



Warszawa, 15.01.2020.

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Szymczak-Pajor
pt. „Znaczenie 1,25(OH)₂D₃ w regulacji ekspresji genów fosfolipaz A₂
zaangażowanych w molekularne podłoże
astmy oskrzelowej”**

Moją recenzję pragnę zacząć od gratulacji zarówno dla promotora, jak i dla doktorantki, a to za przyczyną bardzo ambitnego tematu dysertacji, którą miałem przyjemność recenzować.

Choroby alergiczne nazywane są „epidemią XXI wieku”, stając się jednymi z najczęstszych problemów zdrowotnych. Wśród nich astma oskrzelowa jako choroba przewlekła, ma ogromny wpływ na codzienne życie pacjentów, ich komfort i jakość życia oraz pociąga ogromne skutki ekonomiczne. Poszukiwanie sposobów łagodzenia choroby, jej skutków oraz polepszenia rokowania ma fundamentalne znaczenie. Pomimo ogromnego postępu wiedzy medycznej, na wiele pytań odnośnie patomechanizmów rozwoju i naturalnego przebiegu astmy nie mamy odpowiedzi. W tym kontekście przedstawiona do recenzji praca podejmuje istotny aspekt znaczenia 1,25(OH)₂D₃ w regulacji ekspresji genów istotnych w molekularnym podłożu astmy oskrzelowej. W praktyce wyniki pracy mogą rzucić światło na zasadność suplementacji witaminy D₃ w celu zapobiegania zaostrzeniom choroby.

Rozprawa liczy 104 strony druku, z czego zasadniczy tekst stanowi 71 stron. Pozostałą część zajmują spis treści, wykaz używanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz graficzne, spis piśmiennictwa obejmujący 280 (!) pozycji, w przeważającej części nowe, anglojęzyczne. Dobór piśmiennictwa świadczy o właściwym przygotowaniu teoretycznym autorki.

Układ pracy jest typowy. W problematykę przedstawionej do opinii pracy wprowadza ciekawie napisana, przejrzysta 25 stronicowa „Część teoretyczna”. Podzielona jest ona na 5 podrozdziałów, z których każdy w wyczerpujący sposób

wyjaśnia metabolizm, rolę i mechanizm działania witaminy D₃, nadrodziny fosfolipaz A₂, ubikwityny C (UBC) oraz czynnika transkrypcyjnego NF-κB.

„Część eksperymentalna” zawiera: Założenia, Cele pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusję i Wnioski.

Trzy cele pracy wynikające ze sformułowanych założeń przedstawiono prosto i jasno. Objęły one analizę wpływu 1,25(OH)₂D₃ na regulację ekspresji genów fosfolipaz A₂ zaangażowanych w molekularne podłoże astmy oskrzelowej oraz znaczenie UBC oraz NF-κB w tej regulacji. Cele te zdecydowały o szerokim zakresie pracy i konieczności zaangażowania ogromnego wysiłku ze strony doktorantki.

Praca nie budzi zastrzeżeń od strony planu badań, materiału (ludzka mastocytarna linia komórek LUVA), zastosowanej metodologii, doboru metod laboratoryjnych. Opis metodyki jest przejrzysty. Duży podziw budzą perfekcyjnie przeprowadzone badania laboratoryjne według nowoczesnych zaawansowanych technik analiz: ekspresji genów na poziomie mRNA (Real-Time PCR), ekspresji białka (immunobloting), aktywności enzymatycznej fosfolipaz, stężeń wytwarzanych eikozanoidów (test ELISA). Wszystkie eksperymenty powtórzono 3- lub 5-krotnie.

Ta metodologia pozwoliła uzyskać wiarygodne wyniki, które poddano drobiazgowej analizie statystycznej przy użyciu metod właściwych dla tego typu badań (test t-Studenta, U Manna-Whitney'a, W Shapiro-Wilka, Levene'a, ANOVA).

Wyniki przedstawiono w formie opisowej i wykresów. Moim zdaniem do prezentacji wyników zamiast długiego, nie całkiem czytelnego tekstu można by użyć tabel.

Omówienie, zajmujące 10 stron, jest bardzo wnikliwe, zawiera szeroką dyskusję nie tylko uzyskanych danych, ale także odniesienia do wyników innych autorów. Jest ono dowodem nie tylko umiejętności logicznego, bardzo syntetycznego myślenia doktorantki, ale również pokazuje pragmatyczne podejście w wykorzystaniu wyników i określenia kierunków ewentualnych dalszych badań.

Pracę kończy 5 wniosków odpowiadających założonym celom pracy. Są one sformułowane w sposób właściwy i mają poparcie w uzyskanych wcześniej

wynikach. Badanie sugeruje, że witamina D₃ nie ma efektów jednokierunkowych, a jej działanie w szlakach procesów zapalnych może być pro- i przeciwzapalne. To tłumaczy niejednoznaczne wnioski innych badań klinicznych o roli suplementacji witaminy D₃ w zapobieganiu zaostrzeniom astmy. To niestety, dla mnie jako klinicysty i praktyka, nie są dobre informacje.

Jak wynika z mojej recenzji, autorka w pełni zrealizowała postawione cele, a wnioski mają znamiona odkrywczych. Nie mam merytorycznych uwag do przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej. Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów stylistycznych i edytorskich (np. niezrozumiały wybór i umieszczenie w spisie tylko niektórych skrótów użytych w tekście).

Podsumowując, uważam, że mgr Izabela Szymczyk-Pajor wykonała badania wnoszące ważny wkład do współczesnej wiedzy na temat molekularnych mechanizmów astmy oskrzelowej i znaczenia w tym procesie witaminy D₃. Doktorantka udowodniła bardzo dobrą znajomość piśmiennictwa dotyczącego poruszanych, trudnych problemów oraz wykazała się opanowaniem racjonalnej metodologii badań naukowych z zastosowaniem bardzo nowoczesnego laboratoryjnego warsztatu badawczego. Umiejętności te pozwoliły jej na zrealizowanie postawionych celów o charakterze poznawczym. Dlatego uważam, że przedstawiona mi do oceny praca mgr Izabeli Szymczak – Pajor pt. „Znaczenie 1,25(OH)₂D₃ w regulacji ekspresji genów fosfolipaz A₂ zaangażowanych w molekularne podłoże astmy oskrzelowej” spełnia wszystkie merytoryczne wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Jednocześnie uważam, że badanie, jego cele, metodologia oraz zaangażowanie i wkład pracy doktorantki korzystnie odbiegają od poziomu tego typu prac i zasługuje na szczególne wyróżnienie. Wobec tego, mam zaszczyt wystąpić do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie mgr Izabeli Szymczak-Pajor do dalszych etapów przewodu doktorskiego i publicznej obrony.

Kierownik
II Kliniki Pediatrii
Centrum Medycznego Kształcenia Poddyplomowego

dr hab. n. med. Adam Sybiński, prof. CMKP