

Gdańsk, 15-02-2024

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

zatytułowanej: „**Diagnostyka alergii pokarmowej u małych dzieci z wykorzystaniem metod proteomicznych i metabolomicznych**”, złożonej przez Pana **mgr farm. Kacpra Packiego**, realizującego postępowanie doktorskie – „nowy tryb” w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (UMP) w ramach programu doktorat wdrożeniowy III edycja program MEiN, Szkoła doktorska UMP. Rozprawa doktorska została wykonana pod opieką promotora Pana Profesora dr hab. Jana Matysiaka.

Podstawa prawna sporządzenia recenzji

Zgodnie z art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz 574 ze zm.) „Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.” Dlatego w recenzowanej dysertacji ograniczę się do tych właśnie aspektów. Ustawowe kryteria uzasadniające otrzymanie stopnia doktora można podzielić na formalne i merytoryczne. Praca została przygotowana na podstawie czterech opublikowanych i spójnych tematycznie prac.

Ocena merytoryczna i metodologiczna pracy

Dysertacja doktorska Pana mgr Kacpra Packiego jest napisana w formie hybrydowej, obok wprowadzenia i opisu badań oraz komentarza wraz z piśmiennictwem praca zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim oraz załączone oryginalne prace w formie „pdf”. W ostatniej części dysertacji „Podsumowanie i wnioski” Autor w sposób punktowy uzasadnia celowość podjętego tematu badawczego. Zebrane publikacje poprzedzone są zwięzłym streszczeniem oraz krótkim wprowadzeniem w tematykę poszczególnych prac. Recenzowana praca doktorska opiera się na czterech pracach badawczych, uzyskując łączny współczynnik oddziaływania $IF = 15,5$. Mimo, że całość badań przedstawionych w dysertacji stanowi pracę wieloautorską i wykonana została nie tylko w jednostkach badawczych Poznania i Kalisza, ale również w Centrum Medycyny Spersonalizowanej AllerGen, to widać wiodącą rolę Doktoranta na każdym jej etapie. Samo Centrum AllerGen jest jednostką, która uczestniczy w projektach badawczo-rozwojowych, mających na celu optymalizację metod diagnostycznych oraz poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych.

Praca jest nie tylko interesująca, ale cechuje się również dużą wartością praktyczną uzyskanych wyników. We wszystkich opublikowanych artykułach naukowych Doktorant

figuruje jako pierwszy autor a załączone oświadczenia współautorów podkreślają jego wiodącą rolę w opracowaniu ogólnej koncepcji pracy, zaplanowaniu i przeprowadzeniu części eksperymentalnej, analizie, interpretacji i dyskusji wyników badań, a także w przygotowaniu samych publikacji. Wybór tematu pracy doktorskiej jest niezwykle aktualny i interesujący, prowadzone badania mają szeroki zakres eksperymentalny, a uzyskane wyniki znajdują zastosowanie w diagnostyce alergii pokarmowych.

Fenomen alergii pokarmowej, jako niepożądanego odpowiedzi immunologicznej, która występuje u podatnych osób w wyniku powtarzającego się narażenia na określone produkty spożywcze, staje się coraz bardziej aktualnym tematem badawczym. Doktorant opisał w swych pracach podstawowy mechanizm alergii pokarmowej obejmujący interakcję pomiędzy białkami alergennymi a przeciwciałami immunoglobuliny E (IgE). Alergie pokarmowe zależne od IgE powodować mogą objawy skórne, takie jak pokrzywka i obrzęk naczynioruchowy, atopowe zapalenie skóry (AZS) oraz objawy żołądkowo-jelitowe i sercowo-naczyniowe. W ciężkich przypadkach może wystąpić reakcja anafilaktyczna w postaci ostrej. Dlatego tak istotnym wydaje się znajomość struktur białkowych, składających się z tysięcy molekuł, z których tylko niektóre mają istotne znaczenie kliniczne. Gruntowna wiedza o aktualnych możliwościach diagnostycznych, zastosowanej technologii i panelu alergenowym dostępnych testów multiparametrowych do diagnostyki molekularnej alergii *in vitro* może być niezwykle użyteczna podczas dobierania możliwie jak najbardziej dopasowanego testu laboratoryjnego do potrzeb określonego pacjenta, zwłaszcza małych dzieci.

