

Klinika Pneumonologii
Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc OT w Rabce-Zdroju
34-700 Rabka- Zdrój ul. Prof. J. Rudnika 3b
zdoniec@igrabka.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

Lek. Joanny Połomskiej

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

Przedłożona do recenzji praca doktorska Pani lek. Joanny Połomskiej pt.: *„Arginina i jej analogi jako nowe biomarkery oznaczane w surowicy i kondensacie wydychanego powietrza w celu rozpoznania i monitorowania przebiegu astmy oskrzelowej w populacji dziecięcej”* została wykonana w I Katedrze i Klinice Pediatrii, Alergologii i Kardiologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab.n.med. Barbary Sozańskiej, profesora Uczelni.

Autorka w przedstawionej pracy podjęła się realizacji zadania ważnego zarówno z punktu widzenia badawczego jak i klinicznego, bowiem doskonalenie metod rozpoznawania astmy u dzieci oraz jej leczenia pomimo stałego postępu w tym zakresie pozostaje tematem stale aktualnym. Podejrzenie astmy można wysunąć już na podstawie badania podmiotowego a objawy obniżenia drożności oskrzeli w okresie objawowym można zidentyfikować w trakcie badania przedmiotowego, w okresie bezobjawowym badanie lekarskie zazwyczaj nie ujawnia żadnych odchyśleń od stanu prawidłowego. Tradycyjnie wykorzystywane w codziennej praktyce badania czynnościowe pozwalają jedynie pośrednio wnioskować o nasileniu leżącego u podstaw patofizjologicznych astmy przewlekłego stanu zapalnego. Dlatego też naturalną stała się potrzeba opracowania i rozwoju prostych i nieinwazyjnych technik diagnostycznych które stosowanie pozwoliłoby w sposób bezpośredni potwierdzić stan zapalny oraz jego nasilenie w drogach oddechowych pacjenta.

Lek. Joanna Połomska w swojej pracy podjęła się oceny możliwości wykorzystania nieinwazyjnej metody badania kondensatu powietrza wydychanego (*Exhaled breath condensate*, EBC) w rozpoznawaniu i monitorowaniu leczenia astmy u dzieci poprzez badanie argininy i jej analogów oznaczanych w kondensacie i surowicy krwi.

Praca doktorska lek. Joanny Połomskiej została przygotowana w oparciu o cykl publikacji i zawiera następujące rozdziały : wstęp, założenia i cele pracy, materiał i metody, publikacje, podsumowanie wyników , wnioski, piśmiennictwo oraz załączniki. Całość poprzedzona jest streszczeniem w języku polskim i angielskim.

W krótkim wstępie autorka przedstawia założenia teoretyczne założeń swojej pracy których szczegółowe rozwinięcie znalazło się w opublikowanych pracach. Wskazuje na rolę i możliwości badań kondensatu wydychanego powietrza u dzieci chorych na astmę a także znaczenie płuc jako miejsca regulacji metabolizmu argininy w kontekście aktywności syntazy tlenu azotu oraz arginazy, ale też miejsca produkcji i degradacji metyloarginin. W rozdziale „założenia i cel pracy” autorka określiła cele pracy pogładowej : Połomska J, Bar K, Sozańska B. Exhaled Breath Condensate-A Non-Invasive Approach for Diagnostic Methods in Asthma. *J Clin Med*. 2021;10(12):2697. Published 2021 Jun 18. doi:10.3390/jcm10122697 (IF = 4.241), Pkt. MNiSW: 140.00. Celem badania było określenie trudności w diagnostyce i monitorowaniu astmy, ze szczególnym uwzględnieniem populacji dziecięcej, przedstawienie ogólnej charakterystyki metody pozyskiwania kondensatu wydychanego powietrza, krytyczna ocena dotychczas opublikowanych badań składu EBC, proponowanych biomarkerów astmy i ich znaczenia klinicznego oraz przedstawienie perspektywy dalszych badań, które stały się także podstawą pracy doktorskiej.

