

akceptuje
prof. dr hab. n. med.



**OŚRODEK MEDYCYNY DOŚWIADCZALNEJ
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W LUBLINIE**

Ul. Dra Kazimierza Jaczewskiego 8d, 20-090 Lublin

dr hab. n. med. Tomasz Trombik

Tel: (081) 448 59 02; e-mail: tomasz.trombik@umlub.pl



Lublin, 15.05.2025 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Piszczatowskiej

pt.: „Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych – próba identyfikacji nowych biomarkerów choroby.”

Podstawa formalna sporządzenia recenzji

Niniejsza recenzja została sporządzona w związku z powołaniem przez Radę Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (WUM) z dnia 24.03.2025 r. do pełnienia funkcji recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych mgr Katarzynie Piszczatowskiej. Zgodnie z art. 187 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. 2022 poz. 574 ze zm.), zadaniem recenzenta jest ocena czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego oraz dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej doktoranta w zakresie prowadzonych badań, a także umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Z perspektywy tych właśnie kryteriów została oceniona rozprawa doktorska mgr Katarzyny Piszczatowskiej.

Dysertacja pt.: „Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych – próba identyfikacji nowych biomarkerów choroby” złożona przez mgr Katarzynę Piszczatowską, doktorantkę w Katedrze i Zakładzie Biochemii, Wydziału Lekarskiego WUM, została napisana pod kierunkiem pana dr hab. n. med. Mirosława Szczepańskiego, adiunkta w tej jednostce. Badania zostały zrealizowane w ramach dwóch Projektów Młodego Badacza (1WK/1/M/MBM/N/21 oraz 1WK/1/M/MB/N/23) przyznanych i finansowanych przez WUM. Nie określono, czy Doktorantka była kierownikiem, czy wykonawcą tych projektów.

Podstawa faktyczna recenzji

Recenzja sporządzona została na podstawie rozprawy doktorskiej przedłożonej przez Doktorantkę. Rozprawa została przygotowana w języku polskim (z wyjątkiem publikacji, które są w j. angielskim), liczy 116 stron i obejmuje analizę bibliometryczną publikacji, spis treści, wykaz stosowanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, założenia i cel pracy, kopie trzech publikacji stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora, podsumowanie i wnioski, oraz dodatkowo opinię Komisji Bioetycznej, oświadczenia współautorów publikacji określające ich indywidualny wkład w ich powstanie oraz wykaz literatury.

Tematyka rozprawy

Przedstawiona do recenzji dysertacja dotyczy przewlekłego zapalenia zatok przynosowych (PZZP) będącego chroniczną chorobą dotyczącą 5-12% społeczeństwa. Choroba ta powoduje przewlekły stan zapalny w obrębie nabłonka oddechowego wyściełającego jamy nosa i zatok przynosowych,

i w sposób znaczący obniża jakość życia pacjentów. Infekcje mikrobiologiczne i zanieczyszczenie powietrze są dodatkowymi czynnikami sprzyjającymi i zaostrzającymi przebieg choroby. Mimo że PZZP jest dosyć powszechnie występującym schorzeniem, mechanizmy molekularne leżące u jego podłoża są słabo poznane, a co za tym idzie dobór właściwej terapii ogranicza się przede wszystkim do leczenia farmakologicznego. W niektórych przypadkach chirurgiczne udrożnienie zatok przynosowych staje się konieczne w celu poprawy stanu zdrowia pacjentów. Niestety, u ok. 40% pacjentów cierpiących na PZZP z polipami następuje nawrót choroby i konieczność powtórnej interwencji chirurgicznej.

Patogeneza PZZP jest wieloczynnikowa i uwzględnia m.in. dysfunkcję układu immunologicznego jako efekt przewlekłej stymulacji nabłonka oddechowego i zachwiania równowagi cytokinowej, zmiany w obrębie naturalnej mikroflory bakteryjnej, przebudowę nabłonka oddechowego zarówno w obrębie struktury jak i funkcji poszczególnych typów komórek, co bezpośrednio wiąże się z aktywnością immunologiczną w szczególności limfocytów T pomocniczych typu Th1 i 2. Limfocyty Th1 mogą przyczyniać się do przewlekłego stanu zapalnego poprzez stałą produkcję cytokin prozapalnych, co prowadzi do uszkodzenia tkanek i włóknienia, natomiast limfocyty Th2 mogą przyczyniać się do zwiększonego włóknienia i przebudowy tkanki poprzez stymulację fibroblastów i produkcję białek macierzy pozakomórkowej. W PZZP obserwuje się często równocześnie aktywność obu tych antagonistycznych subpopulacji Th. Niekontrolowane reakcje Th2 mogą prowadzić do nadwrażliwości i alergii, podczas gdy Th1 mogą potęgować stan zapalny, a równowaga między tymi subpopulacjami jest istotna dla utrzymania zdrowia błony śluzowej zatok.

