duża skuteczność w pozyskiwaniu materiału. Metody oznaczeń zostały opisane szczegółowo, a zastosowane testy diagnostyczne charakteryzowały się wysoką czułością. Wyniki oznaczeń u chorych porównano z grupą kontrolną, porównano wyniki stężeń badanych parametrów w krwi i w kondensacie powietrza wydychanego, analizowano stosunek stężeń metabolitów argininy do jej całkowitego stężenia. Nie wykazano przydatności wykonanych badań jako markerów astmy dziecięcej. Stężenia argininy i jej metabolitów w krwi i w kondensacie wydychanego powietrza nie korelowały ze stężeniem IL4 i nie potwierdzono ich związku z wynikami badania czynnościowego (wartościami FEV1). Zakres przeprowadzonych analiz obejmował dodatkowo ocenę wpływu atopii, wieku, BMI i stosowania wGKS na wyniki uzyskane w grupie chorych. Tego wpływu nie potwierdzono, ale ostateczne wnioskowanie w tym zakresie powinno uwzględniać nie tylko kategorie jakościowe, ale także ilościowe (np. liczba dodatnich oznaczeń punktowych testów skórnych czy oznaczeń aslgE, współistnienie innych chorób atopowych, dawka wGKS). W dyskusji Doktorantka omawia wyniki wcześniejszych badań dotyczących oznaczeń argininy i jej metabolitów u chorych na astmę. Zwraca uwagę na zróżnicowanie grup chorych, materiału poddanego analizie, metod badania, różne spektrum badanych parametrów. To wszystko tłumaczy rozbieżne wyniki, utrudnia porównania spostrzeżeń i nie pozwala na jednoznaczne wnioskowanie. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością piśmiennictwa, wnikliwością w interpretacji badań innych autorów i badań własnych. Krytycznie odnosi się do dotychczasowych obserwacji i wskazuje na konieczność dalszych badań. W oparciu o przeprowadzone badania Doktorantka sformułowała aż 9 wniosków. Wśród nich najbardziej istotne są wnioski 2, 3 i 4. Piśmiennictwo do tej publikacji jest właściwie dobrane, poprawnie cytowane. Większość została opublikowana w ciągu ostatnich kilkunastu lat. Najwięcej pozycji sprzed 2000 roku cytowanych jest w przygotowanym przez Doktorantkę omówieniu całej rozprawy, czyli łącznym omówieniem obu publikacji przygotowanym w języku polskim.

Podsumowując:

- Doktorantka podjęła się rozwiązania ciekawego i ciągle aktualnego problemu, którego rozwiązanie ma znaczenie poznawcze i potencjalnie mogłoby mieć znaczenie kliniczne, czyli rola argininy i jej analogów



- zaproponowała poprawny model badań – chorzy versus zdrowi, ocena zaburzeń lokalnych i ogólnoustrojowych, uwzględnienie szerokiego spektrum markerów
- wykorzystwała trudną metodę pobierania materiału, i osiągnęła wysoką skuteczność tej metody
- poprawnie zaprezentowała wyników w formie tabel i rycin, dokonała ich wnikliwej analizy : chorzy/zdrowi, krew/kondensat
- opracowany przez Doktorantkę warsztat badawczy może być wykorzystany w dalszych badaniach.

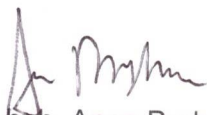
W dyskusji podczas obrony rozprawy poproszę o odpowiedź na następujące pytania:

1. Które z określeń : analogi czy metabolity jest bardziej odpowiednie w odniesieniu do omawianego problemu, czy można je stosować zamiennie?
2. Czy wykonano oznaczenia FENO w powietrzu wydychanym, a jeśli tak jaka była korelacja z przebiegiem astmy i ewentualna korelacja ze stężeniem argininy i jej metabolitów?
3. Czy celowe byłoby przeprowadzenie badań w okresie objawowym - zaostrzenia astmy, utraty kontroli objawów i czy stosowane u większości chorych steroidy mogły mieć wpływ na stężenie argininy i jej metabolizm ?
4. Czy w świetle własnych doświadczeń celowe jest monitorowanie badanych parametrów w czasie ?

Oceniana rozprawa stanowi oryginalny i wartościowy dorobek naukowy. Badania, analiza wyników i ich opracowanie zostały przeprowadzone z dużą starannością. Doktorantka dowiodła dobrego przygotowania do prowadzenia badań naukowych.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z późn. zm.).

Zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. dr hab. Anna Bręborowicz