

Prof zw. dr hab.n.med Ryszard Kurzawa

Rabka Zdrój 6.09.2023r

Klinika Alergologii i Pneumonologii

Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc

Oddział Terenowy im Ireny i Jana Rudników w Rabce-Zdroju

34-700 Rabka Zdrój, ul. Prof. Jana Rudnika 3B

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr farm. Katarzyny Molińskiej pt: „ ***Rola procesów dysbiotycznych i odpowiedzi immunologicznej u dzieci chorych na przewlekły nieżyt błony śluzowej nosa i zatok przynosowych oraz astmę oskrzelową***”

Rozprawa doktorska przedstawiona mi do oceny stanowi cykl trzech powiązanych tematycznie prac naukowych, z których jedna została opublikowana w 2021r w wysokoimpaktowanym czasopiśmie *Allergy* i dwie pozostałe zostały oddane i przyjęte do druku w *Pediatrics i Medycyna Rodzinna* w 2023 , w których Doktorantka jest pierwszym autorem.:

1. **Molińska K**, Latek M, Majak P. House dust mite allergy may increase the severity of chronic rhinosinusitis in preschool and early school-age children. ***Pediatrics i Medycyna Rodzinna*** (praca oryginalna przyjęta do druku – **20pkt MEiN**)
2. **Molińska K**, Latek M, Rychlik B, Lach J, Strapagiel D, Majak J, Błażowski Ł, Jerzyńska J, Kuna P, Majak P. House dust mite sensitization and frequent antibiotic courses may suppress remission of rhinosinusitis and asthma symptoms in young children. ***Allergy***. 2021 Sep 12. (**IF-14.170; 140 pkt MEiN**)
3. **Molińska K**, Majak P. Dysbioza i alergia jako tło przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych u dzieci w wieku przedszkolnym. ***Pediatrics i Medycyna Rodzinna*** (praca poglądowa przyjęta do druku - **20pkt MEiN**)).

(Sumaryczny **IF=14.710** i sumaryczna punktacja wg **MEiN=180.00 pkt.**)

Choroby alergiczne wieku rozwojowego oraz przewlekłe zapalne choroby układu oddechowego takie jak astma oskrzelowa czy przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych stanowią jeden z ważniejszych problemów współczesnej medycyny, zwłaszcza w populacji wieku rozwojowego. Jedną z przyczyn narastających problemów związanych z tymi chorobami jest wzajemne oddziaływanie genów i środowiska modyfikowanych dodatkowo przez czynniki epigenetyczne i mikrobiom. Doktorantka na podstawie analizy aktualnych publikacji przedstawiła hipotezę, że środowiskowo-zależna interakcja pomiędzy ekosystemem mikrobioty dróg oddechowych a nabłonkiem jest w stanie kształtować funkcje lokalnego układu immunologicznego z wieloma konsekwencjami molekularnymi i klinicznymi. Hipoteza ta sugeruje, że defekty w barierze nabłonkowej/naskórkowej oraz lokalne zaburzenia składu mikrobioty mogą być odpowiedzialne za alergiczne jak i niealergiczne przyczyny takich chorób jak astma, AZS czy przewlekłe zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (PZZP). Organizm człowieka zasiedlony jest przez miliony różnych mikroorganizmów, których ogół tworzy mikrobiotę, odgrywającą fundamentalną rolę w jego funkcjonowaniu np. poprzez interakcje z komórkami nabłonka oraz układem immunologicznym błon śluzowych miejsca stanowiącego niszę dla danego ekosystemu. Bardzo liczna i stosunkowo dobrze poznana jest mikrobiota przewodu pokarmowego czy skórna a jej wpływ na funkcjonowanie układu oddechowego jest szeroko dyskutowany. Nowe techniki sekwencjonowania pozwoliły na szerszą i dokładniejszą analizę składu ekosystemu mikroorganizmów w drogach oddechowych, co z kolei umożliwiło prace nad określeniem **wpływu zaburzeń w składzie mikrobioty, czyli dysbiozy i jej udziału w inicjacji i/lub podtrzymywaniu procesów zapalnych, leżących u podłoża takich chorób jak PZZP**. Istnieje wiele czynników, które mogą pierwotnie doprowadzić do zaburzeń ekosystemu drobnoustrojów - dysbiozy - w ludzkim organizmie. Wśród podstawowych należy wymienić zmiany środowiska zewnętrznego takie jak zmiany diety czy pory roku, a w przypadku dzieci np. inicjacja przedszkolna. Dysbioza może być też efektem chorób ogólnoustrojowych lub infekcyjnych albo wynikać z lokalnej dysregulacji immunologicznej wpływającej na funkcjonowanie układu MALT. Wszystkie te czynniki oddziałują na siebie tworząc mechanizm „błędnego koła”, ponieważ zmiany w składzie mikrobioty prowadzą do zmiany lokalnego metabolomu, co zaburza funkcjonowanie układu MALT. Dysbiozę należy uznać za istotny bodziec prozapalny, zwłaszcza w sytuacji zmniejszonej bioróżnorodności czy pojawienia się szczepów patogennych. Z drugiej strony, u osób z przewlekłym zapaleniem alergicznym, szczególnie eozynofilowym, obserwujemy specyficzne zaburzenia składu lokalnej mikrobioty – **dysbiozę wtórną**. Im dłużej utrzymuje się dysbioza, której towarzyszy stan zapalny, tym poważniejszych konsekwencji klinicznych należy się spodziewać ponieważ mechanizm „błędnego koła” sprzyja utrwaleniu dysfunkcji mikrobioty znacznie utrudniając jej zwalczanie.