Celem pracy oryginalnej: Połomska J, Sozańska B. Metabolites of L-ARG in Exhaled Breath Condensate and Serum Are Not Biomarkers of Bronchial Asthma in Children. *J Clin Med*. 2022;11(1):252. Published 2022 Jan 4. doi:10.3390/jcm11010252 (IF = 4,241), Pkt. MNiSW: 140.00., było zbadanie znaczenia aminokwasu L-argininy i jej metylowanych analogów oraz innych wybranych produktów metabolizmu L-argininy jako potencjalnych biomarkerów astmy oskrzelowej u dzieci, porównanie stężeń tych związków chemicznych w różnych materiałach biologicznych, to znaczy w surowicy krwi oraz kondensacie wydychanego powietrza pochodzącym z dróg oddechowych u dzieci chorujących na astmę oraz u dzieci z grupy kontrolnej oraz określenie zależności pomiędzy stężeniem tych związków chemicznych a stężeniem IL-4 w surowicy krwi, czynnością płuc i innymi wybranymi parametrami klinicznymi (wiek, wskaźnik masy ciała, atopia, stosowane leczenie przeciwastmatyczne).

Kolejny rozdział zawiera opis metodologii badania w którym uczestniczyło 65 dzieci w wieku 6-17 lat. Do grupy badanej włączono losowo 37 dzieci z rozpozną astmą oskrzelową atopową lub nieatopową spośród pacjentów Oddziału Klinicznego Alergologii Dziecięcej lub Poradni Przykliniknej Alergologicznej przy I Katedrze i Klinice Pediatrii, Alergologii i Kardiologii UM we Wrocławiu, 28 dzieci nie chorujących na astmę stanowiło grupę kontrolną.

Pozyskiwanie kondensatu wydychanego powietrza przeprowadzano w Pracowni badań czynnościowych Oddziału klinicznego alergologii dziecięcej. W celu uzyskania próbek materiału z płuc u wszystkich pacjentów posługiwano się jednorazowymi urządzeniami Rtube (Respiratory Research, Inc., USA) wg ściśle określonej przez producenta metodologii. Ponadto wykonywano badanie spirometryczne, punktowe testy skórne lub badanie stężenia Immunoglobuliny E specyficznej dla wybranych alergenów. W badaniach krwi oznaczenia IL-4, L-argininę i jej metabolity zgodnie z metodologią producenta zestawów badawczych.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr KB – 554/2017.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu STATISTICA v. 13.3 (TIBCO Software Inc.) i arkusza kalkulacyjnego EXCEL., zastosowano odpowiednio dobrane, poprawne metody statystyczne.

Kolejny rozdział zawiera reprints publikacji autorki, pracy poglądowej i oryginalnej, których podsumowanie znalazło się w rozdziale „ Podsumowanie wyników”. Z przeprowadzonej w pracy poglądowej analizy piśmiennictwa wynika, że mechanizmy patofizjologiczne rozwoju astmy nie zostały dostatecznie wyjaśnione, co potwierdza potrzebę nowych, nieinwazyjnych narzędzi diagnostycznych. Kondensat wydychanego powietrza jest źródłem ponad 200 badalnych substancji, w tym biomarkerów przydatnych w rozpoznawaniu i monitorowaniu choroby.

Z kolei podsumowanie wyników pracy oryginalnej wykazało, że średnie stężenia L-argininy i jej metabolitów ADMA, SDMA, cytruliny, ornityny i DMA w surowicy krwi i kondensacie były podobne w grupie badanej i grupie kontrolnej. Grupy nie różniły się pod względem stężenia IL-4 w surowicy krwi. Stosunki stężeń ADMA/L-arginina, SDMA/L-arginina i DMA/L-arginina były wyższe w kondensacie wydychanego powietrza niż w surowicy krwi zarówno u astmatyków jak i w grupie kontrolnej. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniami L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi i kondensacie a FEV1 czy stężeniem IL-4 w surowicy krwi. Nie wykazano zależności pomiędzy wskaźnikiem masy ciała

a stężeniem L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi i w EBC w grupie astmatyków, podobnie nie stwierdzono różnic u chorych z atopią i bez atopii. Nie stwierdzono również różnic w wartościach stężeń L-argininy i jej metabolitów w surowicy krwi i EBC pomiędzy astmatykami, którzy otrzymywali wziewne glikokortykosteroidy (GKS) oraz tymi, którzy nie otrzymywali wziewnych GKS w okresie poprzedzających 4 tygodni.

