



Warszawa dnia 02.09.2023r.

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Joanny Jeruzal-Świąteczkiej „Rola receptora smaku gorzkiego TAS2R38 w przewlekłym zapaleniu zatok przynosowych z polipami nosa”.

Przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok dotyczy od 10 do 16% populacji ogólnej w Europie i Ameryce Północnej. Choroba stanowi istotne obciążenie dla jakości życia pacjentów, a także dla systemów opieki zdrowotnej. Pomimo nakładu wysiłków w ciągu ostatnich dziesięcioleci patofizjologia przewlekłego zapalenia zatok nadal nie jest całkowicie wyjaśniona. Obecnie uważa się, że etiologia choroby jest wieloczynnikowa, nadal jednak rola większości czynników nie została definitywnie udowodniona. W ostatnich latach receptory smaku gorzkiego, w tym receptor TAS2R38, zaproponowano jako markery wnoszące informację do patofizjologii przewlekłego zapalenia zatok przynosowych. Potwierdzono ekspresję receptorów w rzęskowych komórkach nabłonka zatok przynosowych oraz ich wpływ na klirens śluzowo-rzęskowy. Wykazano również aktywację receptorów przez antygeny bakterii Gram-ujemnych i wpływ na patogenność tych drobnoustrojów. Uważa się, że receptory te mogą warunkować wrodzoną odporność błony śluzowej nosa i zatok. Doktorantka, w oparciu o dotychczasowe, obiecujące ustalenia sprawdziła, w jaki sposób różne genotypy w locus *TAS2R38* były reprezentowane w prospektywnie wybranej polskiej populacji z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami i grupie kontrolnej. Zbadła również korelację między genotypami *TAS2R38*, a cechami klinicznymi. Zweryfikowała ekspresję receptorów TAS2R38 u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami i porównała do grupy kontrolnej oraz zestawiała z parametrami oceny klinicznej. Podjęty temat uważam za celowy i uzasadniony.

Przedłożona do oceny praca doktorska lek. Joanny Jeruzal-Świąteczkiej obejmuje 103 strony z 5 tabelami i 11 rycinami. Spis piśmiennictwa obejmuje 176 pozycji, w tym prawie wszystkie anglojęzyczne. Praca ma typowy układ rozprawy doktorskiej i składa się z 6 głównych rozdziałów. Doktorantka w 22-stronicowym wstępie wyczerpująco przedstawia najważniejsze zagadnienia związane z tematem pracy.

Omawia aktualne definicje i obowiązujące klasyfikacje przewlekłego zapalenia zatok przynosowych. Prezentuje dane epidemiologiczne, a także poznane oraz przypuszczalne uwarunkowania etiopatologiczne. Koncentruje się szczegółowo na zaprezentowaniu poznanej dotychczas roli receptorów smaku gorzkiego w patogenezie chorób układu oddechowego. Bardzo czytelnie opisuje mechanizmy molekularne związane z aktywacją receptorów, dodatkowo przedstawiając szlaki aktywacji na precyzyjnych rycinach. Omawia opisane dotychczas w literaturze polimorfizmy genu dla receptora TAS2R28 oraz ich wpływ na warianty budowy molekularnej i możliwe zestawienia haplotypów.

Podsumowując ocenę tej części pracy stwierdzam, że Doktorantka przejrzyście i wyczerpująco przedstawiła aktualną wiedzę i wyzwania związane z patofizjologią przewlekłego zapalenia zatok przynosowych, a zwłaszcza zaprezentowała bieżącą wiedzę na temat roli receptorów smaku gorzkiego w tej patologii. Świadczy to o doskonałej orientacji Doktorantki w opracowanym temacie, popartej licznymi cytowaniami.

W dalszej części Autorka określa założenia swojego badania, uszczegóławiając go w formie 5 celów pracy:

1. Próba identyfikacji wariantów polimorficznych genu *TAS2R38* kodujących receptor smaku gorzkiego *TAS2R38* w badanej grupie pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami nosa oraz w grupie kontrolnej zdrowych ochotników.
2. Określenie związku między rozkładem wariantów polimorficznych genu *TAS2R38* a występowaniem przewlekłego zapalenia zatok z polipami nosa
3. Ocena związku między rozkładem wariantów polimorficznych genu *TAS2R38* a zaawansowaniem choroby u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami nosa,
4. Zbadanie ekspresji receptora *TAS2R38* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami nosa oraz w grupie kontrolnej z analizą jej związku z występowaniem przewlekłego zapalenia zatok z polipami nosa.
5. Analiza zależności między ekspresją receptora *TAS2R38* a zaawansowaniem przewlekłego zapalenia zatok z polipami.