Coraz częściej badania wskazują również na małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe zwane egzosomami (z ang. small extracellular vesicles sEVs/exosomes) jako istotne z punktu widzenia patogenezy PZZP. Pęcherzyki te, otoczone podwójną błoną lipidową są zdolne do przenoszenia tzw. cargo, którym mogą być np. białka, lipidy, kwasy nukleinowe czy metabolity komórkowe. Uwalniane zewnątrzkomórkowo mogą modulować aktywność komórek znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie jak i również dużo bardziej oddalonych. Wykazano, że sEVs biorą udział w różnych procesach tj. przebudowa tkanki i proliferacja komórkowa, angiogeneza, modulacja aktywności układu odpornościowego czy proces metastazy w przypadku chorób nowotworowych.

Wreszcie, istotną rolę w patogenezie PZZP odgrywają szlaki TGF- β /Smad2 oraz ścieżka 2',3'-cAMP – CNPaza – adenozyne. Białko TGF β 1 jest plejotropową cytokiną, która odgrywa kluczową rolę w procesach fizjologicznych i patologicznych, takich jak np. rozwój, gojenie ran, regulacja układu odpornościowego i choroby nowotworowe. Białko to aktywuje receptory T β RI i II, co prowadzi do fosforylacji i oligomeryzacji białek Smad2 i Smad3. Powstały kompleks translokuje do jądra, gdzie reguluje ekspresję genów związanych z cyklem komórkowym, apoptozą oraz aktywnością komórek układu odpornościowego. Szlak TGF β 1/Smad wpływa przede wszystkim na aktywność komórek nabłonkowych, fibroblastów i komórek odpornościowych, przyczyniając się do włóknienia i przebudowy tkanki nabłonkowej nosa i zatok. W fibroblastach błony śluzowej nosa TGF β 1 indukuje ekspresję białka HSP47, co wspomaga ich przekształcenie w miofibroblasty i może indukować przemianę epitelialno-mezenchymalną. Z kolei adenozyne, produkowana endogennie, odgrywa ważną rolę w procesach zapalnych, a jej szlak syntezy związany jest z rozkładem mRNA. CNPaza przekształca 2',3'-cAMP do adenozyne, która wpływa na aktywność fibroblastów i produkcję macierzy zewnątrzkomórkowej. Stymulacja obu tych szlaków jest istotna w przebudowie nabłonka w chorobach zapalnych górnych dróg oddechowych. Egzosomy wydzielane przez nabłonek mogą odzwierciedlać zmiany zachodzące w trakcie stanu zapalnego, co czyni je obiecującym obszarem badań w kontekście patogenezy PZZP oraz potencjalnych nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych.

Podstawa rozprawy doktorskiej i omówienie publikacji Doktorantki

Niniejsza rozprawa doktorska jest cyklem trzech publikacji naukowych (1-3), opublikowanych w latach 2021-2024, w recenzowanych czasopismach anglojęzycznych, posiadających współczynnik Impact Factor (IF). Pierwsza z nich to praca oryginalna, a pozostałe, to prace przeglądowe:

1. Piszczatowska K, Czerwaty K, Dżaman K, Jermakow N, Brzost J, Kantor I, Ludwig N, Szczepański MJ. *Evaluation of CNPase and TGFβ1/Smad Signalling Pathway Molecule Expression in Sinus Epithelial Tissues of Patients with Chronic Rhinosinusitis with (CRS_{swNP}) and without Nasal Polyps (CRS_{ssNP})*. *J Pers Med*. 2024 Aug 23;14(9):894. doi: 10.3390/jpm14090894. PMID: 39338148; PMCID: PMC11433593. MDPI, IF=3.00; MEiN=70;
2. Czerwaty K, Piszczatowska K, Brzost J, Ludwig N, Szczepański MJ, Dżaman K. *Immunological Aspects of Chronic Rhinosinusitis*. *Diagnostics (Basel)*. 2022 Sep 29;12(10):2361. doi: 10.3390/diagnostics12102361. PMID: 36292050; PMCID: PMC9600442. MDPI, IF=3.60; MEiN=70;
3. Piszczatowska K, Czerwaty K, Cyran AM, Fiedler M, Ludwig N, Brzost J, Szczepański MJ. *The Emerging Role of Small Extracellular Vesicles in Inflammatory Airway Diseases*. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Feb 2;11(2):222. doi: 10.3390/diagnostics11020222. PMID: 33540806; PMCID: PMC7913078. MDPI, IF=3.99; MEiN=70.

