



Instytut
Gruźlicy i Chorób Płuc Institute of Research on Tuberculosis and Lung Diseases

Prof. dr hab. n. med. Magdalena Martusewicz-Boros,

Warszawa, 11.06.2026 r.

Kierownik III Kliniki Chorób Płuc
Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc,

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Imię i nazwisko kandydata: **Lek. med. Natalia Przysucha**

Tytuł rozprawy doktorskiej: ***Ocena aktywności i stężenia chitynaz w różnych materiałach biologicznych u pacjentów z wybranymi chorobami układu oddechowego***

Promotor: **Prof. dr hab. n. med. Rafał Krenke**

Ocena formalna i struktura rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa ma typowy układ, składa się z 11 wyodrębnionych części (rozdziałów) zawartych na 88 stronach. W pracy zamieszczono kopie pozytywnych opinii Komisji Bioetycznej dotyczących przeprowadzonych badań oraz oświadczenia współautorów publikacji precyzujące ich wkład pracy.

Wykaz publikacji stanowiących fundament rozprawy doktorskiej obejmuje trzy pozycje (jedną pracę poglądową i dwie oryginalne):

1. **Przysucha N, Górka K, Krenke R.** *Chitinases and chitinase-like proteins in obstructive lung diseases - current concepts and potential applications.* Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2020 Apr 23;15:885-899. (Praca poglądowa; Punktacja MEiN: 100; IF: 3,1).
2. **Przysucha N, Górka K, Maskey-Warzęchowska M, Proboszcz M, Nejman-Gryz P, Paplińska-Goryca M, Dymek B, Zagózdzon A, Krenke R.** *The role of chitinases in chronic airway inflammation associated with tobacco smoke exposure.* Cells. 2022 Nov 25;11(23):3765. (Praca oryginalna; Punktacja MEiN: 140; IF: 5,2).

3. **Przysucha N**, Paplińska-Goryca M, Górka K, Misiukiewicz-Stępień P, Młacki M, Cyran A, Krenke R. *Exploring CHIT1 and YKL-40 in tuberculous pleural effusion: Insights and implications*. Tuberculosis (Edinb). 2025 Dec;155:102692. (Praca oryginalna; Punkcja MEiN: 100; IF: 2,9).

Łączna punktacja MEiN cyklu wynosi 340 punktów, a sumaryczny wskaźnik Impact Factor (IF) to 11,2. Dorobek ten w pełni spełnia ustawowe wymogi formalne, jak i rygorystyczne rekomendacje Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. We wszystkich publikacjach Kandydatka jest pierwszym autorem. Analiza przedłożonych oświadczeń wskazuje na Jej kluczową i dominującą rolę w powstaniu tych prac, w szczególności w zakresie planowania badań, zbierania materiału klinicznego oraz opracowania manuskryptów.

Uzasadnienie podjęcia tematu i ocena warsztatu badawczego

Streszczenia w językach polskim i angielskim poprzedzone są spisem użytych skrótów. Wstęp zawiera rzeczowe wprowadzenie w tematykę oraz merytoryczne uzasadnienie podjęcia badań. Tematyka rozprawy jest niezwykle aktualna – poszukiwanie nowych biomarkerów w przewlekłych chorobach zapalnych układu oddechowego (POChP, astma, gruźlica) z wykorzystaniem chitynaz i białek chitynazopodobnych, co stanowi istotny kierunek współczesnej pulmonologii i immunologii klinicznej. Wybór tego obszaru świadczy o doskonałym rozeznaniu Kandydatki w nowoczesnych trendach diagnostycznych (m.in. remodeling dróg oddechowych, diagnostyka różnicowa wysięków opłucnowych).

Zastosowany warsztat badawczy zasługuje na wysoką ocenę. Doktorantka biegle i trafnie wykorzystwała techniki immunoenzymatyczne (ELISA) do oceny stężeń białek, badania immunohistochemiczne (IHC) do lokalizacji komórkowej białek w ziarniniakach oraz zaawansowane metody analizy danych. Grupy badawcze zostały dobrane rzetelnie, a włączenie adekwatnych grup kontrolnych (osoby palące i niepalące bez chorób płuc) podnosi wiarygodność uzyskanych wyników.

