

Zakład Alergologii i Immunologii Doświadczalnej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Skiłodowskiej-Curie 24
15-369 Białystok

Recenzja rozprawy doktorskiej autorstwa lekarz Weroniki Zastrzeżyńskiej pt. „Wpływ leczenia biologicznego omalizumabem na remodeling dróg oddechowych oraz na parametry kliniczne u pacjentów z ciężką alergiczną astmą oskrzelową”.

Prof. dr hab. med. Krzysztof Kowal

Rozprawa doktorska „ Wpływ leczenia biologicznego omalizumabem na remodeling dróg oddechowych oraz na parametry kliniczne u pacjentów z ciężką alergiczną astmą oskrzelową” autorstwa lekarz Weroniki Zastrzeżyńskiej jest próbą wykazania sposobu oddziaływania leczenia humanizowanym przeciwciałem anti-IgE na proces przebudowy dróg oddechowych u chorych na ciężką astmę alergiczną. Zagadnienia analizowane w powyższej pracy doktorskiej stanowią kontynuację wieloletnich badań prowadzonych w Ośrodku Krakowskim, a dotyczących patogenezы i leczenia astmy, w tym astmy ciężkiej. Opieka promotora, który należy do grona najbardziej doświadczonych badaczy zajmujących się problemem patogenezы i leczenia astmy ciężkiej jak i miejsce prowadzonych badań gwarantują właściwy dobór chorych oraz wysoką jakość przeprowadzonych procedur klinicznych oraz badań laboratoryjnych.

Postać o ciężkim przebiegu występująca u około 5-10% chorych na astmę jest odpowiedzialna za największy wpływ na chorobowość i śmiertelność w tej grupie chorych. Ponadto, astma ciężka generuje ogromne koszty pośrednie i bezpośrednie, w tym koszty związane z leczeniem zaostrzeń, hospitalizacji czy też absencji chorobowej. W trakcie przebiegu astmy, a w szczególności astmy ciężkiej dochodzi do trwałej przebudowy dróg oddechowych takich jak uszkodzenie nabłonka ze zwiększeniem ilości komórek produkujących śluz, podnabłonkowa depozycja białek macierzy zewnątrzkomórkowej,

przerost gruczołów śluzowych, przerost warstwy mięśniowej czy tworzenie naczyń krwionośnych. Wiele elementów przebudowy dróg oddechowych ma charakter nieodwracalny lub jedynie częściowo odwracalny. Powstanie zaawansowanych zmian o typie przebudowy dróg oddechowych trwale upośledza parametry wentylacyjne prowadząc do rozwoju przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Ostatnie lata przyniosły szereg nowych sposobów leczenia astmy ciężkiej w oparciu o tzw. leki biologiczne. Obecnie w leczeniu astmy stosowane są w Polsce trzy leki biologiczne w ramach programów lekowych. Są to humanizowane przeciwciała wiążące i blokujące immunoglobulinę E (omalizumab), interleukinę-5 (mepolizumab) oraz podjednostkę alfa receptora interleukiny-5 (benralizumab). Chociaż skuteczność tych leków została udokumentowana w szeregu zaślepionych, randomizowanych, kontrolowanych placebo badań klinicznych, to w dalszym ciągu nie znamy wszystkich mechanizmów związanych z działaniem tych leków. Szczególnie mało znany jest wpływ leczenia lekami biologicznymi na zapobieganie procesom przebudowy dróg oddechowych. Badanie mechanizmów działania leków biologicznych w astmie ciężkiej jest trudnym zadaniem zarówno medycznym jak i logistycznym wymagającym często współpracy kilku badaczy. Podjęcie przez Doktorantkę tak trudnego wyzwania uważam za jak najbardziej uzasadnione zarówno z punktu widzenia naukowego jak i klinicznego.

Praca doktorska przedstawiona jest na 72 stronach maszynopisu i ma układ typowy dla rozprawy opartej o zbiór publikacji. Można w niej wyróżnić następujące części: Spis treści, Wykaz publikacji, Omówienie pracy zakończone wnioskami i bibliografią, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Publikacje stanowiące rozprawę oraz Załączniki.

Krótki Wstęp poświęcony jest pokazaniu miejsca astmy ciężkiej wśród chorób układu oddechowego oraz idei prowadzonych badań dotyczących oceny klinicznej oraz mechanizmów przebudowy oskrzeli w trakcie leczenia omalizumabem. Doktorantka wyjaśnia dlaczego wybrane do oceny parametry mogą pomóc w wiarygodnej ocenie patogenezy

przebudowy dróg oddechowych u chorych na astmę ciężką w trakcie leczenia lekiem biologicznym.