Choć powyższe rozważania teoretyczne mogą mieć istotne znaczenie kliniczne, nie zostały jednak dotychczas zweryfikowane w populacji małych dzieci, u których zarówno dysbioza, jak i alergia najczęściej dopiero się indukują dlatego Doktorantka podjęła się tego zagadnienia, którego celem była ocena roli zaburzeń składu mikrobioty (dysbiozy) górnych dróg oddechowych i alergii w rozwoju przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (PZZP) u dzieci ze współistniejącą astmą oskrzelową lub bez niej. Cele szczegółowe tego cyklu prac to:

1. Określenie czynników ryzyka cięższego przebiegu PZZP w badanej grupie pacjentów.
2. Prospektywna ocena przebiegu klinicznego PZZP i astmy z określeniem czynników ryzyka przetrwania objawów podczas izolacji pandemicznej badanych dzieci.

Protokół badania został zaopiniowany pozytywnie, bez zastrzeżeń przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (RNN/153/16/KE).

Badanie przeprowadzono w kohorcie dzieci w wieku przedszkolnym i wczesnoszkolnym (4-8 lat), u których zdiagnozowano przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (PZZP) ze współistniejącą astmą lub bez niej. PZZP zostało potwierdzone przez otolaryngologów zgodnie z kryteriami EPOS, natomiast astmę potwierdził pulmonolog na podstawie dodatniego wskaźnika predykcyjnego astmy i poprawy klinicznej podczas leczenia przeciwzapalnego i/lub dodatnim testem odwracalności oskrzeli. Do badania włączono 133 dzieci zrekrutowanych w Poradni Alergologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 1 im. N. Barlickiego w Łodzi, którym wykonano następujące procedury: standaryzowany kwestionariusz SN-5, kwestionariusz oceniający zastosowane leczenie, punktowe testy skórne z alergenami wziewnymi, wymaz z nosogardła do oceny mikrobiomu metodą NGS (Next Generation Sequencing), pobranie próbki błony śluzowej plastikowymi kuwetami. Ze względu na pandemię COVID-19, część kwestionariuszy (ostatnie wizyty) zostały zebrane w postaci teleporad.

