

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	13-03-2024
L. dz. RN-BM/	388

Warszawa, 8.03.2024 r.

## OPINIA

**o pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. Agnieszki Kopeć  
pt. „Stężenie tryptazy, markera aktywności mastocyta w przewlekłej  
obturacyjnej chorobie płuc”**

WTDI:  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE  
Przewodnicząca  
Agnieszka Halon  
prof. dr hab. Agnieszka Halon

Przedstawiona do recenzji praca na stopień doktora nauk medycznych liczy 88 stron zawierających następujące części:

1. Stronę tytułową,
2. Podziękowania,
3. Spis treści,
4. Wykaz tabel (IX) i rysunków (12),
5. Wstęp,
6. Cele pracy (1 cel główny i 3 cele szczegółowe),
7. Materiał i metody,
8. Wyniki,
9. Dyskusja,
10. Wnioski (4),
11. Streszczenie,
12. Summary,
13. Piśmiennictwo (178 pozycji).

W pracy Doktorantka używała dużo skrótów. Uważam, że celowe byłoby zamieszczenie ich zestawienia na początku, by ułatwić czytelnikowi lekturę pracy.

Temat pracy dotyczący POChP uważam za aktualny i bardzo trafny ponieważ dotyczy on choroby, która obecnie jest zaliczana do istotnych schorzeń z punktu widzenia zdrowia publicznego. Choruje na nią ponad 10% dorosłych na świecie, co np. w Polsce przekłada się na 2 mln chorych w populacji powyżej 40 roku życia. Wśród przyczyn zgonów na świecie, POChP plasuje się wysoko, na trzecim miejscu. Współczesne strategie profilaktyczno-lecznicze nie są w stanie zahamować obserwowanego w skali globalnej stałego wzrostu zachorowań na POChP. W ujęciu indywidualnym, strategie lecznicze mają też ograniczoną siłę działania i u dużej części chorych nie są w stanie zapobiec progresji choroby, której patogenezą nie jest do końca poznana. Od lat podkreśla się rolę zapalenia dróg oddechowych rozwijającego się w wyniku wdychania

dymu tytoniowego oraz innych szkodliwych pyłów i gazów oraz fakt, że w złożonym mechanizmie zapalenia w POChP uczestniczy wiele komórek będących źródłem różnych prozapalnych cytokin, chemokin, mediatorów stresu oksydacyjnego i enzymów proteolitycznych, których działanie wywołuje i podtrzymuje proces zapalny oraz destrukcję anatomiczną dolnych dróg oddechowych, prowadząc do przebudowy i nieodwracalnego ich zwężenia. Od dawna w tych procesach duże znaczenie przypisuje się takim komórkom jak neutrofile i makrofagi, ale w ostatnich latach potwierdzono też udział wielu innych wyspecjalizowanych komórek, jak eozynofile, komórki supresorowe pochodzenia szpikowego (MDSCs), komórki wydzielnicze układu oddechowego (RASCs) i w pojedynczych badaniach również mastocyty. Praca Doktorantki wychodząc poza główne nurty współczesnych naukowych analiz dotyczących POChP, odnosi się do problemów patogenezy tej choroby, a zwłaszcza udziału mastocytów w tym procesie.

We wstępie liczącym 24 strony, Doktorantka przedstawiła aktualną wiedzę na temat mastocytów zaczynając od ich morfologii i dojrzewania, mechanizmów zasiedlania tkanek przez te komórki i ich lokalizacji w tkankach. Podała współczesne zasady klasyfikacji mastocytów oraz omówiła mechanizmy aktywacji tych komórek, zarówno IgE-zależnej jak i IgE-niezależnej podkreślając znaczenie w tym procesie różnych receptorów oraz mediatorów. Przedstawiła dane z z badań *in vitro* i *in vivo* na modelach zwierzęcych POChP wskazujące na możliwość udziału mastocytów w patogenezie POChP, poprzez udokumentowany ich wpływ na takie procesy, jak remodeling, włóknienie i angiogeneza dróg oddechowych, Wśród mediatorów mastocytów skoncentrowała się na znaczeniu tryptazy mastocytarnej, enzymu proteolitycznego uznanego obecnie za biomarkera aktywacji mastocytów podkreślając, że może on odgrywać znaczącą rolę w patogenezie wielu chorób z udziałem tych komórek, a jak wskazują dotychczasowe, wstępne prace dokumentujące związek aktywności tryptazy z parametrami funkcji płuc (FEV1), może to dotyczyć również POChP. W ostatnim czasie wykazano, że u myszy uszkodzenie płuc wywołane dymem tytoniowym może być uwarunkowane działaniem tryptazy mastocytów aktywowanych działaniem jednego z receptorów toll-podobnych (*Toll-like receptor 7*). Te i inne przedstawione we wstępie fakty uzasadniały, słuszny moim zdaniem, pogląd Doktorantki o celowości podjęcia dalszych badań nad rolą mastocytów w POChP z wykorzystaniem tryptazy, jako markera aktywacji tych komórek ocenianego u pacjentów nie tylko w surowicy ale także równolegle w indukowanej plwocinie.

