



Dr hab.n.med. Henryk Mazurek  
Klinika Pneumonologii i Mukowiscydozy  
Oddział Terenowy IGiChP  
34-700 Rabka – Zdrój  
Ul. Prof. Rudnika 3b

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej mgr inż. Anny Skotny

pt. *"Test wiązania Aneksyny – V na powierzchni bazofila w diagnostyce uczulenia na żyto"*

Na początku XXI wieku diagnostyka chorób alergicznych jest nadal wyzwaniem. Wciąż rosnąca zachorowalność na schorzenia wynikające z nadwrażliwości na alergeny obecne w otoczeniu wskazuje na potrzeby w tej dziedzinie. Z drugiej strony, dla większości metod diagnostycznych obserwuje się nakładanie wyników obserwowanych wśród osób chorych i zdrowych, co utrudnia interpretację badań dodatkowych, jak np. testów skórnych czy oznaczenia alergenowo swoistych IgE.

Rozwój nowoczesnych technik pomiarowych oraz doskonalenie opracowanych wcześniej metod otwierają nowe możliwości, ale ustalenie ich wartości diagnostycznej wymaga weryfikacji w grupach osób zdrowych oraz chorych. Jedną z obiecujących metod jest niewątpliwie test aktywacji bazofila.

W tym kontekście **wybór tematu pracy doktorskiej** przez Panią **Annę Skotny** należy ocenić pozytywnie, jako trafny w aspekcie zarówno poznawczym jak i praktycznym. Podjęcie tematu przez mgr inż. **Annę Skotny** dokonane w pracy doktorskiej, stwarza szansę na istotne pogłębienie wiedzy tym w zakresie.

**Tytuł** pracy precyzyjnie oddaje jej treść.

#### **I. Ocena formy pracy**

Skrypt pracy mgr inż. **Anny Skotny** na stopień doktora nauk medycznych składa się z 96 stron tekstu zasadniczego, podzielonego na główne rozdziały w sposób obowiązujący w opracowaniach naukowych, tj.: *Wstęp – Założenia metodologiczne badań własnych – Materiały i metody – Wyniki badań własnych - Dyskusja – Wnioski*, co jest przejrzyste zestawione w *Spisie treści*. Wykaz *Piśmiennictwa* stanowiący zestawienie 123 pozycji,

zarówno obcojęzycznych jak i uwzględnionych publikacji krajowych, ułożony jest w kolejności przywoływania w tekście pracy. Ponadto w pracy znajdują się 23 tabele i 52 ryciny, umieszczone w tekście pracy w sposób ciągły. *Streszczenie* stanowi uzupełnienie tekstu dysertacji, reasumując najistotniejsze elementy opracowania (podobnie jak umieszczone po nim *Summary* w języku angielskim).

Bardzo obszerny *Wstęp* sprawnie wprowadza w przedstawiane zagadnienie i daje sposobność do racjonalnego wyводу celu badania. Jego długość wynosi 25% całej pracy.

*Cel badania* jest przedstawiony opisowo w omówieniu założeń metodologicznych pracy, po którym pojawiają się 3 cele szczegółowe, wymienione w punktach.

Rozdział *Materiały i metody* zajmuje 22% pracy i jest dostatecznie szczegółowy. Prezentacja *Wyników badań własnych* zajmuje 35% pracy, a następująca po nich *Dyskusja* jest nieco krótsza (15%) od wyników, ale nie w stopniu budzącym formalne zastrzeżenia. Rozdziały główne pracy są podzielone na podrozdziały, co znacznie zwiększa przejrzystość prezentacji.

*Wnioski* stanowią odpowiedź na szczegółowe pytania wymienione w celu pracy, przy czym ich liczba koresponduje z liczbą celów szczegółowych, co znacznie ułatwia odpowiedź na pytanie, czy udało się znaleźć na nie odpowiedź.

*Streszczenie* ułatwia szybkie zapoznanie się z najistotniejszymi fragmentami treści pracy, przed przystąpieniem do uważnego jej studiowania. Nic co ważne w pracy nie zostało w tym streszczeniu pominięte.

Zestawione w *Piśmiennictwie* pozycje są cytowane w stosownych fragmentach tekstu, co świadczy o ich rzeczywistym wykorzystaniu.

W zewnętrznej ocenie formy skryptu doktorskiego z przyjemnością można pochwalić jego przejrzysty układ oraz staranne wydanie pracy. Tabele i ryciny są umieszczone w strumieniu tekstu, co ułatwia zapoznavanie się z pracą.

## II. Ocena merytoryczna pracy.

Większość skrótów użytych w tekście pracy jest opisana przy użyciu po raz pierwszy, a zastosowane w skróty są zgodne z obowiązującą terminologią.

Rozważania we wstępie przedstawiają omówienie problemu chorób alergicznych i ich diagnostyki, ze szczegółowym opisem aktualnego stanu wiedzy na temat budowy i roli przeciwciał IgE. Przedstawiona jest również zwięzła charakterystyka diagnostyki chorób IgE-zależnych, ze szczególnym podkreśleniem miejsca i roli badań laboratoryjnych.