1. Cele pracy

Cele pracy zostały sformułowane precyzyjnie i znalazły bezpośrednie odzwierciedlenie w zastosowanej metodzie badawczej.

Główny cel rozprawy obejmował realizację następujących celów szczegółowych:

„1. Przegląd światowej literatury dotyczącej roli chitynaz w patogenezie i diagnostyce wybranych chorób układu oddechowego (m.in. astma i POChP) i określenie braków w aktualnej wiedzy dotyczącej powyższych biomarkerów.

2. Porównanie stężeń CHIT1 i YKL-40 oraz aktywności CHIT1 w płwocinie indukowanej u zdrowych ochotników, osób palących papierosy, bez stwierdzonej choroby układu oddechowego oraz pacjentów z POChP.
3. Ocena związków między stężeniem i aktywnością chitynaz, a wybranymi markerami stanu zapalnego (tj. całkowitej liczby komórek w płwocinie, liczby neutrofili, makrofagów, stężenia interleukiny 6 (IL-6), IL-8, IL-18 oraz MMP-9).
4. Analiza klasterowa pacjentów pozwalająca na wyznaczenie profili klinicznych badanych grup w kontekście ekspozycji na dym tytoniowy.
5. Ocena stężenia YKL-40 oraz CHIT1 w płynach z opłucnej o różnej etiologii, ze szczególnym uwzględnieniem gruźliczego wysięku.
6. Ocena ekspresji komórkowej chitynaz w bioptatach z opłucnej pacjentów ze zdiagnozowanym gruźliczym wysiękiem.
7. Oszacowanie wartości diagnostycznej CHIT1 i YKL-40 jako potencjalnych biomarkerów wysięku gruźliczego."

2. Omówienie i ocena wyników badań

- **Publikacja 1** stanowi gruntowny przegląd piśmiennictwa, systematyzujący wiedzę o ssaczach chitynazach i białkach chitynazopodobnych w kontekście chorób obturacyjnych, identyfikując jednocześnie luki w wiedzy, które stały się punktem wyjścia do badań własnych.
- **Publikacja 2** dowodzi, że dym tytoniowy indukuje wydzielanie chitynaz promujących przewlekły stan zapalny. Wykazano istotnie wyższe stężenia YKL-40 u chorych na POChP, korelujące z parametrami obturacji oskrzeli (FEV1) oraz nasileniem zapalenia neutrofilowego (IL-8, MMP-9).
- **Publikacja 3** przynosi niezwykle wartościowe dane z punktu widzenia diagnostyki klinicznej. Udowodniono, że stężenia YKL-40 i CHIT1 są istotnie wyższe w przebiegu gruźliczego zapalenia opłucnej (TPE), wykazując silną korelację z aktywnością deaminazy adenozy (ADA). Nowatorskim osiągnięciem jest stwierdzenie specyficznego profilu ekspresji w ziarniniakach gruźliczych (obecność YKL-40 przy braku CHIT1), co może stanowić istotne narzędzie w diagnostyce różnicowej z sarkoidozą.

3. Wnioski i piśmiennictwo

Wnioski końcowe zostały sformułowane w sposób zwięzły, odpowiadają celom pracy i domykają strukturę badawczą całego cyklu.

„1. Chitynazy wydają się uczestniczyć w patofizjologii chorób układu oddechowego, biorąc udział w procesach remodelingu, aktywacji procesu zapalnego i destrukcji miąższu płucnego. Nie ma, jednakże jednoznacznych i mocno udokumentowanych danych o ich dokładnej roli w powyższych procesach. Dostępne informacje uzasadniają prowadzenie dalszych badań nad skutecznością inhibitorów chitynaz w chorobach układu oddechowego.

2. Stężenie YKL-40 w płwocinie indukowanej jest istotnie wyższe u pacjentów z POChP w porównaniu z palaczami bez stwierdzonej choroby układu oddechowego i zdrowymi, niepalącymi ochotnikami. Co więcej, podwyższona wartość tego biomarkera jest związana ze zwiększonym stopniem utraty czynnościowej funkcji płuc (mierzonej jako FEV1% w.nal.).