Sumaryczny IF artykułów stanowiących podstawę dysertacji Doktorantki wynosi 10.59, co odpowiada 210 punktom MEiN. Pani mgr Katarzyna Piszczatowska w publikacjach nr 1 i 3 jest pierwszym autorem, w publikacji nr 2 pierwsze autorstwo jest współdzielone. Według informacji dostępnych w oświadczeniach doktorantki i współautorów publikacji, jej procentowy wkład w powstanie tych prac wynosił 40% dla pracy nr 1 i 3 oraz 30% dla pracy nr 2. Doktorantka brała udział w opracowaniu metodologii, wykonaniu badań, analizie danych, analizie bibliografii oraz pisaniu manuskryptów, co potwierdza jej zaangażowanie w powstanie przedstawionych publikacji. Dodatkowo należy wspomnieć, że analiza bazy Scopus pozwoliła recenzentowi ustalić iż od 2019 r. Doktorantka jest współautorem 8 publikacji, cytowanych łącznie 76 razy i posiada h index równy 6.

W pracy nr 1 autorzy zajęli się analizą immunohistochemiczną ekspresji białek szlaków CNPazy oraz TGFβ1/Smad w nabłonku zatok przynosowych u pacjentów z PZZP z polipami i bez polipów. Badanie przeprowadzono na grupie 43 pacjentów (20 pacjentów PZZP z polipami; 23 pacjentów PZZP bez polipów) oraz 8 osób zdrowych jako kontrola. Skupiono się na roli przebudowy tkankowej w PZZP, podkreślając zmiany w komórkach nabłonkowych, fibroblastach i aktywności komórek immunologicznych. Zwrócono uwagę na zwiększenie ekspresji TGFβ1 oraz związanych z nim szlaków sygnałowych w różnych podtypach PZZP oraz po raz pierwszy wykazano ekspresję CNPazy w tych tkankach. Zauważono zwiększoną ekspresję TGFβ1 i białek Smad, z różnicami między grupami pacjentów, co sugeruje ich rolę w przejściu nabłonkowo-mezenchymalnym (EMT) i remodelowaniu tkankowym. W przypadkach PZZP z polipami ekspresja TGFβ1 była bardziej wyraźna w porównaniu do kontroli, podczas gdy w PZZP bez polipów zaobserwowano podwyższony poziom ekspresji białka Smad2. Poziom ekspresji CNPazy był skorelowany z TGFβ1, co wskazuje na potencjalny synergistyczny efekt w promowaniu EMT. Zmniejszona ekspresja CNPazy u pacjentów z PZZP bez polipów może prowadzić do uszkodzenia tkanek. Stwierdzono również zwiększoną ilość eozynofili u pacjentów PZZP z polipami która korelowała z poziomem CNPazy i TGFβ1, łącząc zapalenie z procesami remodelowania tkanek. Badanie to sugeruje również, że zmniejszona ekspresja CNPazy może być związana z dysfunkcją rzęsek, wpływając na oczyszczanie rzęskowe, kluczowy mechanizm obronny w nabłonku nosa.

Podsumowując, wyniki tej pracy sugerują złożone interakcje pomiędzy TGFβ, CNPazą i odpowiedzią immunologiczną w PZZP, co wymaga dalszych badań na większej grupie pacjentów. Praca napisana jest w sposób jasny, z czytelnymi i właściwie opisanymi rycinami. Posiada bogatą bibliografię, choć wiele z cytowanych prac jest starszych niż 10 lat.

Praca nr 2 jest pracą przeglądową dotyczącą immunologicznych aspektów przewlekłego zapalenia zatok. Autorzy skupiają się na przedstawieniu stanu wiedzy dotyczącego mechanizmów strukturalnych i komórkowych związanych z patologią PZZP. W sposób obszerny omówiona zostaje odpowiedź swoista i nabyta związana z PZZP uwzględniając główne typy komórek immunologicznych zaangażowanych w ten proces. W ostatniej części pracy, autorzy skupiają się na problematyce remodelowania tkanki nabłonkowej w PZZP i ewentualnej roli egzosomów w tym procesie. Praca jest napisana starannie i dobrze ilustrowana. Pokażna bibliografia (161 pozycji) świadczy o dużym wkładzie autorów w jej przygotowanie.

Praca nr 3 jest również pracą przeglądową dotyczącą roli egzosomów w stanach zapalnych dróg oddechowych. W pierwszej części pracy autorzy przedstawiają ogólne informacje na temat egzosomów oraz ich izolacji i charakteryzacji. W dalszej części pracy skupiają się na opisie ich biogenezy, potencjalnych cargo i funkcji, by wreszcie zająć się ich rolą w patologiach górnych i dolnych dróg oddechowych o różnym podłożu. Praca kończy się perspektywami dotyczącymi ich potencjalnego wykorzystania w diagnostyce i leczeniu chorób dróg oddechowych. Praca jest napisana przejrzysto, posiada dwie ryciny i jedną tabelę. Lista cytowanej literatury zawiera 109 pozycji, w większości prace z ostatnich 10 lat.