Na tym tle uzasadniony jest *Cel badania*, z wyróżnieniem przez Autorkę 3 celów szczegółowych, opisujących gruntownie zaplanowane analizy. Dopiero tu pojawia się pierwsza wzmianka o tytułowej aneksynie – V (str. 30 – przy prezentowaniu celu pracy), co tym bardziej intryguje czytelnika, poszukującego informacji o tym białku.

Pani Anna Skotny podjęła się próby rozwiązania zawartego w tytule pracy problemu w oparciu o analizę wyników zaprojektowanego i zrealizowanego przez siebie badania. Badania prowadzone były w Laboratorium Naukowym Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Opis zastosowanych metod jest zwięzły, ale wydaje się być precyzyjny. Zastosowana metodologia badań jest swoista dla analityki medycznej i jest trudna do oceny przez klinicystę. Autorka wykorzystowała nowatorską metodę badania ekspresji wiązania aneksyny -V jako markera aktywacji bazofili w diagnostyce uczulenia na żyto, w połączeniu z wykorzystaniem anty-CCR3 jako markera identyfikacji.

Szczegółowe przedstawienie wyników analizy oraz ich omówienie stanowią zasadniczą część dysertacji. Przedstawione przez autorkę wyniki analiz są przedstawione czytelnie. Autorka dokonała analizy wyników w grupie 37 chorych uczulonych na alergeny pyłków żyta (zdefiniowanych dodatnim wynikiem testów skórnych) oraz kontrolnej grupie 32 osób nieuczulonych. W porównaniu z oznaczeniem alergenowo swoistych IgE, przeprowadzone badania aktywacji bazofili cechowała taka sama czułość, natomiast wyższa swoistość. Natomiast połączenie oznaczenia alergenowo swoistych IgE i testu wiązania aneksyny – V pozwoliło na uzyskanie pełnej zgodności diagnostycznej (100% czułość i 100% swoistość).

Warto podkreślić, że Autorka zwraca uwagę na elastyczność i kompromisowy charakter wyboru punktu odcięcia, który w przypadku analizowanej grupy chorych wyniósł 0,21 kUA/l dla alergenowo swoistych IgE.

Z obowiązku recenzenta pozwolę sobie zwrócić uwagę, że niektóre analizy mogły być pominięte, gdyż są swego rodzaju pętlą logiczną, jak np. porównanie wyników testów skórnych (będących kryterium podziału na uczulonych i nieuczulonych) pomiędzy grupą uczulonych i kontrolną (str. 54 – 55).

Zwięzła dyskusja stanowi omówienie własnych spostrzeżeń, w porównaniu z dostępnymi danymi z literatury medycznej przedmiotu. Autorka zwraca uwagę na możliwe przyczyny rozbieżności wyników uzyskiwanych przez różnych autorów, a także przedstawia możliwe aplikacje uzyskanych wyników. Przeprowadzone rozumowanie jest przekonujące, a dyskusja z innymi badaczami dokonywana logicznie i z dużą swobodą, co

świadczy o dogłębnej znajomości naukowych podstaw zagadnienia i nabyciu umiejętności krytycznego rozumowania.

Wnioski odpowiadają pytaniom sformułowanym w Celu pracy.

Spośród cytowanych 123 pozycji piśmiennictwa, zdecydowaną większość (73 = 59%) stanowią pozycje aktualne - źródła internetowe lub prace opublikowane w latach 2007 - 2016. Cytowane źródła (zarówno opublikowane drukiem jak i internetowe) są również poprawnie przywołane.

Zwięzłe wnioski mają duże znaczenie poznawcze i praktyczne. Szczególnie ważne jest wykazanie wysokiej trafności diagnostycznej analizowanej metody - zarówno stosowanej pojedynczo jak i w połączeniu z oznaczaniem alergenowo swoistych IgE. Z jednej strony, może to pozwolić zmniejszyć odsetek chorych z niejednoznacznymi wynikami diagnostycznymi, z drugiej strony, otwiera możliwości przyszłych zastosowań, jako np. alternatywa dla testów prowokacji swoistej. Równocześnie uzasadnia to celowość dalszych badań zmierzających do możliwie pełnego potwierdzenia przydatności oznaczeń z użyciem aneksyny V. W kontekście niezbyt licznych danych na ten temat, ważne są obserwacje Pani Skotny dotyczące możliwości obniżenia kosztów diagnostycznych tego oznaczenia, dzięki czemu może ulec zwiększeniu jej zastosowanie praktyczne.

Najistotniejsze dla mnie zdecydowanie jest jednak wykazanie znakomitej trafności diagnostycznej tej metody. Wyniki te potwierdzają niewątpliwą użyteczność diagnostyki z użyciem oznaczeń aneksyny - V, ale z drugiej strony zwracają uwagę na aktualnie stosunkowo wysoki koszt tego oznaczenia oraz ograniczoną dostępność metody.