3. Aktywność zapalna w drogach oddechowych w przebiegu ekspozycji na dym tytoniowy manifestuje się nie tylko wzrostem całkowitej liczby komórek w indukowanej płwocinie, liczbie neutrofilii, makrofagów, ale również wzrostem stężeń i aktywności chitynolitycznej. Wniosek ten potwierdza pozytywna korelacja między stężeniem i aktywnością CHIT1 oraz stężeniem YKL-40 a stężeniem prozapalnych cytokin- IL-8 oraz MMP-9.

4. Pacjenci z POChP stanowią heterogenną grupę. Jedynie część z nich charakteryzuje się zwiększonym stanem zapalnym w drogach oddechowych, z podwyższonym jednocześnie stężeniem CHIT1 oraz YKL-40 oraz zwiększoną aktywnością chitynolityczną. Należy brać to pod uwagę przy ocenie rokowania oraz indywidualizacji terapii wobec określonego pacjenta w przyszłości.

5. Stężenie YKL-40 jest istotnie wyższe w płynie wysiękowym w stosunku do przesięku. Szczegółowa analiza pozwoliła stwierdzić, że stężenie YKL-40 jest istotnie wyższe w grupie płynów o etiologii gruźliczej, w stosunku do wysięków parapneumonicznych. Stężenie CHIT1 istotnie różniło się natomiast między pacjentami z wysiękiem gruźliczym a nowotworowym.

6. Analiza wzorca ekspresji chitynaz pozwoliła wykazać, że w ziarniniakach gruźliczych wykrywa się YKL-40 w cytoplazmie komórek nabłonkowych oraz komórek wielojądrzastych. Nie wykryto ekspresji CHIT1. Powyższy wzorzec pozwala różnicować ziarniniaki gruźlicze od ziarniniaków sarkoidalnych.

7. Stężenie YKL-40 w płynie opłucnowym wykazuje stosunkowo wysoką wartość diagnostyczną w różnicowaniu gruźliczego zapalenia opłucnej od zapaleń opłucnej

o innej etiologii oraz koreluje z aktywnością deaminazy adenozynowej (ADA) w płynie opłucnowym.”

Zestawienie piśmiennictwa (62 pozycje w języku polskim) jest aktualne, adekwatne do tematyki i przygotowane wzorowo pod względem edytorskim (styl vancouverski, numery DOI/PMID).

Uwagi redakcyjne i edytorskie

Z kronikarskiego obowiązku recenzenta muszę wskazać na pewne uchybienia edytorskie i nieścisłości, które rzutują na estetykę pracy, choć nie obniżają jej wysokiej oceny merytorycznej:

- Brak pełnego wykazu dorobku naukowego Kandydatki oraz brak określenia procentowego udziału w oświadczeniach współautorów (co pozwoliłoby jeszcze precyzyjniej określić Jej wkład naukowy).
- **Wykaz skrótów (str. 6-8):** Nadmiarowo użyto dwukrotnie tego samego rozwinięcia dla skrótów polskiego (POChP) i angielskiego (COPD). Należało również uzupełnić spis o brakujący skrót CH13L1 (pojawiający się np. na str. 9 i 15). Niezrozumiałe jest umieszczenie skrótu CHIT1 na końcu spisu, poza kolejnością alfabetyczną.
- Zauważalna jest **niekonsekwencja w stosowaniu małych i wielkich liter** w skrótach medycznych, w szczególności powtarzający się błąd w zapisie interleukiny: stosowanie "Il" (zamiast prawidłowego wielkiego "IL") – błąd obecny m.in. na str. 6, 10, 17, 19, 20, 21, 25, 62, 63, 67.
- **Błędy składniowe i językowe:** Niewłaściwa odmiana rzeczownika na str. 9 ("cykl [...] dwóch pracach oryginalnych" zamiast *prac oryginalnych*); brak symetrii w konstrukcji na str. 9 ("zarówno dane in vitro, dane z modeli..."); błędy w zapisie przedrostków i nawiasów (np. str. 9: "płuc- POChP" zamiast *płuc – POChP*). Literówki (np. str. 11: "steżeniem"; str. 14: "o roli i chitynaz w obturacyjnych chorób").
- **Jednostki:** Brak spójności w zapisie jednostek stężeń (ng/mL vs ng/ml vs ng mL na różnych stronach rozprawy).
- **Uwaga do tytułu podrozdziału (str. 14):** Doktorantka deklaruje we wstępie brak obszernego omówienia chitynaz w diagnostyce płynu z opłucnej z powodu mniejszej liczby danych. Warto jednak zaznaczyć, że rola tych białek jest szeroko badana w chorobach śródmiąższowych czy nowotworowych. Zdaniem recenzenta, tytuł rozdziału 4.2. zyskałby na precyzji, gdyby brzmiał: *Rola chitynaz w wybranych chorobach układu oddechowego*.

