



Rabka, dn. 28 grudnia 2023



Prof.dr hab.n.med. Henryk Mazurek
Klinika Pneumonologii i Mukowiscydozy
Oddział Terenowy IGiChP
34-700 Rabka – Zdrój
Ul. Prof. Rudnika 3b

VIDI
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
BIURO RADY DYSCIPLINY
NAUKI MEDYCZNE
prof. dr hab. Agnieszka Haloń

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCIPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	04-01-2024
L. dz. RN-BM	26

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lekarz Anny Radlińskiej

pt. *"Porównanie przydatności diagnostycznej ekspresji CD164 i CD63 na powierzchni bazofila w alergii na *Dermatophagoides farinae*"*

Pomimo postępu medycyny, diagnostyka chorób alergicznych jest w dalszym ciągu wyzwaniem. Choć mechanizmy prowadzących do chorób reakcji alergicznych zostały dość dobrze poznane, precyzyjne ustalenie alergenów przyczynowych nadal nie jest łatwe, pomimo powszechnego stosowania metod oznaczeń zarówno *in vivo* (np. testy skórne) jak i *in vitro* (np. pomiar stężenia alergenowo swoistych IgE, asIgE). Żadna z dostępnych na rynku medycznym metod nie cechuje się 100% swoistością ani czułością. Pewność diagnostyczna jest natomiast potrzebna klinicyście dla ustalenia eliminacji kluczowych alergenów z otoczenia, ale szczególnie istotna przy kwalifikacji do immunoterapii swoistej oraz przy ocenie jej efektów.

Z punktu widzenia epidemiologii, najczęstszy mechanizm chorób alergicznych dróg oddechowych (alergicznego nieżytu nosa i astmy) należy do typu I wg Gella i Coombsa, a niewątpliwie najważniejszym źródłem alergenów całorocznie występujących w środowisku są roztocza (zwłaszcza kurzu domowego i mączne). Wspomniane powyżej trudności diagnostyczne dotyczą także ustalania odpowiedzialności tych alergenów w alergicznych schorzeniach dróg oddechowych.

1. Ocena merytoryczna

W kontekście powyższych rozważań **wyбір tematu pracy doktorskiej** przez lekarz Annę Radlińską należy ocenić pozytywnie, jako trafny i oryginalny, głównie w aspekcie poznawczym, choć w przyszłości może mieć aplikacje praktyczne. Podjęcie

tematu przez lek. Annę Radlińską, dokonane w pracy doktorskiej, stwarza szansę na istotne pogłębienie wiedzy tym w zakresie.

Lekarz Anna Radlińska podjęła się próby rozwiązania zawartego w tytule pracy problemu w oparciu o analizę wyników zaprojektowanego i zrealizowanego przez siebie badania. Autorka włączyła do niego grupę 54 dorosłych, z czego grupę badanych stanowiło 28 osób z objawami przewlekłego nieżytu nosa i dodatnim wynikiem testów skórnych, a kontrolną 26 zdrowych z ujemnymi wynikami testów skórnych. U badanych został wykonany komplet badań, obejmujących poza krótkim badaniem kwestionariuszowym punktowe testy skórne, pomiar stężenia asIgE i oznaczenie ekspresji markerów aktywacji bazofila (CD63 i CD164).

U wszystkich badanych liczba aktywowanych bazofilów w próbkach niestymulowanych była niska, podobnie jak średni poziom aktywacji bazofilów w teście z CD63 i CD164 w grupie zdrowych. W badanej grupie w wyniku stymulacji swoistej zaobserwowano znamienne (względem grupy kontrolnej) wzrost liczby komórek CD63 i CD164 dodatnich – zwłaszcza dla najwyższego stężenia alergenu. Dla BAT z CD164 osiągnięto czułość 92,3% przy swoistości 100% dla punktu odcięcia 7,29%, Dla BAT z CD63 osiągnięto czułość 80,8% przy swoistości 100% dla punktu odcięcia 8,84%. Zastosowanie obu markerów tylko nieznacznie poprawiło czułość (do 92,8%) w porównaniu z użyciem tylko CD164 (92,3%). Autorka podsumowała, że BAT z oceną ekspresji CD164 ma wysoką wartość diagnostyczną – porównywalną z badaniem stężenia asIgE i oceną ekspresji CD63. Połączenie testów z użyciem obu badanych markerów aktywacji bazofila nie poprawia istotnie trafności diagnostycznej, w przeciwieństwie do łącznego użycia BAT z CD164 i oznaczenia asIgE, które pozwoliło uzyskać 100% czułość i swoistość.