Wysoko należy docenić ograniczenie się przez Mgr Annę Skotny do przedstawienia tylko wniosków dotyczących spostrzeżeń w zakresie określonym w tytule oraz celach szczegółowych pracy. Wnioski pani Anny Skotny mają duże znaczenie poznawcze i praktyczne, a w przyszłości być może przełożą się na nowe zastosowania diagnostyczne. Rzetelnie wykonane opracowanie przyniosło ważne spostrzeżenia na temat możliwości poszerzenia spektrum metod *in vitro* diagnostyki alergologicznej.

Przedstawione szczegółowo wyniki badań, w przypadku upowszechnienia technik oznaczeń oraz dalszego obniżania ich kosztów, prawdopodobnie będą mogły być wykorzystane w praktyce, na co Autorka zwraca uwagę w końcowym rozdziale pracy doktorskiej.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na to, że mimo znakomitego stylu pracy i widocznej najwyższej staranności przy opracowaniu edycji tekstu, zdarzają się nieliczne błędy redakcyjne:

Na str. 12 Autorka napisała, że „*cierpimy z powodu uczulenia na roztocze*”, podczas gdy cierpienie wywołuje dopiero choroba alergiczna, rozwijająca się na podłożu uczulenia tylko u części osób.

Na str. 18 znajdujemy enigmatyczną informację, że „...*oznaczanie całkowitego stężenia IgE w niektórych przypadkach daje nieprawidłowe wyniki*”, natomiast z dalszego tekstu wynika, że chodzi raczej o trudności interpretacji oznaczenia.

Na str. 19 mowa jest o „*narodowym Instytucie Alergii i Chorób Zakaźnych*” – prawdopodobnie amerykańskim, ale tego trzeba się domyśleć. Na tej stronie pojawia się też określenie „*biochip*”, bez wyjaśnienia, co kryje się za tym słowem.

Na str. 25 Autorka ostrzega przed zjawiskiem przenikania kanałów: „... *należy wspomnieć o istnieniu obwodni emisyjnych, które są szerokie (nawet jeśli maksima fluorescencji są wąskie i dobrze rozseparowane)*”, co stanowi fragment trudny do zrozumienia przez klinicystę. Trudny do zrozumienia przez swą zawilóść stylistyczną jest też ostatni akapit str.29.

Z kolei na str. 36 Autorka napisała, że „*Badania korelują z sytuacją demograficzną*”, co trzeba uznać za skrót myślowy.

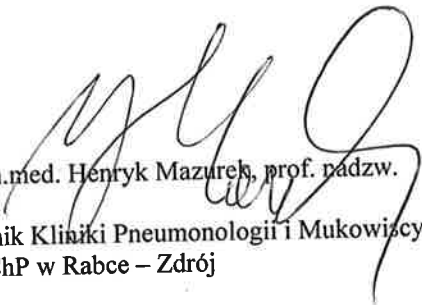
Mimo staranności Autorki, obecne są drobne błędy literowe [np.makrafagi (str.9), celiaklii (str.17)] czy interpunkcyjne (np. str. 19).

Wspomniane niewielkie usterki redakcyjne w żaden sposób nie umniejszają merytorycznej wartości pracy doktorskiej Pani Anny Skotny. Uważam, że Pani Anna Skotny w przedstawionej dysertacji doktorskiej wykazała bardzo dobre przygotowanie do pracy naukowej i dowiodła posiadania umiejętności samodzielnego rozwiązywania zagadnień. Nieliczne zastrzeżenia dotyczą szczegółów redakcji pracy łatwych do skorygowania, lub które mogą być wyjaśnione w trakcie obrony pracy. Praca Anny Skotny zatytułowana „*Test wiązania Aneksyny – V na powierzchni bazofila w diagnostyce uczulenia na żyto*” jest przeze mnie oceniona pozytywnie, ponieważ poszerza naszą wiedzę o przydatności nowych metod diagnostycznych w rozpoznawaniu alergii. Ma to również ogromny aspekt praktyczny, ponieważ przybliży nas do etapu, kiedy prawdopodobnie test aktywacji bazofili stanie się szerzej dostępnym narzędziem diagnostycznym, podobnie jak ma to miejsce w przypadku oznaczania alergenowo swoistych IgE.

Praca magister inżynier Anny Skotny zatytułowana „*Test wiązania Aneksyny – V na powierzchni bazofila w diagnostyce uczulenia na żyto*” jest przeze mnie oceniona pozytywnie, ponieważ wnosi informacje ważne dla nauki i praktyki klinicznej, ale również recenzowana rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 ust. 1 ustawy z dnia 14

marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Przedstawione unikalne wyniki tych badań niewątpliwie zasługują na publikację, do czego doktorantkę zachęcam.

Z wymienionych przyczyn **przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie magister inżynier Annę Skotny do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**



Dr hab.n.med. Henryk Mazurek, prof. nadzw.

Kierownik Kliniki Pneumonologii i Mukowiscydozy  
ZP IGiChP w Rabce – Zdrój