Z uwagi na fakt, że brak jest obecnie idealnych metod, stosowanych w diagnostyce nadwrażliwości pokarmowej oraz nie ma konkretnych leków na alergie pokarmowe, jedynym realnym rozwiązaniem dla osób dotkniętych alergią jest unikanie składników alergizujących. Swoistość i czułość badania bywa często jednak niedostateczna z uwagi na występowanie wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych. Poszczególne technologie „omiczne”, dostarczają jedynie ograniczonych informacji na temat wielosystemowych procesów biologicznych alergii pokarmowych. Dopiero integracja danych multiomicznych populacyjnych (tj. proteomika i metabolomika, wykorzystanych przez Autora) i danych klinicznych może prowadzić do wyznaczenia biomarkerów, a ostatecznie doprowadzić do pojawienia się metod medycyny precyzyjnej.

Diagnostyka alergii pokarmowej jest procesem stosunkowo skomplikowanym m.in. ze względu na mnogość czynników wywołujących jej objawy, a jednocześnie żmudnym, gdyż wymaga nowoczesnej aparatury analitycznej. Do charakteryzacji białek i ich identyfikacji powszechnie stosuje się metodę jonizacji laserowej wspomaganą matrycą (MALDI) – z analizatorem czasu przelotu (TOF)/TOF MS. Doktorant, jak opisuje w jednej pracy z cyklu, wytypował z chromatografu piki, które zostały poddane dalszemu procesowi identyfikacji wykorzystując technikę nLC-MALDI-TOF/TOF-MS/MS. Finalnie widma MS/MS zostały zidentyfikowane przez Doktoranta na podstawie białkowej bazy danych SwissProt z użyciem wyszukiwarki Mascot. Zastosowana w badaniach spektrometria mas (MS) w połączeniu z chromatografią ciekłą (LC) słusznie wydała się obiecującą alternatywą dla tradycyjnych testów opartych na przeciwciałach, umożliwiając identyfikację i oznaczenie ilościowe alergenów nawet w ilościach śladowych. Stosując starannie dobrane peptydy markerowe, MS

może również określić ilościowo ilość białka alergennego w próbkach żywności, umożliwiając ocenę nasilenia skażenia alergenem. Ważnym wyzwaniem, co zauważył Doktorant, będzie pełne wykorzystanie pomiarów MS i narzędzi bioinformatycznych do wykrywania alergenów.

W pracy należy zwrócić uwagę na najcenniejszą rycinę oznaczoną numerem 1, przedstawiająca algorytm diagnostyczny w przypadku podejrzenia alergii pokarmowej u dzieci z AZS w wieku 0-5 lat, który stworzony został na podstawie przeprowadzonych badań in vitro oraz analizy najnowszych danych literaturowych w dziedzinie alergologii.

Nie mam merytorycznych zastrzeżeń dotyczących samej rozprawy, jak i zebranych publikacji, przedstawionych do oceny, jako rozprawa doktorska. Załączone do rozprawy artykuły, zostały przecież już wcześniej gruntownie ocenione przed opublikowaniem przez właściwych recenzentów, będących specjalistami w tematyce. Na miejscu Doktoranta pokusiłby się jednak o dodanie w swojej dysertacji rozdziału Dyskusja, którego zamieszczenie pozwoliłoby na lepsze wyeksponowanie wyników uzyskanego sukcesu naukowego i przedstawienie „martyrologii” głównego Autora w osiągnięciu celów tak żmudnej pracy. Zebranie w jednym miejscu dyskusji uzyskanych przez Doktoranta wyników z dotychczas opublikowaną literaturą naukową (bez zaglądania przez czytelnika do każdej z załączonych publikacji) umożliwiłoby przedyskutowanie wszystkich zebranych prac. Zawracam uwagę, że niektóre fragmenty tekstu dotyczące zwłaszcza celu badania wydają się być wielokrotnie powtarzane w tekście dysertacji.