Warto podkreślić, że praca ta stanowi pierwsze bezpośrednie porównanie dwu markerów aktywacji bazofila – CD63 i CD164. Dla mnie najważniejszym wynikiem pracy lekarz Annę Radlińską jest wykazanie przy użyciu testów BAT, że optymalny punkt odcięcia dla oznaczeń asIgE powinien się znajdować prawdopodobnie na poziomie 0,24 kU/l, a nie przyjmowanym zwykle 0,35 kU/l.

Aż 64,3% grupy badanej było jednak w trakcie lub po zakończeniu immunoterapii swoistej (str.47), co mogło wpłynąć na wyniki badania reaktywności

bazofili. U 3 osób stwierdzono ujemny wynik oznaczenia asIgE (str.53), co mogło być z tym powiązane, zwłaszcza, że na stronie 95 Autorka pisze o możliwej redukcji wrażliwości bazofili w następstwie immunoterapii swoistej (ITA). W tym kontekście nasuwają się pytania na które nie znalazłem odpowiedzi w tekście pracy: czy wszystkie 3 osoby z fałszywie ujemnym oznaczeniem asIgE były poddawane ITA? Czy oceniane były różnice w wynikach BAT pomiędzy grupami osób poddanych i nie immunoterapii?

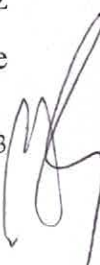
Niezbyt precyzyjny jest opis kryterium dodatniego wyniku testów skórnych, jako wielkość bąbla o „wymiarze równym lub większym w stosunku do kontroli dodatniej, czyli co najmniej 3 mm” (str.48). Już w następnym zdaniu Autorka stwierdza, że „U wszystkich uczestników badania średnia średnica bąbla histaminowego była większa niż 3 mm ...”, podając dalej, że zawarte były one między 4,0 a 7,5 mm. Reakcje skórne z alergenami roztoczy dały wynik pomiędzy 4 a 11 mm. Pytanie: czy byli pacjenci z reakcją na alergeny roztoczy mniejszą niż średnicą bąbla histaminowego i jak była ona wówczas interpretowana?

Autorka trochę życzeniowo podsumowała na stronie 95, że BAT ...”ma obecnie ugruntowaną pozycję w diagnostyce nadwrażliwości IgE-zależnej.” Na str. 107 pisze też, że BAT ma wiele cech idealnego biomarkera, wymienia jednak jako problematyczne zróżnicowanie metodologiczne pomiędzy laboratoriami, choć nie wspomina o jego ograniczonej dostępności i kosztach oznaczenia.

Rozważania na str.93 o ryzyku prób prowokacyjnych z alergenem odnoszą się do alergenów pokarmowych (jak wynika z przytoczonego piśmiennictwa), co jednak nie zostało zaznaczone w tekście.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na to, że pomimo widocznej staranności przy opracowaniu edycji tekstu, zdarzyły się nieliczne błędy redakcyjne. W ferworze pracy uwadze Autorki umknęło nieprecyzyjne sformułowanie na stronie 6: (choroby alergiczne) ... są chorobami cywilizacyjnymi o najwcześniejszym początku czy źle widziane przez polonistów ...dedykowanego głównie bazofilom... (str: 21).

Są też pojedyncze błędy literowe (np. str.16: wystraczajaca, str: 23 z alergia ...; 41: ... przyczyna..., 88: osiągnięcia). Niewłaściwe jest też zamienne

3 

używanie kropki i przecinka jako odcięcia liczb całkowitych od ułamkowych (np. str.85). Niezrozumiałe jednostki stężenia alergenów roztoczy podane są w tab. 39 (lg/ml, prawdopodobnie powinno być $\mu\text{g}/\text{mL}$), podobnie jak niesystematycznie stosowany jest skrót litra (L lub l).