Na podstawie tej wiedzy Doktorantka w swej dysertacji sformułowała:

1. Cel główny – ocena stężenia tryptazy, markera aktywności mastocytów, w surowicy i plwocinie chorych w różnych stadiach zaawansowania POChP
- oraz 4 cele szczegółowe:

- Analiza związku między stężeniem tryptazy w surowicy i w płwocinie a wybranymi parametrami klinicznymi POChP.
- Ocena zależności między stężeniem tryptazy w surowicy i w płwocinie a wybranymi parametrami funkcji płuc.
- Ocena korelacji między stężeniem tryptazy w surowicy i w płwocinie pacjentów z POChP a parametrami systemowego stanu zapalnego.

W celu realizacji tych badań Doktorantka zaplanowała wykonanie oznaczeń w 2-ch precyzyjnie określonych grupach badanych, którzy ukończyli 40 lat. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Zgoda nr 376/2005). Pierwsza z tych grup to 51 pacjentów chorych na POChP rozpoznaną na podstawie kryteriów wg stanowiska GOLD, którzy spełniali dodatkowe kryteria włączenia, tzn. w okresie ostatnich 3 miesięcy nie mieli zaostrzeń choroby, nie stosowali systemowych glikokortykosteroidów oraz nie występowały u nich ciężkie choroby systemowe, jak również objawy kliniczne pierwotnych zespołów aktywacji mastocytów. Druga z nich to grupa kontrolna 18 osób zdrowych, które w okresie ostatnich 3 miesięcy nie przebyły ostrej infekcji, nie chorowały na inne ciężkie choroby i również nie miały objawów klinicznych pierwotnych zespołów aktywacji mastocytów, a wynik ich badania spirometrycznego był prawidłowy. Wszystkim badanym wykonano pomiary antropometryczne, spirometrię spoczynkową, a w grupie POChP także spirometrię po podaniu leku rozkurczowego. Wszystkim też pobrano krew do oznaczenia stężenia tryptazy w surowicy oraz oznaczono parametry morfologii krwi i stężenie CRP. Również u wszystkich wykonano indukcję płwociny by uzyskać materiał do badania stężenia tryptazy pochodzący z narządu, w którym toczy się proces chorobowy. Do analizy danych użyto pakietu statystycznego STATISTICA 13.1. Moim zdaniem przyjęty model badawczy był przejrzysty, kryteria włączenia do badań, podział badanych na grupy, użyte metody i badane parametry oraz opracowanie statystyczne nie budzą zastrzeżeń.

Uzyskane wyniki zostały przedstawione przejrzysto w 9 tabelach i graficznie na 12 rycinach, które omówiono w tekście.

Doktorantka nie stwierdziła istotnych różnic średniego stężenia surowiczej tryptazy między obu badanymi grupami, jak również związku surowiczych stężeń tryptazy z parametrami spirometrycznymi badanych. Nie stwierdziła też związku między stężeniem tryptazy w indukowanej płwocinie a parametrami funkcji płuc u osób zdrowych.

Stwierdziła natomiast, że stężenie tryptazy w indukowanej płwocinie w grupie POChP w porównaniu do grupy osób zdrowych, było blisko 2 razy wyższe. W podgrupie chorych na POChP z CRP > 10 mg/l stężenie tryptazy w indukowanej płwocinie było istotnie wyższe niż w podgrupie CRP < 10 mg/l oraz blisko dwukrotnie wyższe w podgrupie z FEV1 pre < 1,5 l w porównaniu z podgrupą FEV1 pre > 1,5 l. W grupie POChP stwierdziła też ujemną korelację

między stężeniami tryptazy w indukowanej plwocinie a wartościami wskaźników FEV1/FVC pre i stopniem nasilenia obturacji (FEV1). Nie wykazała istnienia zależności między stężeniem tryptazy w indukowanej plwocinie a parametrami klinicznymi POChP takimi jak: wywiad co do palenia tytoniu, nasilenie objawów oraz liczba zaostrzeń POChP.