Ocena dorobku

Doktorant jest absolwentem anglojęzycznego kierunku *Medical biotechnology* na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (z roku 2018). Początkowo podjął pracę na stanowisku asystenta w Zakładzie Biologii Molekularnej na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi a już rok później założył Pracownię Alergologii i Biologii Molekularnej w Przedsiębiorstwie Usług Medycznych Al-Med i Centrum Medycyny Spersonalizowanej AllerGen. W 2019 podjął również studia doktoranckie w Szkole Doktorskiej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej), realizując grant badawczy o tematyce tej samej co przedstawiona dysertacja (MEiN, nr: DWD/3/10/2019). W życiorysie Doktoranta warto zaznaczyć kierownictwo grantu w ramach działalności Centrum przy współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Łodzi. Projekt badawczy jest zatytułowany „Effect of Giardia lamblia infestation on the immunological profile and metabolic parameters in patients aged 40-65 years”(MEiN, nr grantu: DWD/6/0469/2022).

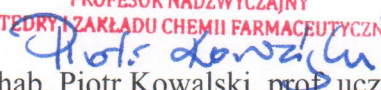
Całkowity dorobek naukowy Doktoranta (przedstawiony w pracy) jest znaczący zwłaszcza biorąc pod uwagę jedynie kilkuletni okres. Stanowi on **10 publikacji** (w tym sześciu oryginalnych oraz czterech przeglądowych) o sumarycznym współczynniku oddziaływania **IF = 28,804** i liczbą punktów **MNiSW = 1200.0** oraz kilka doniesień naukowych, zaprezentowanych w formie posterów i wystąpień ustnych podczas polskich i zagranicznych konferencji naukowych.. Liczba cytowanych prac, których jest współautorem wynosi powyżej 30 oraz Indeks Hirscha = 4. Moim zdaniem są to bardzo dobre parametry ja na ten etap rozwoju naukowego.

Podjęcie przez Doktoranta niniejszej tematyki badawczej uważam za niezwykle istotne w odniesieniu do rozwoju nauk farmaceutycznych a zwłaszcza celów diagnostycznych alergii pokarmowych. Kierunek prowadzonych badań jest innowacyjny i uzasadniony z naukowego punktu widzenia. Doktorant spełnia wymagania ustawowe dotyczące ogólnej wiedzy teoretycznej oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej jak również zapraszania do współpracy zespoły potrzebne do realizacji założonego celu.

Prace badawcze zostały sfinansowane ze środków Ministerstwa Edukacji i Nauki w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” na podstawie umowy nr DWD/3/10/2019 Projekt został przeprowadzony we współpracy z Przedsiębiorstwem Usług Medycznych "AI-Med" Laboratorium Analityczno-Bakteriologiczny i idealnie wpisal się w potrzebę wprowadzenia szybkiej, precyzyjnej, wieloparametrowej diagnostyki alergii pokarmowej u dzieci do 5 roku życia, poprzez optymalizację rutynowej procedury oraz próbę wdrożenia innowacyjnych rozwiązań diagnostycznych opartych o najnowsze metody proteomiczne i metabolomiczne.

Wniosek końcowy

Po analizie przedłożonej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że wnosi ona cenny wkład w poszerzenie wiedzy w zakresie zaproponowania nowych wyników w temacie diagnostyki alergii pokarmowych u małych dzieci z zastosowaniem proteomiki i metabolomiki. Należy podkreślić, że opiniowana rozprawa doktorska zasługuje na uznanie, bowiem świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym, jak i opanowaniu warsztatu analitycznego Doktoranta. Tym samym uważam, że rozprawa doktorska Pana mgr Kacpra Packiego spełnia w pełni ustawowe wymagania 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.). Na tej podstawie **wniosuję do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o nadanie mgr Kacprowi Packiemu stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk farmaceutycznych.** Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, potwierdzając wiedzę oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez Doktoranta. Podjęta tematyka jest niezwykle aktualna i wykazuje ogromny potencjał aplikacyjny. Co więcej, biorąc pod uwagę wysoki poziom badań i szereg elementów nowości naukowej wniosuję o jej wyróżnienie (w załączeniu).

PROFESOR NADZWYCZAJNY
KATEDRY I ZAKŁADU CHEMII FARMACEUTYCZNEJ

Dr hab. Piotr Kowalski, prof. ucz.
dr hab. n. farm. Piotr Kowalski, prof. nadzw. GUMed