

Bydgoszcz, 26 wrzesień 2023 r.

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.”

Podstawą oceny był zbiór spójnych tematycznie artykułów stanowiących dysertację, złożoną z 3 publikacji. Wszystkie publikacje są pracami o autorstwie zespołowym, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, posiadające współczynnik wpływu Impact Factor.

Praca doktorska dotyczy aktualnych, ważnych i częstych problemów w pediatrii, tj. zakażeń dróg oddechowych u małych dzieci. Schorzenia te należą do najczęstszych przyczyn porad z zakresu pediatrii w opiece ambulatoryjnej. Infekcje górnych dróg oddechowych, mimo, że najczęściej szybko ustępują, często wykazują charakter nawrotowy, stając się przyczyną obniżenia jakości życia, nie tylko dziecka, ale także jego rodziny. Oprócz ostrych powikłań, mogą prowadzić do rozwoju przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (PZZP). Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych u dzieci wymaga różnicowania z innymi częstymi chorobami wieku dziecięcego, takimi jak przerost migdałka gardłowego czy alergiczny nieżyt nosa. Z kolei alergiczny nieżyt nosa często współistnieje z astmą, a astma jest najczęstszą przewlekłą chorobą układu oddechowego występującą u dzieci.

Zatem problem, który stara się rozwiązać Doktorantka dotyczy większości chorych dzieci zgłaszających się do lekarza pediatry, co wskazuje na istotność podjętego problemu. Mimo, iż zasadnicze objawy tych schorzeń, czyli katar i kaszel, od lat należą do powszechnie występujących objawów u dzieci, to nadal mogą często stanowić problem zarówno diagnostyczny, jak i terapeutyczny. Jeśli objawy obserwowane u dziecka mają charakter nawrotowy bądź przewlekły wymagają różnicowania z alergią. Poszerzenie wiedzy na temat przyczyn, które mogą powodować czy sprzyjać rozwojowi przewlekłego stanu zapalnego w

obrębie górnych dróg oddechowych i zwiększać ryzyko rozwoju astmy, w tym ustalenie znaczenia mikrobiomu, jest wyzwaniem współczesnej medycyny.

Dotychczas najwięcej badań dotyczy mikrobioty jelitowej i jej znaczenia w rozwoju różnych chorób, w tym chorób płuc. Między innymi badano jaki jest wpływ mikrobioty jelitowej na funkcję układu immunologicznego w obrębie płuc, wyznaczając oś jelitowo-płucną. Przeprowadzono również wiele badań dotyczących roli mikrobioty w dolnych drogach oddechowych, np. w astmie, jednak rola mikrobioty w górnych drogach oddechowych nie została dotychczas szczegółowo zbadana, zwłaszcza pod kątem interakcji z układem immunologicznym. Z jednej strony podkreśla się, że przyczyną rozwoju nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej i stanu zapalnego w przebiegu PZZP może być kolonizacja patogenów i dysbioza. Z drugiej strony dysfunkcja bariery immunologicznej, stan zapalny nabłonka błony śluzowej nosa i zatok, wynikające z alergii lub niealergicznego zapalenia mogą powodować stan sprzyjający wtórnemu rozwojowi bakterii i dysbiozie, przygotowując grunt pod przewlekłe zapalenie zatok przynosowych. Zatem nadal pozostaje do ustalenia, czy zmiany obserwowane w mikrobiomie nosa są przyczyną czy skutkiem tej przewlekłej choroby zapalnej. Dotychczas wykazano, że brak równowagi między drobnoustrojami a barierami śluzówkowymi zwiększa ryzyko rozwoju stanu zapalnego. Jednakże nie wiadomo czy rozwój chorób alergicznych poprzedza dysfunkcja bariery nabłonkowej czy dysbioza.

Lepsze zrozumienie mikrobiomu nosa i zatok u zdrowych pacjentów i pacjentów z PZZP oraz powiązanie z różnymi fenotypami PZZP może pomóc w opracowaniu nowych strategii prognostycznych, diagnostycznych i terapeutycznych. W przyszłości stosowanie probiotyków może przywrócić stan równowagi mikrobiologicznej zatok, co będzie miało istotne implikacje terapeutyczne i zapobiegawcze.

