

Bydgoszcz, dnia 19. 04. 2017r.

**Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych
lek. med. Małgorzaty Bulanda, pt. „Zastosowanie testu aktywacji bazofilów
(BAT) w immunoterapii swoistej (SIT) alergenami wziewnymi.**

Uważa się, że na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat udział reakcji nadwrażliwości w wyzwalaniu lub kształtowaniu wielu dolegliwości klinicznych wykazuje tendencje wzrostową. Wzrost ten dotyczy zarówno populacji wieku rozwojowego jak i osób dorosłych i jest odbiciem ogólnego wzrostu chorób atopowych na świecie. Ocenia się, że obecnie około 40% populacji szczególnie w dużych aglomeracjach miejskich cierpi na choroby atopowe. Zgodnie z prognozami Światowej Organizacji Zdrowia wiek XXI będzie niósł z sobą epidemię chorób z kręgu atopii. Sugeruje się, że w roku 2025 co drugi Europejczyk będzie cierpiał z powodu różnych form alergii. Prognozy te są w pełni uzasadnione, gdyż np. w Stanach Zjednoczonych liczba chorych na astmę podwoiła się w ciągu ostatnich 15 lat i stanowi ona najczęstszą chorobę przewlekłą wieku dziecięcego. Wzrasta częstość chorób atopowych ale również przebieg kliniczny bywa znacznie bardziej nasilony, powikłany, prowadzący do wielu, czasami trwałych i nieodwracalnych zmian narządowych i jednocześnie do wzrostu liczby zgonów.

I w tym znaczeniu choroby alergiczne stanowią w chwili obecnej jeden z głównych problemów, przed jakim staje współczesna medycyna.

Jedyną metodą leczenia chorób alergicznych poza eliminacją lub ograniczaniem ekspozycji na alergeny jest immunoterapia swoista. Podstawą wdrożenia tych działań jest jednak właściwa, oparta na dowodach diagnostyka alergiczna, która pozwala odpowiedzieć na pytanie co uczula i co jest przyczyną dolegliwości. Zgodnie z przyjętymi standardami sformułowanymi przez ekspertów

Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej (EAACI) a także ekspertów Amerykańskiej Akademii AAAAI diagnostyka pozwalająca odpowiedzieć na pytanie co jest czynnikiem przyczynowym choroby alergicznej obejmuje wywiad, testy skórne, badania immunologiczne, w tym testy molekularne a także testy prowokacji swoistym alergenem. Jednym z testów, które zwiększa szansę skutecznego rozpoznania zarówno w ocenie prawdopodobieństwa skutecznej odpowiedzi na immunoterapie, jak i jej bezpieczeństwo i długotrwały efekt jest test aktywacji bazofilów (BAT). BAT jest wysoce czułym testem diagnostycznym wymagającym użycia cytometru przepływowego, który ma zastosowanie w ocenie nadwrażliwości na alergeny powietrzno-pochodne, leki, jady czy niektóre pokarmy.

Wybór zatem tematu rozprawy doktorskiej lek. med. Małgorzaty Balunda, stawiającej sobie za zadanie m.in. porównanie czułości i swoistości BAT w stosunku do testu prowokacji donosowej w kwalifikacji do immunoterapii swoistej z alergenami roztoczy kurzu domowego i brzozy uważam za w pełni zasadny i wychodzący naprzeciw aktualnym problemom współczesnej alergologii.

Dysertacja doktorska lek. med. Małgorzaty Balunda składa się ze spójnego tematycznie cyklu 4 artykułów oryginalnych oraz artykułu poglądowego opublikowanych w czasopismach naukowych obecnych w bazie PubMed.

We wstępie pracy, Autorka dokonała przeglądu piśmiennictwa dotyczącego epidemiologii chorób alergicznych atopowych. Następnie znaczną część wstępu poświęciła immunoterapii swoistej, jej różnym formom, mechanizmom działania. Supresja aktywacji bazofilów, wyczerpanie zapasów mediatorów komórek efektorowych przez powtarzalną stymulację i ich uwalnianie jest uważane za kluczowy mechanizm ochrony we wczesnej fazie SLIT. Dlatego potwierdzenie w BAT wczesnej desensytyzacji bazofilów jest dobrym predyktorem przyszłej skuteczności immunoterapii. Autorka przedstawiła także niezwykle ważną rolę alergenowo-swoistych limfocytów B regulatorowych a także poszczególnych cytokin, przeciwciał w rozwoju immunotolerancji pod wpływem SIT. We wstępie pracy znalazły się także wskazania i przeciwwskazania, działania niepożądane immunoterapii. Autorka omówiła w sposób przystępny i aktualny kwalifikacje do SIT zgodnie z zaleceniami EAACI a także test prowokacji donosowej. Istotnym dla czytelnika elementem wprowadzenia jest dokonana przez Autorkę charakterystyka testu aktywacji bazofilów, rolę BAT w kwalifikacji do SIT, których zasadnicze tezy znalazły się w dołączonym do rozdziału artykule autorstwa doktorantki. Wprowadzenie w tematykę będącą przedmiotem

badania, Autorka dokonała w sposób czytelny, jasny i w pełni aktualny w oparciu o bieżące piśmiennictwo.