Uwagi metodologiczne i pytania do obrony

Lektura przedłożonej rozprawy, obok bezspornych walorów poznawczych, nasunęła mi również pytania i wątpliwości natury metodologicznej, do których proszę o odniesienie się przez Kandydatkę w trakcie publicznej obrony:

I. Metodyka i analiza statystyczna w Publikacji 2:

1. **Raportowanie modelu regresji:** Zastrzeżenia budzi model wielowymiarowej regresji logistycznej (Tabela 3). Zastosowano w nim niewłaściwe nazewnictwo, określając uzyskane wartości jako współczynniki korelacji (*r-Coefficient*), podczas gdy modele te szacują współczynniki beta. Co więcej, standardem jest prezentacja ilorazów szans (OR – *Odds Ratio*) wraz z 95-procentowymi przedziałami ufności (95% CI). Brak tych parametrów utrudnia ocenę precyzji wpływu poszczególnych zmiennych.
2. **Ryzyko przeuczenia modelu (*overfitting*):** Całkowita próba w omawianym modelu wynosiła 43 osoby. Wprowadzenie aż sześciu zmiennych niezależnych przy tak małej liczebności prowadzi do zjawiska przeuczenia modelu. Może to skutkować sytuacją, w której uzyskane poziomy istotności stanowią artefakt matematyczny, a nie rzeczywistą zależność. Zaskakuje również całkowite pominięcie w modelu predykcyjnym zmiennych zakłócających, tak elementarnych jak wiek i płeć pacjentów. Proszę o komentarz do tych decyzji analitycznych.
3. **Analiza skupień (*double dipping*):** Oprócz zastrzeżeń do modelu regresji logistycznej, moje wątpliwości budzi również metodologia i interpretacja wyników analizy skupień (klasteryzacji hierarchicznej). Choć zastosowanie analizy klastrowej na próbie $N=43$ ma dużą wartość eksploracyjną, warto zauważyć, że obliczanie istotności statystycznej (wartości p w Tabelach 4–7) dla zmiennych, które wcześniej posłużyły do wyodrębnienia tych klastrow, niesie ze sobą ryzyko tzw. analizy cyrkularnej. Wyniki te należy zatem interpretować z ostrożnością, głównie w charakterze opisu wygenerowanych podgrup, a nie niezależnego testowania hipotez. Ponadto, wizualna analiza zaprezentowanego dendrogramu (Rycina 3) sugeruje możliwość wyodrębnienia trzech, a nie dwóch, głównych klastrow, stąd pytanie o zastosowane przez Autorów obiektywne kryteria odcięcia drzewa hierarchicznego. Wyłonienie Klastra 2, liczącego zaledwie 9 pacjentów nakazuje dużą ostrożność w uogólnianiu tego zjawiska jako odrębnego fenotypu zapalnego POChP populacji ogólnej.
4. **Kategoryczność wniosków:** W dyskusji stwierdzono, że model regresji "potwierdził" rolę YKL-40 jako czynnika ryzyka POChP. Zważywszy na wyżej wymienione ograniczenia statystyczne (stosunek wielkości grupy do liczby predyktorów), w opinii recenzenta zaprezentowane modele mają charakter

wyłącznie eksploracyjny i hipotezotwórczy, a nie confirmacyjny, co powinno zostać wyraźnie zaznaczone w sekcji ograniczeń (*limitations*).