W krótkiej 6-cio stronicowej dyskusji Doktorantka wyczerpująco odniosła się do uzyskanych wyników w świetle danych literatury (178 pozycji). Podkreśliła też, że ma świadomość wielu ograniczeń wnioskowania jakie wynikały z przyjętych przez nią założeń przeprowadzonego badania, takich jak stosunkowo mała liczba badanych, jednoośrodkowy charakter badań, retrospektywna ocena pacjentów, wąski zakres parametrów klinicznych i laboratoryjnych. Uważam to za godny pochwały wyraz krytycznego sceptycyzmu, który powinien zawsze towarzyszyć analizie wyników badań, świadczący o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Jednak mimo tych „wad”, wynikających w części z obiektywnych uwarunkowań, moim zdaniem, wyniki jej pracy w pełni uzasadniają wnioski:

1. Podwyższone stężenia tryptazy mastocytarnej w plwocinie (pBT) u pacjentów z POChP mogą wskazywać na bezpośredni lub pośredni udział mastocytów w przebiegu tej choroby.
2. Związek podwyższonego stężenia pBT w grupie POChP z istotnie podwyższonym CRP (> 10 mg/l) sugeruje relacje pomiędzy zapaleniem systemowym, a zapaleniem lokalnym w zakresie dróg oddechowych w tej chorobie.
3. Ujemna korelacja pomiędzy pBT i odpowiedzią na lek rozkurczowy wskazuje na gorszą odpowiedź oskrzeli na podstawowe leki stosowane w terapii POChP
4. Wyniki badania wskazują na zasadność poszerzenia badań w różnych fenotypach POChP i różnych stadiach zaawansowania choroby.

Uważam także, że wyniki badań Doktorantki są interesujące również z innych względów. Potwierdzają pogląd, że w przypadku choroby jaką jest POChP dominują lokalne procesy zapalne w płucach za co w znaczący sposób odpowiadają mastocyty. Doktorantka udowodniła też, że w takiej sytuacji indukowana plwocina jest materiałem zapewniającym lepszy wgląd w mechanizmy patogenetyczne tak uwarunkowanego lokalnego zapalenia zależnego od mediatorów niż krew. Warto ten ostatni fakt mocniej podkreślać, bo takie podejście lepiej przybliży nas do właściwego rozumienia zawłości patogenetycznych nie tylko POChP ale i wielu innych chorób.

Praca napisana jest ładną polszczyzną, cechuje ją uporządkowanie, konkret i zwięzłe formułowanie myśli.

Podsumowując uważam, że Doktorantka z powodzeniem zrealizowała założone cele pracy. Podjęła aktualny temat, udowodniła bardzo dobrą znajomość poruszanych trudnych problemów oraz wykazała się opanowaniem racjonalnej metodologii planowania badań klinicznych z

zastosowaniem nowoczesnego laboratoryjnego warsztatu badawczego do badań materiału jakim jest indukowana płwocina. Umiejętności te pozwoliły jej na pomyślne zrealizowanie postawionych celów poznawczych, co niewątpliwie wzbogaciło oryginalną współczesną wiedzę na temat patogenezы POChP i wskazuje kierunki dalszych badań.

Dlatego podsumowując uważam, że lek. Agnieszka Kopeć przedstawiając swą dysertację pt. „Stężenie tryptazy, markera aktywności mastocyta w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc”, spełniła merytoryczne, zwyczajowe i formalne warunki dla uzyskania stopnia doktora nauk medycznych 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.]

**Wobec tego mam zaszczyt wystąpić do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu z wnioskiem o dopuszczenie lek. Agnieszki Kopeć do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony pracy.**

**Uważam też, że z uwagi zawarte w recenzji pozytywne stwierdzenia rozprawa doktorska lek. Agnieszki Kopeć pt. „Stężenie tryptazy, markera aktywności mastocyta w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc” zasługuje na wyróżnienie.**

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Kruszewski

konsultant Kliniki Chorób Wewnętrznych,  
Infekcyjnych i Alergologii  
Centralnego Szpitala Klinicznego MON  
Wojskowego Instytutu Medycznego - PIB

prof. dr hab. n. med. Jerzy KRUSZEWSKI