Stąd podjęcie przez Doktorantkę tematu łączącego najczęstsze dolegliwości u dzieci z najbardziej istotnymi czynnikami, mogącym mieć zasadniczy wpływ na ich wystąpienie czy modyfikowanie przebiegu, wychodzi naprzeciw aktualnym zainteresowaniom współczesnej pediatrii i alergologii oraz stanowi cenne uzupełnienie istniejącej luki w tym zakresie w populacji polskich dzieci. W świetle tych danych wybór tematu pracy doktorskiej uważam za ciekawy, w pełni uzasadniony i niezwykle istotny.

1. Ocena redakcyjna

Przedłożona do recenzji praca doktorska stanowi cykl 3 monotematycznych artykułów (2 oryginalnych i 1 poglądowego), opublikowanych w czasopismach medycznych, o zasięgu międzynarodowym, a zatem przeszły już recenzje wydawnicze i redakcyjne tych liczących się periodyków. Praca zawarta jest na 79 stronach druku.

W układzie redakcyjnym rozprawa doktorska zawiera następujące podrozdziały:

1. Wykaz stosowanych skrótów (str 5).
2. Streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, na które składają się: wstęp, cel, materiał i metody, wyniki i wnioski (str 6-9).
3. Wstęp (str 10-11).
4. Założenia i cele pracy (str 12-13).
5. Wykaz tytułów i bibliometryczna ocena 3 prac, składających się na dysertację (str 14).
6. Publikacja pierwsza i zaświadczenie o przyjęciu do druku pracy pierwszej i trzeciej (str 15-23).
7. Kserokopia drugiej publikacji składającej się na dysertację (str 24-36).
8. Publikacja trzecia (str 37-45)
9. Wnioski i podsumowanie (str 46)
10. Dorobek naukowy doktorantki, z uwzględnieniem prac opublikowanych przed i po rozpoczęciu przewodu doktorskiego oraz streszczeń zjazdowych (str 47-49).
11. Piśmiennictwo (str 50-52).
Rozdział zawiera wykaz 28 publikacji: 27 publikacji w języku angielskim i 1 artykułu w języku polskim.
12. Oświadczenia współautorów (str. 53-77).
Współautorzy złożyli pisemne oświadczenia zawierające informacje o udziale współautora w odpowiednim badaniu i wkładzie osobistym w przygotowaniu prac do druku.
13. Zgoda Komisji Bioetycznej UM wraz z załącznikiem (str 78-79)

Podsumowanie

Rozprawa doktorska 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” jest zredagowana poprawnie, ma układ i redakcję typową dla tego rodzaju opracowań. Zawarte w dysertacji oryginały publikacji wraz z ich omówieniem są czytelne. Na podkreślenie zasługuje staranność, przejrzystość i estetyczność opracowania.

2. Ocena merytoryczna

We Wstępie Doktorantka trafnie zwraca uwagę na aktualne, wciąż nierozwiązane problemy przewlekłych dolegliwości w obrębie układu oddechowego u dzieci, takie jak: przewlekły nieżyt błony śluzowej nosa i zatok przynosowych (PZZP) oraz astmę oskrzelową. Doktorantka podkreśla, że defekt w barierze nabłonkowej oraz zaburzenia składu mikrobioty są czynnikami mającymi istotne znaczenie w patogenezie omawianych jednostek chorobowych. Punktem wyjścia do realizacji założeń tej pracy doktorskiej były wyniki badania opublikowanego w PAI w 2021 r. pt.: „Upper-airway dysbiosis related to frequent sweets consumption increases the risk of asthma in children with chronic rhinosinusitis”. Doktorantka podkreśla, że przedstawiona dysertacja stanowi kontynuację powyższych badań.

Wprowadzenie w tematykę będącą przedmiotem badań, Doktorantka dokonała w sposób czytelny, jasny i zgodny z bieżącym piśmiennictwem. We Wstępie w przekonujący sposób, z zastosowaniem mocnych argumentów przedstawiono przesłanki do podjęcia badań. Na tej bazie Doktorantka sformułowała cele dysertacji: cel główny i dwa cele szczegółowe.