Mylne jest odwołanie do ryciny 54 (zamiast 53) na str. 85, a tabela 33 zawiera dane już podane wcześniej (w tab. 30 i 31). W spisie skrótów nie wszystkie nazwy angielskie przetłumaczono na język polski (np. *D.pteronyssinus*, *D.farinae*, WAO).

2. Ocena metodologiczna

Skrypt pracy lek. Anny Radlińskiej na stopień doktora nauk medycznych składa się ze 104 stron tekstu zasadniczego, podzielonego na rozdziały w sposób obowiązujący w opracowaniach naukowych, tj.: *Wstęp – Cel pracy – Materiał i metody – Wyniki badań – Dyskusja – Wnioski*, co jest przejrzyste zestawione w *Spisie treści*. Dodatkowo znajdujemy umieszczony na początku *Wykaz najważniejszych skrótów*. *Wykaz Piśmiennictwa* stanowi zestawienie 153 pozycji, ułożonych jest w kolejności cytowania. Ponadto w pracy znajduje się 39 tabel i 53 ryciny, umieszczone w sposób ciągły w strumieniu tekstu, co ułatwia zapoznawanie się z pracą. *Streszczenie pracy* stanowi uzupełnienie tekstu dysertacji, reasumując najistotniejsze elementy opracowania (podobnie jak *Summary* w języku angielskim). W zewnętrznej ocenie formy skryptu doktorskiego z przyjemnością można pochwalić jego przejrzysty układ oraz staranne wydanie pracy.

Rozsądnej objętości *Wstęp* sprawnie wprowadza w przedstawiane zagadnienie i daje sposobność do racjonalnego wywodu celu badania. Jego długość wynosi 19% całej pracy. *Cel pracy* jest przedstawiony w formie uogólnionego wiodącego zamierzenia i dwu zadań szczegółowych, wymienionych w punktach.

Przykładnie treściwy a zarazem dostatecznie szczegółowy jest opis *Materiału i metod badań*, zajmujący 18% pracy. Prezentacja *Wyników badań* zajmuje 40% pracy. Następująca po nich *Dyskusja* jest krótsza (19%) od wyników, ale nie w stopniu budzącym formalne zastrzeżenia. Oprócz celu, pozostałe części pracy są podzielone na podrozdziały, co zwiększa przejrzystość prezentacji.

Wnioski stanowią odpowiedź na szczegółowe pytania wymienione w celu pracy, przy czym odpowiedź na drugi cel szczegółowy została rozdzielona na dwie wnikliwie konkluzje.

Streszczenie ułatwia szybkie zapoznanie się z najistotniejszymi fragmentami treści pracy, przed przystąpieniem do uważnego jej studiowania. Nic co ważne w pracy nie zostało w tym streszczeniu pominięte.

Hipotezy badawcze pracy są dobrze sformułowane, a grupa badanych została dobrze dobrana do analizowanego zagadnienia, z wyraźnym rozróżnieniem *a priori* grup osób z alergią i bez niej. Jednak w związku z tym rozważania na str. 91 o czułości i swoistości testów skórnych wynoszącej 100% zawierają błąd logiczny, ponieważ to właśnie wynik testów skórnych był podstawą podziału na grupy badaną i kontrolną.

Narzędzia badawcze są dobrze dobrane. Opis zastosowanych metod do statystycznej analizy danych jest zwięzły, ale wystarczająco precyzyjny. Zastosowane przez Autorkę metody statystyczne są należycie dobrane, a wyniki analiz przedstawione czytelnie. Rozważania na str. 55 o problemach wyboru punktu odcięcia są jak najbardziej słuszne, ale powinny znaleźć się w Dyskusji.

Rozkład badanych wg wieku przedstawiony na histogramach (str. 30) wydaje się skośny i Autorka słusznie użyła do porównań testu U Manna – Whitneya, choć w opisie grup posługuje się średnią i odchyleniem standardowym, co jest poprawne w przypadku rozkładu normalnego. Skoro analiza rozkładu wykazywała w większości przypadków rozkład rozbieżny z normalnym (str.69), w opisie powinna być stosowana mediana i przedział (rozstęp) międzykwartylowy. Niespójne są informacje o braku normalności rozkładu, podanej tekstem na str.59 a danymi tabeli 19: AII w teście aktywacji bazofila z CD164 w grupie badanej (wg tekstu niezgodny, wg tabeli: zgodny) i AII w teście aktywacji bazofila z CD164 w grupie kontrolnej (tekst zgodny, tabela: niezgodny).