Struktura rozprawy doktorskiej

Wstęp do dysertacji został napisany dobrze, co w połączeniu z zamieszczonymi w rozprawie kopiami publikacji w zupełności wystarcza i pozwala czytelnikowi zorientować się w omawianym obszarze badawczym. Niemniej jednak mam kilka uwag dotyczących tej części. Doktorantka powinna cytować w tekście ryciny poczynawszy od ryciny 1, natomiast tutaj pierwszą cytowaną ryciną jest rycina 2 (str. 17), potem rycina 3 (str. 18), a następnie rycina 1 (str. 21). Dodatkowo, w opinii recenzenta legendy pod rycinami są dosyć ubogie, w szczególności dotyczy to ryc. 1. W przypadku jednej z rycin (ryc. 2) Doktorantka precyzuje, że została ona przygotowana przy użyciu platformy Biorender. Co z pozostałymi rycinami? Czy są one koncepcją Doktorantki, czy zostały zapożyczone, należało by to doprecyzować. Kuriozum jest fakt, że jedna rycina (str. 27) pozostaje bez numeru i legendy i nigdzie nie jest cytowana. Wnioskuje, że dotyczy ona szlaku sygnałowego od receptorów TGFβ. W tekście znajduje się też kilka nieścisłości/skrótów myślowych – np. należało by lepiej wyjaśnić endotypy PZZP (str. 16/17); „wydzielają tlenek azotu (NO)”, a nie „węgla” (str. 20); jakie komórki limfoidalne - wyjaśnić? (str. 20); doprecyzować „na drodze ścieżki kanonicznej” (str. 27).

Doktorantka formułuje dwa cele swojej pracy, które moim zdaniem nie do końca odpowiadają jej tytułowi. Pierwszy z nich to ocena roli układu immunologicznego i egzosomów w patogenezie PZZP, a drugi dotyczy oceny ekspresji nabłonkowej białek szlaku TGFβ1/Smad i CNPazy oraz jej znaczenia klinicznego jako potencjalnego biomarkera u pacjentów z PZZP. Doktorantka realizuje cele swojej pracy poprzez odpowiadające im publikacje naukowe (byłoby lepiej, gdyby kolejność prac w dysertacji odpowiadała kolejności stawianych do zrealizowania celów). O ile nie mam wątpliwości co do realizacji drugiego celu pracy doktorskiej poprzez publikację wyników eksperymentalnych w pracy oryginalnej, zastanawiam się w jakim stopniu pierwszy cel niniejszej rozprawy doktorskiej został zrealizowany? Na pewno poprzez przygotowanie dwóch prac przeglądowych, Doktorantka doskonale zaznajomiła się z obecnym stanem wiedzy w tym zakresie, natomiast na jakiej podstawie była w stanie ocenić rolę układu odpornościowego i egzosomów w PZZP? Być może należało inaczej sformułować

ten cel pracy dodając gdzieś wyjaśnienie, że będzie to ocena retrospektywna na podstawie dostępnej literatury?

W ostatniej części dysertacji Doktorantka w sposób syntetyczny podsumowuje wyniki swojej pracy odnosząc się przede wszystkim do cyklu publikacyjnego. Wysuwa też wnioski dotyczące potencjalnych nowych biomarkerów PZZP.

Uwagi i pytania dotyczące recenzowanej rozprawy

Poza ujętymi powyżej uwagami, o których skomentowanie prosiłbym Doktorantkę, mam jeszcze dodatkowe pytanie – w jakim kierunku, w opinii Doktorantki, powinny być kontynuowane jej badania? Może są one już kontynuowane? Czy będzie to kierunek badania równowagi (albo jej braku) w obrębie układu immunologicznego, czy może charakteryzowanie zawartości (cargo) egzosomów u pacjentów z PZZP?

Konkluzja

Podsumowując, recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego, jakim jest próba identyfikacji nowych biomarkerów PZZP. Doktorantka wykazała się wymaganą wiedzą w zakresie obejmującym rozprawę doktorską, a wyniki badań i analiz zostały opublikowane w recenzowanych anglojęzycznych czasopismach przy wiodącym udziale Doktorantki. Świadczy to o jej umiejętności samodzielnego prowadzenia badań. Pomimo pewnych wątpliwości i uwag dotyczących przedłożonej dysertacji, w mojej ocenie rozprawa doktorska mgr Katarzyny Piszczatowskiej spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2022 poz. 574 ze zm.), w związku z czym, zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o nadanie mgr Katarzynie Piszczatowskiej stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych.

KIEROWNIK
OŚRODKA MEDYCyny
DOŚWIADCZALNEJ
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
dr hab. n. med. Tomasz Trębicki