Wnioski z publikacji które obejmuje praca doktorska, odpowiadały na szczegółowe pytania badawcze postawione w celach obydwu prac i stanowią powtórzenie wniosków zamieszczonych w obydwu pracach które zostały opublikowane przez autorkę. Wskazują one na przydatność nieinwazyjnej metody badania markerów dostępnych w kondensacie wydychanego powietrza oraz szczególne znaczenie płuc jako narządu biorącego udział w regulacji metabolizmu L-argininy. Badanie wykazało jednak że stężenia L-argininy i jej metabolitów w kondensacie wydychanego powietrza i surowicy krwi nie są biomarkerami astmy u dzieci, nie korelują z czynnością układu oddechowego i stężeniem IL-4 w surowicy krwi, atopią, wskaźnikami rozwoju fizycznego, nie obserwowano również związku z terapią wziewnymi glikokortykosteroidami.

Piśmiennictwo zostało dobrane i zacytowane poprawnie i objęło w pracy 37 pozycji, wybranych spośród 156 pozycji piśmiennictwa które znalazły się w obydwu pracach wchodzących w skład pracy doktorskiej.

Praca liczy 75 stron, zawiera ogółem 10 rozdziałów i została opublikowana w starannej szacie graficznej.

Podsumowanie:

Autorka podjęła się analizy ważnego problemu badawczego i klinicznego. Pytania badawcze zostały sformułowane precyzyjnie i zwięźle. Uzyskane wyniki odpowiadają na pytania badawcze a wnioski powiązane z postawionymi celami pracy.

Uzyskane wyniki mają wysoką wartość poznawczą. Dotychczas brakowało badań dotyczących możliwości oceny metabolizmu aminokwasu L-argininy w astmie w próbkach kondensatu wydychanego powietrza uzyskanych za pomocą tak prostych i jednorazowych zestawów urządzeń jak RTube.

Ponadto dokonano oceny metabolizmu L-argininy w szerokim zakresie metabolitów i jednocześnie w odniesieniu do całej grupy wybranych parametrów laboratoryjnych i klinicznych (IL-4, czynność płuc, wiek dzieci chorujących na astmę, wskaźnik masy ciała,

atopia, stosowane leczenie). Przeprowadzenie analiz laboratoryjnych jednocześnie w surowicy krwi jak i kondensacie wydychanego powietrza i to zarówno w grupie astmatyków i grupie kontrolnej, stanowi uzupełnienie dotychczasowych badań, w których niejednokrotnie brakowało porównań stężeń ogólnoustrojowych i narządowych oraz odniesień wyników uzyskanych w grupie osób chorujących na astmę do grupy kontrolnej.

Przedstawione przez autorkę prace, zarówno pogładowa jak i oryginalna zostały opublikowane w czasopiśmie o wysokiej punktacji IF , co tym bardziej podkreśla wartość uzyskanych wyników.

Wszystkie te elementy pozwalają bardzo wysoko ocenić pracę lek. Piotra Kwiatkowskiego i uznać ją za wnoszącą istotny wkład w nowoczesną wiedzę medyczną.

Dlatego też, uwzględniając wszystkie powyżej przedstawione elementy oceny rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Joanny Połomskiej pt: „*Arginina i jej analogi jako nowe biomarkery oznaczane w surowicy i kondensacie wydychanego powietrza w celu rozpoznania i monitorowania przebiegu astmy oskrzelowej w populacji dziecięcej*” mogę stwierdzić, iż przedstawiona rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn.zm.) w związku z art. 179 ust. i ustawy z dnia 3 lipca 2018r. przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz.1669 z późn.zm.).

W związku z powyższym mam zaszczyt wnosić do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Joanny Połomskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę nowatorski projekt badawczy, wysoką ocenę merytoryczną pracy potwierdzoną publikacjami w renomowanych czasopismach, znaczenie kliniczne zakresu badań i poruszanej tematyki zwracam się do Wysokiej Rady o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji pracy.

33010 dr hab. n. med. Zbigniew Doniec
specjalista pediatra
specjalista chorób płuc i dzieci
Dr hab. n. med. Zbigniew Doniec
alergolog