Na podstawie celu pracy, którym było porównanie czułości i swoistości BAT w odniesieniu do testu prowokacji donosowej w kwalifikacji do SIT z alergenami roztoczy kurzu domowego i brzozy Doktorantka sformułowała trzy cele szczegółowe tj. ocena zastosowania BAT w kwalifikacji do SIT u pacjentów z niezgodnymi wynikami SPT i sIgE, przydatność BAT w monitorowaniu z alergenami kurzu domowego a także ocena wpływu metodologii na wynik BAT.

W rozdziale IV „Materiał i Metody” znalazły się informacje charakteryzujące populację objętą badaniami zarówno tą gdzie stosowano BAT w kwalifikacji do SIT jak i grupę gdzie zastosowano BAT w monitorowaniu SIT. W części tej zostały bardzo dokładnie scharakteryzowane metody badawcze, jakimi posłużyła się Autorka w pracy, w tym m.in. pomiar ekspresji antygenu CD63 testem Flow2 CAST. Znalazły się tu także opisy metod przeprowadzenia testu SPT i jego interpretacja, badań immunologicznych takich jak oznaczanie przeciwciał w surowicy, test prowokacji donosowej.

Niezwykle istotne z punktu widzenia praktycznego są uzyskane przez Doktorantkę wyniki. W badaniu pierwszym odpowiednimi stężeniami alergenu do stymulacji było 500 i 50 SBU/ml. Wynik BAT był pomocny u 2 z 3 pacjentów z niezgodnymi wynikami SPT i sIgE. Aktywność bazofilów nie zmniejszała się znacząco w ciągu 24 godzin. W badaniu drugim, którego celem było zastosowanie BAT w monitorowaniu SIT, Autorka stwierdziła wyraźny, istotny statystycznie spadek aktywacji bazofilów po skończeniu pierwszego opakowania szczepionki.

W dyskusji przeprowadzonej w czterech przedstawionych publikacjach oryginalnych, szczególnie zaś w artykule dotyczącym kwalifikacji do immunoterapii swoistej i artykule dotyczącym monitorowania SIT z alergenami kurzu u dzieci Doktorantka dojrzałe dokonała analizy porównawczej wyników badań własnych z wynikami innych autorów. Dyskusja przeprowadzona jest głęboko merytorycznie, w sposób w pełni jasny i rzeczowy.

Rozprawę kończy 5 spójnymi i w pełni zasadnymi wnioskami, które w sposób logiczny podsumowują wyniki przeprowadzonych badań.

Uzyskane wyniki są cenne ze względów poznawczych ale także praktycznych, gdyż poruszają niezwykle ważne problemy dotyczące diagnostyki chorób alergicznych. Doktorantka wykazała, że BAT cechuje się wysoką czułością i

swoistością i może stanowić alternatywną metodę diagnostyczną w przypadku, gdy istnieją przeciwwskazania do testów prowokacyjnych lub istnieją niezgodności między wynikami SPT i sIgE w kwalifikacji do SIT. Istotne z punktu widzenia praktycznego są także wnioski dotyczące metodyki, które stanowią dobrą wskazówkę dla osób posługujących się tym narzędziem diagnostycznym.

Tekst samej dysertacji jak i załączonych publikacji napisany jest poprawnym i łatwym w odbiorze językiem. Piśmiennictwo obejmuje 88 pozycji uszeregowanych w/g kolejności cytowań. Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na drobne potknięcia stylistyczne, które omówiłem z Doktorantką oraz brak w pracy informacji, gdzie wykonywano test BAT.

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, że w przedstawionej mi do recenzji pracy lek. med. Małgorzaty Bulanda, kierunek zaproponowanych badań odpowiada w pełni aktualnym problemom współczesnej alergologii. Program badawczy został szeroko i wielopłaszczyznowo zaplanowany, a następnie konsekwentnie realizowany. Wytyczone w pracy cele sformułowane zostały zasadnie, a metody badawcze właściwie dobrane. Analiza wyników oparta została na odpowiednim materiale badawczym. Całość stanowi spójne, rzetelnie przeprowadzone studium badawczo – kliniczne. Jest bardzo starannym, wartościowym i nowoczesnym opracowaniem przydatnym w codziennej pracy z pacjentem. Reasumując stwierdzam, że recenzowana rozprawa lek. med. Małgorzaty Bulanda odpowiada warunkom stawianym pracom na stopień doktora nauk medycznych. **Wnioskuje również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.**

Przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego wniosek o dopuszczenie lekarz Małgorzaty Bulanda do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med.

Zbigniew Bartuzi

Kierownik
Katedry i Kliniki Alergologii, Immunologii
Klinicznej i Chorób Wewnętrznych

prof. dr hab. Zbigniew Bartuzi