Wyniki badań realizacji pierwszego celu zostały szczegółowo opisano w pracy oryginalnej przyjętej do druku w *Pediatric and Family Medicine* „House dust mite allergy may increase the severity of chronic rhinosinusitis in preschool and early school-age children”, w której Doktorantka wykazała, że uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego było jedynym niezależnym czynnikiem zwiększającym nasilenie objawów PZZP w badanej populacji; wcześniejsze uczęszczanie do żłobka i cechy atopii związane były z cięższym przebiegiem PZZP w modelach jednoczynnikowych. Uczęszczanie do żłobka, czyli hiperstymulacja mikrobiologiczna u młodszych dzieci zwiększała ryzyko utrwalania się dysbiozy lokalnej mikrobioty, co może wyjaśniać zaobserwowany trend.

Wyniki badań w ramach realizacji drugiego celu szczegółowego opisano w pracy oryginalnej opublikowanej w *Allergy* pt.: „House dust mite sensitization and frequent antibiotic courses may suppress remission of rhinosinusitis and asthma symptoms in young children”, w której zestawiono czynniki mające wpływ na kliniczną manifestację PZZP oraz astmy u dzieci w trakcie izolacji pandemicznej. Wykazano, że uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego niemal 4-krotnie zwiększało ryzyko umiarkowanego PZZP, a każdy kolejny kurs antybiotykoterapii podnosił to ryzyko o prawie 40%. Stwierdzono też, że niezależnymi czynnikami wystąpienia objawów astmy w badanej populacji były umiarkowane objawy PZZP w trakcie izolacji pandemicznej oraz alergia pokarmowa w okresie niemowlęctwa. Ponadto zdefiniowano profil białek ulegających ekspresji w nabłonku nosa dzieci chorych na umiarkowany PZZP oraz niezależny profil białek w nabłonku nosa dzieci chorych na astmę.

Cykl publikacji zamyka trzecia praca pogładowa pt.: „Dysbioza i alergia jako tło przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych u dzieci w wieku przedszkolnym” opisująca wyniki badań własnych w kontekście dotychczasowej wiedzy, która również została przyjęta do druku w tym roku w *Pediatric and Family Medicine*. Zarówno uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego, jak i częste kursy antybiotykoterapii związane były z zaburzeniami składu mikrobioty górnych dróg oddechowych, cięższym przebiegiem PZZP oraz utrzymywaniem się objawów astmy, również w okresie izolacji od rówieśników. Zdefiniowano profil białek ulegających ekspresji w nabłonku nosa dzieci chorych na umiarkowany PZZP oraz niezależny profil białek w nabłonku nosa dzieci chorych na astmę, sugerujące wielokierunkowe zaangażowanie nabłonka z dominacją odpowiedzi zapalnej na bodźce mikrobiologiczne.

Wyniki badań Doktorantki wskazują na uzasadnienie wdrażania działań sprzyjających przywróceniu normalizacji mikrobioty czyli powrotu do eubiozy górnych dróg oddechowych, takich jak racjonalna antybiotykoterapia czy wczesna kwalifikacja do odczulania dzieci z IgE-zależną alergią np. na alergeny roztoczy kurzu domowego. Dzieci w okresie żłobkowym i przedszkolnym doświadczają intensywnego oddziaływania mikrobioty rówieśników, co może wyjaśniać dlaczego to właśnie w tej grupie wiekowej wyraźnie można zaobserwować kliniczne interakcje między złożonymi procesami dysbiotycznymi i indukcją choroby alergicznej. Wg opinii Doktorantki zrozumienie tych zależności jest podstawą bezpiecznego i skutecznego postępowania klinicznego ale jednak wymaga dalszych badań na większej populacji.

Na podstawie uzyskanych wyników badań, opublikowanych w trzech pracach cyklu, które stanowią przedmiot rozprawy doktorskiej mgr farm. Katarzyny Molińskiej, Doktorantka wysnuła 3 wnioski:

1. Uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego oraz uczęszczanie do żłobka w wywiadzie osobniczym zwiększa ryzyko cięższego przebiegu PZZP u dzieci w wieku przedszkolnym i wczesnoszkolnym.