Celem głównym pracy była ocena roli zaburzeń składu mikrobioty 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. Za cele szczegółowe Doktorantka przyjęła określenie czynników ryzyka cięższego przebiegu PZZP oraz prospektywną ocenę przebiegu klinicznego PZZP i astmy z określeniem czynników ryzyka przetrwania objawów podczas izolacji pandemicznej z powodu SARS-CoV-2.

Publikacja 1 – „House dust mite allergy may increase the severity of chronic rhinosinusitis in preschool and early school-age children” to artykuł oryginalny.

Do badania włączono 111 dzieci w wieku 4–8 lat z przewlekłym zapaleniem błony śluzowej nosa i zatok zdiagnozowanym przez otolaryngologów zgodnie z kryteriami EPOS. U części

dzieci rozpoznano także astmę oskrzelową, potwierdzoną przez pulmonologa na podstawie dodatniego wskaźnika predykcyjnego astmy i poprawy klinicznej w trakcie leczenia przeciwzapalnego i/lub dodatniego testu odwracalności oskrzeli. W metodzie badawczej zastosowano: standaryzowany kwestionariusz, kwestionariusz oceniający zastosowane leczenie, punktowe testy skórne z powszechnymi alergenami oraz wymaz z nosogardzieli do analizy mikrobiomu metodą NGS.

Na podstawie analizy jednoczynnikowej regresji logistycznej Doktorantka wykazała, że dzieci uczęszczające wcześniej do żłobka, uczulone na alergeny całoroczne i roztocza kurzu domowego oraz dzieci z atopią wykazywały cięższe objawy przewlekłego zapalenia zatok i nosa ($SN-5 > 3,6$), a wieloczynnikowa regresja logistyczna pokazała, że jedynym niezależnym czynnikiem ryzyka cięższego przebiegu przewlekłego zapalenia nosa i zatok u małych dzieci była alergia na alergeny roztoczy kurzu domowego. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy wskaźnikiem bioróżnorodności (indeks Shannona) a nasileniem przewlekłego zapalenia nosa i zatok u dzieci. Równocześnie, choć nie wykazano zmian w indeksie Shannona, Doktorantka sugeruje, że przeprowadzone badanie może posłużyć jako kliniczny model interakcji między mikrobiotą a alergią.

Badanie było finansowane przez NCN.

Publikacja 2 – „House dust mite sensitization and frequent antibiotic courses may suppress remission of rhinosinusitis and asthma symptoms in young children” to artykuł oryginalny.

Celem badania było określenie stanu klinicznego, immunologicznego, oraz czynników mikrobiologicznych, które mogą mieć wpływ na stan kliniczny, przebieg przewlekłego zapalenia nosa i zatok oraz astmy u małych dzieci w czasie izolacji z powodu pandemii COVID-19. Badaniem objęto 133 dzieci z przewlekłym zapaleniem nosa i zatok wraz ze współistniejącą astmą lub bez, które rekrutowano spośród pacjentów Przyklinicznej Poradni Alergologicznej w ciągu kolejnych 2 jesienno-zimowych sezonów 2017 i 2018 (badanie opublikowane). Do kolejnej fazy badania, w okresie pandemii COVID-19, zrekrutowano 111 dzieci, tj. 84% pierwotnej kohorty. Wizyta kontrolna odbyła się na drodze telefonicznej konsultacji, po 5 miesiącach izolacji pandemicznej, podczas której zebrano dane dotyczące: nasilenia objawów przewlekłego zapalenia nosa i zatok w skali SN-5, nasilenia objawów astmy oraz leczenia zastosowanego podczas sezonu jesień-zima 2019 i 2020 w izolacji

pandemicznej. Analizie poddano parametry kliniczne, mikrobiologiczne oraz ekspresję wybranych białek błony śluzowej nosa, tj. IL-17, Muc-5C, beta-defensin 2, Muc-5B, oznaczanych metodą qPCR, w zależności od ciężkości przebiegu PZZP, od występowania objawów astmy oraz uczulenia na roztocza kurzu domowego.