Na kolejnych stronach Doktorantka przedstawia opis kwalifikowanych chorych oraz stosowanych metod, które również przedstawione są w każdej publikacji oddzielnie. Zbiorcze zestawienie metod ułatwia całościowe spojrzenie na wykonane przez Autorkę badania.

Dalej Doktorantka przedstawia w skrócie przebieg badań oraz wnioski płynące z trzech publikacji będących osnową rozprawy doktorskiej. Ta część pracy doktorskiej zakończona jest siedmioma wnioskami dotyczącymi efektów leczenia omalizumabem zarówno na parametry kliniczne, laboratoryjne jak i na cechy przebudowy dróg oddechowych wykazane w badaniach histologicznych oraz ocenie płynu płukania oskrzelowo-pęcherzykowego.

Wnioski logicznie wynikają z przeprowadzonych badań i wskazują nie tylko na korzystne klinicznie efekty leczenia omalizumabem, ale również na potencjalne działanie hamujące proces przebudowy dróg oddechowych poprzez zmniejszenie depozycji fibronektyny w ścianie oskrzeli. Analizując swoje dane Doktorantka odnosi się do 53 pozycji literaturowych, których listę przedstawia na kolejnych stronach. Pozycje literaturowe są dobrane właściwie i odzwierciedlają obecny stan wiedzy dotyczący badanego przez Doktorantkę zagadnienia zarówno w aspekcie klinicznym jak i badawczym.

Streszczenia w języku polskim i angielskim ułatwiają całościowe spojrzenie na prezentowane w pracy badania.

Praca doktorska oparta jest na trzech publikacjach, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach, a łączny współczynnik oddziaływania (ang. impact factor) wynosi 3.789. Dodatkowo oświadczenia współautorów jak i samej Doktorantki potwierdzają kluczowe znaczenie jej udziału w powstaniu powyższych publikacji. Publikowane w kolejności prace pokazują na logiczne, usystematyzowane podejście Autorki do postawionego sobie zadania. Rozpoczynając

badania dotyczące leczenia omalizumabem w oparciu o szczegółową ocenę kliniczną Autorka w dalszym ciągu poszerza je o ocenę histologiczną, a w następnej kolejności sięga po metody immunohistochemiczne i immunoenzymatyczne w celu oceny potencjalnych mechanizmów mogących odpowiadać za obserwowane u tych chorych zjawiska biologiczne. Już w pierwszej publikacji Autorka zwraca uwagę na różnice w odpowiedzi klinicznej chorych włączonych do leczenia zgodnie z kryteriami właściwego programu lekowego. Stratyfikacja chorych na dwie grupy, w zależności od odpowiedzi klinicznej, umożliwia skuteczniejsze poszukiwanie parametrów klinicznych i laboratoryjnych, które mogą pomagać w poznaniu mechanizmów działania leku. Rzeczywiście, z wyników badań wynika, iż chorzy o większym nasileniu procesu zapalnego przed włączeniem do leczenia wykazywali większą poprawę kliniczną na leczenie omalizumabem. W następnych publikacjach Autorka skupia się na ocenie procesu przebudowy w drogach oddechowych opierając się na badaniu bronchofiberoskopowym z biopsją oskrzeli i płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym. Jest to technika trudna do wykonania szczególnie u chorych na ciężką astmę, ale dostarcza niezwykle cennego materiału do badań procesu chorobowego toczącego się w drogach oddechowych. Tego rodzaju badania u chorych na astmę są niezwykle cenne i zasługują na szczególne uznanie. Zastosowane techniki immunohistochemiczne pozwoliły na wykazanie istotnego efektu leczenia omalizumabem na depozycję fibronektyny w błonie śluzowej oskrzeli oraz zmniejszenie grubości macierzy zewnątrzkomórkowej w warstwie podnabłonkowej oskrzeli. Z kolei analiza stężeń metaloproteinaz w płynie płukania oskrzelowo-pęcherzykowego wskazuje, iż ich ekspresja może być modyfikowana poprzez leczenie omalizumabem. Wszystkie trzy prace stanowią całość badawczą i wnoszą istotny wkład w poznanie patomechanizmów astmy ciężkiej oraz sposobu działania omalizumabu u tych chorych.