2. Zarówno uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego, jak i częste kursy antybiotykoterapii związane są redukcją bioróżnorodności mikrobioty górnych dróg oddechowych oraz utrzymywaniem się bardziej nasilonych objawów PZZP u dzieci ze współistniejącą astmą, w wieku przedszkolnym i wczesnoszkolnym w okresie izolacji od rówieśników.

3. Profil zapalny w nabłonku nosa dzieci w wieku przedszkolnym i wczesnoszkolnym chorych na PZZP oraz astmę charakteryzuje się niższą ekspresją beta-defensyn oraz Muc5B, natomiast u dzieci z bardziej nasilonymi objawami PZZP obserwuje się większą ekspresję IL-17 i Muc5AC, co sugeruje wielokierunkowe zaangażowanie nabłonka z dominacją odpowiedzi zapalnej na bodźce mikrobiologiczne.

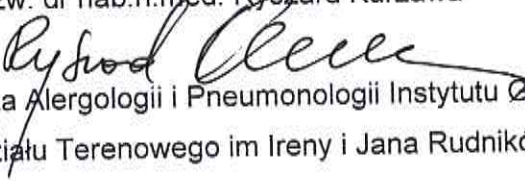
Chciałbym zwrócić uwagę na znaczący dorobek naukowy mgr farm. Katarzyny Molińskiej składający się z autorstwa i współautorstwa w 20 pracach naukowych i 7 abstraktach i plakatach zjazdowych o łącznym współczynniku oddziaływania **IF= 46.970 i 533 pkt wg punktacji MEiN**. Ponadto chciałbym podkreślić, że uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań sugerują, że zarówno procesy alergiczne, jak i dysbiotyczne mogą odpowiadać za indukcję przewlekłego zapalenia w błonie śluzowej nosa i zatok przynosowych dzieci chorych na PZZP, a nadwrażliwość na alergeny roztoczy kurzu domowego, podobnie jak redukcja bioróżnorodności mikrobioty górnych dróg oddechowych, mogą utrzymywać przewlekłe zapalenie jednocześnie w górnych i dolnych drogach oddechowych ze wszystkimi konsekwencjami klinicznymi.

Reasumując stwierdzam, że przedstawione do recenzji trzy publikacje stanowią spójny tematycznie zbiór artykułów. Wszystkie przedstawione publikacje zostały opublikowane w czasopiśmie naukowym znajdującym się na liście MNiSW. Doktorantka jest pierwszą autorką wszystkich trzech publikacji (dwie z nich są pracami oryginalnymi, jedna została opublikowana w *Allergy* w 2021 piśmie o wysokim IF, druga oryginalna i trzecia poglądowa zostały przyjęte do druku do *Pediatrics i Medycyna Rodzinna* w maju 2023). Doktorantka wykazała bardzo dobrą orientację w przedmiocie opracowania, dowiodła umiejętności posługiwania się narzędziami analitycznymi i właściwym doбором źródeł oraz udowodniła swoją konsekwencję i rzetelność w planowaniu i przeprowadzeniu badań naukowych jak również wysnuła wnioski adekwatne do poczynionych spostrzeżeń.

Przechodząc do końcowego podsumowania przedkładam zatem Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi **opinię**, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Molińskiej pt. "***Rola procesów dysbiotycznych i odpowiedzi immunologicznej u dzieci chorych na przewlekły nieżyt błony śluzowej nosa i zatok przynosowych oraz astmę oskrzelową***" jest przeze mnie **oceniona pozytywnie** i wyróżniająco spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami). Tym samym uważam, że pani **mgr farm. Katarzyna Molińska** **powinna zostać dopuszczona do dalszych etapów przewodu doktorskiego**.
Przedkładam również **wniosek o wyróżnienie** przedłożonej pracy.

Rabka Zdrój, 2023-09-06

Prof zw. dr hab.n.med. Ryszard Kurzawa


Klinika Alergologii i Pneumonologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc
Oddziału Terenowego im Ireny i Jana Rudników w Rabce Zdroju