W okresie jesienno-zimowym 2020 w porównaniu do 2019 i sezonów 2017/2018 zaobserwowano znaczną redukcję nasilenia ciężkości PZZP u badanych pacjentów. Doktorantka stwierdziła, że niezależnymi czynnikami ryzyka rozwoju astmy były umiarkowane objawy PZZP w trakcie izolacji pandemicznej oraz alergia pokarmowa w okresie niemowlęctwa. Ponadto Autorka wykazała, że w błonie śluzowej nosa u dzieci z umiarkowanym przebiegiem PZZP ekspresja IL-17 i Muc-5C jest wyższa, a u dzieci z astmą ekspresja beta-defensyny i Muc-5B jest niższa. Doktorantka podsumowuje, że dzieci uczulone na roztocza kurzu domowego, u których częściej stosowano antybiotyki są zagrożone cięższym przebiegiem PZZP oraz utrzymywaniem się objawów astmy. Podkreślono, że uczulenie na alergeny roztoczy kurzu domowego wiąże się z dysbiozą górnego odcinka układu oddechowego oraz częstszym stosowaniem antybiotyków w okresie izolacji od rówieśników, co wskazuje na możliwe powiązanie między szlakami zapalnymi. Badanie było finansowane przez NCN.

Po zapoznaniu się z opublikowanymi artykułami oryginalnymi stwierdzam, że Doktorantka osiągnęła postawione sobie cele.

Publikacja 3 – „ Dysbioza i alergia jako tło przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych u dzieci w wieku przedszkolnym” to artykuł poglądowy.

W prezentowanej pracy Doktorantka opisuje rolę zaburzeń składu mikrobioty górnych dróg oddechowych i alergii w rozwoju przewlekłego zapalenia błony śluzowej nosa i zatok przynosowych u dzieci. Mgr. Katarzyna Molińska z dużym zrozumieniem tematu porusza się między różnymi badaniami, co istotne, prowadzonymi głównie przez Doktorantkę i współpracowników, analizującymi związek między mikrobiotą górnego odcinka układu oddechowego, alergią, w tym uczuleniem na roztocza kurzu domowego i astmą oraz przewlekłym zapaleniem błony śluzowej nosa i zatok przynosowych w polskiej kohorcie dzieci w wieku przedszkolnym i wczesnoszkolnym. Przy pomocy czytelnych rycin Doktorantka pokazuje jakie czynniki mogą zmieniać mikrobiotę górnych dróg oddechowych i jakie mogą

być następstwa tego procesu. W pracy podjęto także próbę określenia możliwych do zastosowania interwencji terapeutycznych i profilaktycznych sprzyjających korekcie dysbiozy u dzieci chorych na przewlekłe zapalenie błony śluzowej nosa i zatok przynosowych. Warto podkreślić wyniki badań własnych zaprezentowane w publikacji, wskazujące na występowanie specyficznej dysbiozy w górnych drogach oddechowych, cechującej się zmienionymi proporcjami głównych typów bakterii i wyrażonej obniżonym stosunkiem Patescibacteria/Actinobacteria, stanowiąc niezależny czynnik ryzyka wystąpienia astmy.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki badań są cenne ze względów poznawczych, ale również praktycznych. Autorka wykazała bowiem istotne znaczenie uczulenia na alergen roztoczy kurzu domowego i kontaktów z rówieśnikami w modulowaniu przebiegu naturalnego PZZP u małych dzieci. Ponadto Doktorantka stwierdziła, że zarówno uczulenie na alergen 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 okresie izolacji od rówieśników. Doktorantka podjęła także próbę oceny profilu zapalnego w nabłonku nosa małych dzieci, co według autorki może stanowić punkt wyjścia do dalszych badań podstawowych w tej dziedzinie.

Tym samym wyniki badań doktorantki dostarczyły cennych informacji na temat tak ważnego problemu, jakim jest PZZP i astma w odniesieniu do małych dzieci.