II. Kryteria rozpoznania i rozbieżności w Publikacji 3:

1. W sekcji definiującej kryteria włączenia TPE użyto sformułowania warunkowego z wykorzystaniem spójnika "i" (*and*): "At least one of the following criteria had to be met to diagnose TPE: (1) [...] and (2) [...]". W obecnym brzmieniu tworzy to logiczną sprzeczność z wynikami, w których opisano, że wycinki z biopsji opłucnej (wymagane w kryterium nr 2) były dostępne zaledwie dla 6 z 14 pacjentów z TPE. Jeśli intencją autorów był spójnik alternatywy (*or*), to diagnoza u części chorych oparta wyłącznie na obrazie histopatologicznym bez potwierdzenia mikrobiologicznego (pozytywna hodowla lub DNA) rodzi pytania o pewność rozpoznania. Proszę o wyjaśnienie tej rozbieżności.
2. Kolejne pytanie, wiążące się z relatywnie małą grupą chorych z TPE (N=14), brzmi: na ile wyznaczone punkty odcięcia (*cut-off*) dla YKL-40 Doktorantka uznaje za miarodajne dla szerszej populacji klinicznej?

III. Wnioskowanie patofizjologiczne i kliniczne:

1. **Wybór modeli chorobowych:** Rozprawa łączy choroby obturacyjne z wysiękowym zapaleniem opłucnej. Czy ten dobór jednostek był podyktowany poszukiwaniem uniwersalnego markera stanu zapalnego, czy ewaluacją wspólnego patomechanizmu (*remodelingu*)?
2. **Materiały biologiczne i terapia:** Dlaczego w Publikacji 2 zrezygnowano z oceny surowicy krwi, porzeczając na płwocinie indukowanej? Dodatkowo, czy opierając się na wynikach z Publikacji 3 (ekspresja w ziarniniakach), Doktorantka dostrzega w przyszłości teoretyczną przestrzeń do stosowania inhibitorów chitynaz w celu prewencji włóknienia opłucnej?
3. **Wartość kliniczna YKL-40 vs ADA:** W diagnostyce TPE stosuje się oznaczenie aktywności ADA, z którym badany biomarker (YKL-40) silnie koreluje. Czy zdaniem Kandydatki YKL-40 wykazuje przewagę uzasadniającą wyparcie lub uzupełnienie taniego i powszechnego testu ADA w określonych subpopulacjach klinicznych?
4. **Nadmiarowy wniosek:** Ostatnie zdanie z wniosku 6 umieszczonego w dysertacji (dotyczące publikacji 3): „Powyższy wzorzec pozwala różnicować ziarniniaki gruźlicze od ziarniniaków sarkoidalnych.” – jest nadmiarową i nieuzasadnioną przeprowadzonym badaniem konkluzją, która nie została zawarta w opublikowanej pracy oryginalnej.

Konkluzje

Wszystkie wymienione powyżej uwagi, wynikające z obowiązku i życzliwości recenzenckiej, służą naukowej polemice i w niczym nie umniejszają znaczącego wkładu pracy własnej Kandydatki. Rozprawa doktorska, stanowiąca cykl trzech powiązanych tematycznie publikacji, skutecznie i oryginalnie rozwiązuje postawiony problem naukowy. Badania rzucają nowe światło na diagnostykę różnicową schorzeń układu oddechowego, oferując istotne implikacje kliniczne.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca dowodzi, iż Doktorantka posiada dojrzałość naukową, warsztat badawczy oraz wiedzę teoretyczną niezbędną do samodzielnego rozwiązywania złożonych problemów z zakresu medycyny klinicznej.

Ja, niżej podpisana stwierdzam, że recenzowana **Rozprawa doktorska lek. med. Natalii Przysuchy w pełni spełnia ustawowe warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2018 r. poz. 1668).**

W związku z powyższym składam wniosek do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. med. Natalii Przysuchy do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

data sporządzenia recenzji

11.czerwca 2026r