Szczegółowa analiza i omówienie uzyskanych wyników stanowią ważną część dysertacji. Zwięzła dyskusja omawia własne spostrzeżenia w porównaniu z dostępnymi danymi z literatury medycznej przedmiotu. Autorka przedstawia możliwe interpretacje uzyskanych wyników, zwracając uwagę na potencjalne przyczyny

rozbieżności wyników uzyskiwanych przez różnych autorów. Przeprowadzone przez Autorkę rozumowanie jest przekonujące, a dyskusja z innymi badaczami dokonywana logicznie i z dużą swobodą, co świadczy o dogłębnej znajomości naukowych podstaw zagadnienia i nabyciu umiejętności krytycznego rozumowania. Autorka zwraca w niej uwagę na ważne praktyczne problemy, związane z diagnostyką alergologiczną.

Sformułowane przez Autorkę wnioski mają duże znaczenie poznawcze i praktyczne.

Zestawione w *Piśmiennictwie* pozycje są cytowane w stosownych fragmentach tekstu, co świadczy o ich rzeczywistym wykorzystaniu. Są to zarówno pozycje w języku angielskim jak i nieliczne publikacje polskojęzyczne, ułożone w kolejności cytowania. Spośród cytowanych 153 pozycji piśmiennictwa z lat 1964 – 2022, 32 pozycje zostały opublikowane w latach 2018 – 2022. Autorka uwzględniła także 5 stron internetowych, w związku z czym źródła z ostatnich 5 lat stanowią 24% piśmiennictwa.

Wspomniane powyżej niewielkie usterki redakcyjne w żaden sposób nie umniejszają merytorycznej wartości pracy doktorskiej Pani Anny Radlińskiej. Nieliczne zastrzeżenia dotyczą szczegółów redakcji pracy łatwych do skorygowania, lub które mogą być wyjaśnione w trakcie obrony pracy. Uważam, że lekarz Anna Radlińska w przedstawionej dysertacji doktorskiej wykazała dobre przygotowanie do pracy naukowej i dowiodła posiadania umiejętności samodzielnego rozwiązywania zagadnień. Praca lekarz Anny Radlińskiej zatytułowana „*Porównanie przydatności diagnostycznej ekspresji CD164 i CD63 na powierzchni bazofila w alergii na Dermatophagoides farinae*” jest przeze mnie oceniona pozytywnie, ponieważ wnosi informacje ważne dla nauki i praktyki klinicznej, a recenzowana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 ust. 1 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.).

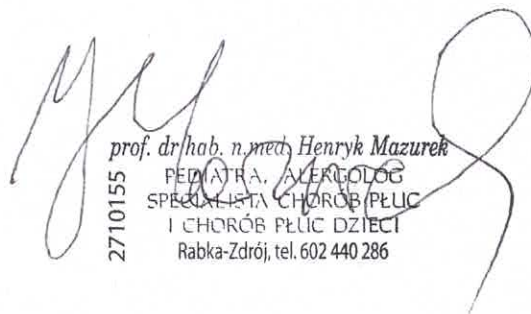
Przedstawione wyniki tych badań zasługują na publikację, do czego doktorantkę zachęcam.



Z wymienionych przyczyn **przedkładam** Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lekarz **Anny Radlińskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab.n.med. Henryk Mazurek,

Kierownik Kliniki Pneumonologii i Mukowiscydozy
OT IGiChP w Rabce – Zdrój



2710155
prof. dr hab. n. med. Henryk Mazurek
PEDIATRA, ALERGOLOG
SPECJALISTA CHOROBY PŁUC
I CHOROBY PŁUC DZIECI
Rabka-Zdrój, tel. 602 440 286

064/100036

INSTYTUT GRUŹLICY I CHOROBY PŁUC
Oddział Terenowy w Rabce-Zdrój
KLINIKA PNEUMONOLOGII I MUKOWISCYDOZY
Oddział Pneumonologii
34-700 Rabka-Zdrój, ul. Profesora Rudnika 3B
tel. 18 26 76 060 wew. 322
00000018616 11 050
REGON 000288490-00037