Swoje badanie Autorka zaplanowała jako prospektywną dwuetapową ocenę. W pierwszej części badała ekspresję receptora smaku gorzkiego *TAS2R38* u 107 pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych z polipami. Próbkę tkankową pobierała z błony śluzowej małżowiny nosowej dolnej oraz polipowatej tkanki usuwanej w zabiegu funkcjonalnej endoskopowej operacji zatok. Grupę kontrolną stanowiło 39 osób poddawanych zabiegowi septoplastyki i/lub plastyki małżowin nosowych, u których ekspresję badano w tkance małżowiny nosowej dolnej. W drugiej części badała występowanie polimorfizmów genu *TAS2R38* u 106 pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami oraz w grupie kontrolnej składającej się z 438 ochotników. Doktorantka uwzględniła istotne kryteria wyłączające z oceny w badaniu dla wszystkich analizowanych grup. Klarownie przedstawiła zastosowane metody oceny przedmiotowej uczestników badania z wykorzystaniem ankiety, oceny nasilenia objawów przewlekłego zapalenia zatok w skali VAS i kwestionariusza objawów zatokowo-nosowych (SNOT-22). Trafnie dobrane zostały metody oceny przedmiotowej z wykorzystaniem badania endoskopowego i skali Lund-Kenedy'ego. Dodatkowo uzupełniono ocenę zaawansowania zmian w zatokach na podstawie badania tomografii komputerowej z zastosowaniem klasyfikacji Lund-Mackay. U pacjentów oceniono percepcję smaku gorzkiego na podstawie testu z fenylotiomocznikiem. Doktorantka szczegółowo opisuje zastosowane metody w genotypowaniu DNA dla polimorfizmów *TAS2R38*, a także przedstawia rzetelne argumenty za wyborem beta aktyny, jako genu referencyjnego do oceny ekspresji *TAS2R38*. Metody analizy statystycznej ocenianych parametrów i zależności zostały właściwie dobrane.

W pierwszej części rozdziału wyniki, Doktorantka przedstawiła wyniki ekspresji receptora *TAS2R38*, który został zidentyfikowany w małżowinie nosowej dolnej u 50% pacjentów i u 72% osób z grupy kontrolnej. W tkance polipów ekspresję receptora wykazano u 46% pacjentów. W grupie pacjentów stwierdziła zależność występowania niższych wyników w skali VAS (lżejszy przebieg przewlekłego zapalenia zatok) i większej ekspresji

receptora TAS2R38 w błonie śluzowej małżowiny nosowej dolnej. Dodatkowo zaobserwowała ujemną korelację poziomu ekspresji TAS2R38 w błonie śluzowej małżowiny nosowej dolnej z wynikiem zaawansowania zmian w zatokach na podstawie skali Lund-Mackay w badaniu tomografii komputerowej. Autorka wykazała u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami i współistniejącą astmą znacząco wyższą ekspresję receptora TAS2R38 w tkance polipa ($p=0,030$), ale nie w tkance małżowiny nosowej dolnej ($p=0,077$). Ekspresja receptora w tkance małżowiny nosowej dolnej różniła się również istotnie w zależności od płci w badanej grupie, wykazując niższą ekspresję u mężczyzn.

W kolejnym podrozdziale zaprezentowała szczegółowo wyniki polimorfizmu genu *TAS2R38* w badanej populacji. Genotypowanie próbek krwi pełnej wykazało trzy warianty genu receptora (rs713598, rs1726866, rs10246939) w grupie badanej i grupie kontrolnej. Zidentyfikowano dwa haplotypy: PAV i AVI oraz trzy diplotypy. PAV/AVI okazał się najczęstszym diplotypem w grupie badanej i w grupie kontrolnej (odpowiednio 56,6% i 53,4%). Diplotyp "supertaster" PAV/PAV był częstszy w grupie kontrolnej (22,8%) w porównaniu do grupy badanej (12,3%). Diplotyp "non-taster" AVI/AVI wykryto u 31% pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami i 24% osób z grupy kontrolnej. Na podstawie przeprowadzonych analiz porównawczych wykazano, że pacjenci z diplotypem PAV/PAV dwukrotnie częściej znajdowali się w grupie pacjentów z mniej nasilonymi zmianami zapalnymi w przedoperacyjnej tomografii komputerowej ($p=0,01$; OR=2,1; Fi=0,24). Pacjenci PAV/PAV okazali się być bardziej narażeni na rozwój całorocznej alergii ($p=0,04$; OR=4,2; Fi=0,24).

Doktorantka bardzo starannie i sumiennie przedstawiła wszystkie wyniki, stosując ich opracowanie tabelaryczne oraz za pomocą wykresów, co istotnie wpływa na percepcję i zrozumiałość tekstu.