Warto odnotować fakt, iż Autorka jest świadoma szeregu ograniczeń, które napotkała w prowadzonych badaniach. Są one klarownie przedstawione na poziomie dyskusji w poszczególnych publikacjach.

Biorąc udział w dyskusji nad powyższą rozprawą chciałbym aby Doktorantka w trakcie obrony ustosunkowała się do następujących, nurtujących mnie pytań, na które nie potrafiłem znaleźć jednoznacznej odpowiedzi podczas analizy tekstu pracy doktorskiej:

1. Czy na podstawie własnych badań Doktorantka rekomendowałaby zmianę kryteriów włączania chorych z astmą ciężką do leczenia omalizumabem? Proszę o uzasadnienie odpowiedzi.
2. Czy chorzy przedstawieni w publikacjach nr 2 i 3 byli również uwzględnieni w publikacji nr 1?
3. Jak długo przed włączeniem do badania chorzy pozostawali pod opieką ośrodka kwalifikującego do leczenia biologicznego? Jakie kryteria kierowały dobozem dawki kortykosteroidów przed włączeniem do badania?
4. Czy Doktorantka mogłaby nieco bardziej przybliżyć płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe? Czy stosowano jeden wlew soli fizjologicznej 200 ml, czy 4x50 ml? W przypadku stosowania 4 frakcji: czy do oznaczeń używano jednej z nich, czy łączono wszystkie, a następnie poddawano analizie? Jaki był odzysk płukania? Czy odzysk zmienił się w trakcie leczenia omalizumabem?
5. Czy wykonywana była próba rozkurczowa przed i po leczeniu omalizumabem? Niestety w publikacjach nie zauważyłem wyników tego badania, chociaż podane jest w części dotyczącej metod.
6. Czy test stosowany do oceny stężenia metaloproteinaz wykrywa również te białka związane z inhibitorami?

7. W Dyskusji publikacji J Asthma 2020 (str. 43) Autorka stwierdza w jednym miejscu, iż podgrupy stratyfikowane według skali GETE nie różniły się grubością błony podstawnej, depozytami fibronektyny czy kolagenu ani przed, ani po leczeniu. Jednocześnie dalej stwierdza, iż zmniejszenie depozytów fibronektyny korelował z poprawą kliniczną. Bardzo proszę o komentarz.
8. Przedstawiony odsetek komórek w płynie płukania oskrzelowo-pęcherzykowego w tabeli na stronie 51 (J Asthma 2022) sumarycznie wynosi 98% przed leczeniem i 89% po leczeniu. Dlaczego?
9. Przedstawiony na stronie 12 „Ogólny plan” jest nieco niejasny. Stwierdzenia przedstawione w punkcie 4 i 6 wydają się być niespójne.

Powyżej przedstawione pytania w żadnym stopniu nie umniejszają wartości pracy doktorskiej, a są jedynie wynikiem dużego zainteresowania prezentowanymi badaniami, które uważam za niezwykle istotne i unikalne.

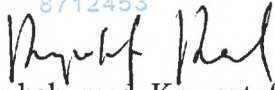
Podsumowanie

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji praca spełnia formalne wymagania stawiane rozprawom doktorskim w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z póź. zm.). Uważam, iż lekarz Weronika Zastrzeżyńska właściwie spostrzegła i przedstawiła istotny problem kliniczny dotyczący leczenia chorych na astmę ciężką, poprawnie zaplanowała badania, które następnie zrealizowała we współpracy z doświadczonym zespołem w renomowanym ośrodku klinicznym, pod kierunkiem wybitnego znawcy tematu. Szczegółowa analiza na poszczególnych etapach badań pozwalała na stawianie kolejnych zadań badawczych, które logicznie wynikały z uprzednio wykonanych analiz, a które następnie Doktorantka

skutecznie realizowała. Badania zostały przeprowadzone na unikalnym materiale biologicznym, który był możliwy do uzyskania dzięki sprawnej kooperacji wszystkich członków zespołu badawczego. Całość pracy stanowi niewątpliwie niezwykle istotny przyczynek do zrozumienia patogenezы astmy alergicznej oraz sposobu działania nowoczesnych leków, które obecnie mamy do dyspozycji. Niniejszym wnioskuję o dopuszczenie powyższej pracy do publicznej obrony.

Białystok 02.06.2023

Prof. dr hab. med.
KRZYSZTOF W. KOWAL
lekarz alergolog
specjalista chorób wewnętrznych
87 124 53



Prof. dr hab. med. Krzysztof Kowal