Doktorantka jest współautorką 4 prac opublikowanych przed rozpoczęciem przewodu doktorskiego, 16 opublikowanych po rozpoczęciu przewodu doktorskiego, oraz 7 streszczeń zjazdowych. W 9 artykułach jest pierwszym autorem.

Ocena bibliometryczna prac składających się na dysertację: 180 pkt. w punktacji MEiN, jako pierwszy autor. Wartość współczynnika oddziaływania (IF) wynosi 14,710.

Ocena bibliometryczna dotychczasowego dorobku Doktorantki: ogólna suma pkt MEiN doktorantki to 553 pkt., a łączna suma IF wynosi 46,97.

Zatem należy podkreślić duże doświadczenie, aktywność naukową i umiejętność prowadzenia badań przez P. Mgr. Molińską.

Z obowiązku recenzenta jestem zobowiązana do wskazania kilku uwag i komentarzy, które nasunęły mi się podczas lektury rozprawy:

-
- W publikacji 1 Doktorantka zamieszcza informację „U części dzieci rozpoznano także astmę oskrzelową” – cennym uzupełnieniem byłoby podanie liczby dzieci.
 - W zdaniu „lokalne zaburzenia składu mikrobioty, czyli ogółu mikroorganizmów zasiedlających organizm człowieka” warto byłoby wyjaśnić czy Doktorantka miała na myśli zaburzenia lokalne czy ogóloustrojowe?
 - Wydaje mi się, że warto byłoby dodać “inhalant” do “skin prick tests with common allergens”(str 17)
 - Zasadnym wydaje mi się zastąpienie określenia „Allergy to house dust mite” przez „house dust mite sensitization” (str 20), tak jak to opisano na str 33
 - Warto byłoby sprecyzować „zaburzenia składu mikrobioty” czy „dysfunkcja mikrobioty” (str 37)
 - Doktorantka używa określenia „wskaźnik Shannona, wskaźnik zredukowanej bioróżnorodności” - proszę o wyjaśnienie stosowanego sformułowania.
 - Doktorantka nadmienia, iż „W kontekście dysbiozy uzasadniona wydaje się suplementacja preparatami probiotycznymi”. Czy biorąc pod uwagę wyniki badań własnych Doktorantka może zasugerować jaki typ bakterii mógłby zawierać potencjalny probiotyk?

Powyższe uwagi w żaden sposób nie umniejszają wartości pracy, którą oceniam wysoko. Informacje zamieszczone w dysertacji zawierają szereg cennych danych, które mogą być przydatne w rozwiązaniu ważkich problemów współczesnej pediatrii i alergologii.

Publikacje składające się na niniejszą dysertację stanowią cenną pozycję w polskim piśmiennictwie i wnoszą nowe, unikalne dane na temat PZZP u dzieci w Polsce na arenę badań międzynarodowych. Ponadto chcę podkreślić, iż Doktorantka zastosowała w swoich badaniach najnowocześniejsze, wiarygodne metody, wymagające dużej wiedzy i doświadczenia, zarówno w ich wykonywaniu, jak i interpretacji wyników badań.

W podsumowaniu pragnę zaznaczyć, iż przedstawiona mi do recenzji praca Mgr. farm. Katarzyny Molińskiej, stanowi oryginalny dorobek naukowy doktorantki. Jest dowodem jej pracowitości, umiejętności planowania i realizowania badań naukowych. Świadczy o zdolności do samodzielnego rozwiązywania postawionych sobie celów badawczych, o umiejętności krytycznej interpretacji wyników badań na tle właściwie wykorzystanego piśmiennictwa oraz logicznego wnioskowania. Kierunek zaproponowanych

badań odpowiada w pełni aktualnym problemom współczesnej medycyny zarówno w Polsce, jak i na świecie.

Uważam, że recenzowana rozprawa 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” spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2021 poz. 478 ze zm.).

Przedstawiam zatem Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na jakość przeprowadzonych badań, ważne, unikalne walory poznawcze i praktyczne wnioskuję jednocześnie o wyróżnienie pracy doktorskiej.

Prof. dr hab. n. med. Aneta Krogulska