W dyskusji Doktorantka umiejętnie zestawiała dotychczasową wiedzę na temat ekspresji receptorów smaku gorzkiego, w szczególności receptora TAS2R38, w patogenezie i klinicznym przebiegu przewlekłego zapalenia zatok przynosowych. Podkreśla, że przeprowadzone przez nią badanie, jako pierwsze potwierdziło obecność receptorów TAS2R38 w tkance polipów nosowych. Doktorantka identyfikuje obniżony poziom ekspresji TAS2R38 w błonie śluzowej małżowiny nosowej jako potencjalnie istotny parametr rokowniczy, korelujący z większym nasileniem objawów w przewlekłym zapaleniu zatok z polipami. Podkreśla potrzebę dalszych badań na większej grupie pacjentów w celu potwierdzenia tej obserwacji.

Cytuje i wnikliwie porównuje wyniki prac, które analizowały warianty polimorficzne genu *TAS2R38* w chorych z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych w innych populacjach europejskich, a także z innych regionów świata. Wskazuje na rozbieżności wyników między różnymi populacjami. Podkreśla, że obecne badanie jest pierwszym na tak dużej populacji w Polsce. Wykazuje jednak rozbieżności własnych wyników w ocenie korelacji polimorfizmów z klinicznym przebiegiem przewlekłego zapalenia zatok przynosowych, w porównaniu z wynikami innego badania przeprowadzonego w populacji polskiej. Widzi potrzebę kontynuacji badań w wymiarze wielośrodkowym, w celu reprezentatywnej oceny populacji polskich pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok.

Bardzo obszernie omawia dotychczasową wiedzę na temat ekspresji receptorów grupy TAS w chorobach układu oddechowego, przytaczając prace badające związek aktywacji receptorów smaku gorzkiego z prawidłową funkcją nabłonka urzęsionego dróg oddechowych oraz rozszerzania się światła drobnych oskrzeli. Celnie identyfikuje problemy z wykorzystaniem receptorów smaku gorzkiego do celów terapeutycznych na obecnym etapie wiedzy.

Przytacza prace badające wpływ polimorfizmów genów receptora na funkcjonalność błony śluzowej nosa i zatok, a tym samym możliwość wykorzystania testów smakowych u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych do oceny zaawansowania choroby lub w rokowaniu. Zwraca uwagę na obecne rozbieżności w wynikach opublikowanych prac, związane ze stosowanymi różnymi substancjami aktywującymi receptor, jak również specyfiką włączanych pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok z polipami i bez polipów, które wymagają dalszej eksploracji.

Doktorantka widzi potrzebę dalszych badań w zakresie podjętego tematu, uwzględniających większą kohortę pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych, w tym obejmującą również chorych skutecznie leczonych metodami zachowawczymi.

Doktorantka formuuje na koniec pracy pięć wniosków, podsumowujących wyniki. Są one adekwatne do uzyskanych rezultatów.

Z obowiązku recenzenta podaję następujące uwagi, dotyczące aspektów edytorskich pracy:

- na stronie 26 użyto sformułowania gardło górne, które wymaga poprawienia zgodnie z obowiązującą nomenklaturą: ustna lub nosowa część gardła,
- w tabeli 1. wynik badania SNOT-22 przyporządkowano kolumnie grupy kontrolnej, a zgodnie z omówieniem w treści dotyczy on grupy badanej.

Przedstawiona do oceny praca stanowi samodzielny dorobek naukowy lek. Joanny Jeruzal-Świąteczkiej. Pozytywnie oceniam wkład pracy Doktorantki w szczególności zaplanowaną metodologię, uwzględniającą badania molekularne ekspresji receptora TAS2R38 oraz polimorfizmu dla kodującego go genu w odniesieniu do precyzyjnie zaplanowanej oceny klinicznej. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego. Autorka wykazała się również dużą wiedzą teoretyczną i praktyczną z zakresu podjętego tematu. Umiejętnie przeprowadziła proces badawczy z postawieniem przemyślanych celów i konsekwentnie go zrealizowała, podsumowując adekwatnymi wnioskami. Dostarcza to argumentów o dojrzałości naukowej Doktorantki i zdolności do prowadzenia pracy badawczej.

Przedstawiona do oceny praca ma wysoką wartość merytoryczną z uwagi na przemyślaną metodykę, szczegółowość przeprowadzonej analizy, konsekwencję w realizacji oraz właściwie popartą danymi z piśmiennictwa dyskusję, dlatego występuję o wyróżnienie tej pracy.

Rozprawa doktorska odpowiada warunkom stawianym na stopień doktora i na tej podstawie stawiam Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. Joanny Jeruzal-Świąteczkiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

dr hab. n. med.
Anna Rzepakowska
otorynolaryngolog
1988985