



Bydgoszcz, 16.02.2024 r.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr. Kacpra Packiego

pt. Diagnostyka alergii pokarmowej u małych dzieci z wykorzystaniem metod proteomicznych i metabolomicznych.

wykonanej w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej na Wydziale Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Matysiaka. Oceniana praca została zrealizowana w ramach programu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Doktorat wdrożeniowy” (DWD/3/10/2019) we współpracy z Przedsiębiorstwem Usług Medycznych "Al-Med" Laboratorium Analityczno-Bakteriologicznym.

Oceniana rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne stanowi zbiór czterech powiązanych tematycznie artykułów naukowych (trzy prace oryginalne i jedna przeglądowa), opublikowanych w czasopismach z listy JCR o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 15,5 i punktacji MEiN = 520. Rozprawa, oprócz kopii czterech publikacji, zawiera wstęp wprowadzający w tematykę badań oraz komentarz do poszczególnych prac i wnioski. Dodatkowo praca zawiera wykaz skrótów, streszczenia (w j. polskim i angielskim) oraz opis sylwetki Doktoranta. Badania będące podstawą rozprawy doktorskiej, ze względu na swój charakter, były realizowane w multidyscyplinarnym zespole i powstałe publikacje, co jest zrozumiałe, są wieloautorskie. Należy podkreślić, że we wszystkich pracach Doktorant jest pierwszym autorem, a załączone w dokumentacji oświadczenia współautorów wskazują na jego duży wkład w opracowanie koncepcji, wykonanie badań i analizę uzyskanych wyników.

Podjęta przez mgr. Kacpra Packiego tematyka badawcza jest niezwykle istotna i wpisuje się doskonale w aktualną wiedzę na temat alergii u dzieci, szczególnie w kontekście atopowego zapalenia skóry (AZS) i alergii pokarmowej. Istnieje dobrze udokumentowany związek między atopowym zapaleniem skóry a alergią pokarmową, co potwierdzają liczne badania epidemiologiczne i kliniczne. Praca doktorska skupiająca się na dzieciach w wieku 0-5 lat bierze pod uwagę tę istotną korelację i analizuje ją w kontekście poprawy diagnostyki i skuteczności terapii. Uzasadnienie podjętych badań Doktorant przedstawił w syntetycznym wstępie. Ogólny cel pracy oraz przedstawione założenia i szczegółowe cele badawcze są jasne i nie budzą



wątpliwości. Jedynie w Założeniu 2 można było usunąć trudno mierzalne stwierdzenie „stanowi istotny problem” ograniczając się do konkretów, że „pierwotne uczulenie na pokarmy roślinne może powodować zmiany w proteomie pacjentów”.

Badania opisane w rozprawie były przeprowadzone w grupie pacjentów pediatrycznych (76 dzieci w wieku 2- 60 miesięcy) z przewlekłymi objawami atopowego zapalenia skóry (AZS). Pierwsza publikacja obejmuje analizę profili białkowo-peptydowych pacjentów w kontekście uczuleń na 26 białek zapasowych roślin. W wyniku badań proteomicznych zidentyfikowano cztery białka: CDC50A/TMEM30A, DENND5A, SKOR2 oraz TX13B statystycznie istotnie różnicujące grupę badaną (pacjentów z pełnoobjawową IgE-zależną alergią na co najmniej jedno roślinne białko zapasowe) i grupę kontrolną (bez IgE-zależnej alergii).

Druga publikacja dotyczy określenia profilu cytokin zaangażowanych w szlak odpowiedzi immunologicznej komórek Th17 oraz analiza różnic w stężeniu 15 cytokin w zależności od mechanizmu alergii. Pacjentów podzielono na trzy grupy: (1) z IgE-zależną alergią pokarmową; (2) z IgE-niezależną alergią pokarmową oraz (3) grupę kontrolną obejmującą pacjentów bez alergii pokarmowej. Stwierdzono, że podwyższone stężenie IL-1 beta może świadczyć o wystąpieniu alergii pokarmowej w przebiegu AZS. W związku z tym, interleukina-1 beta może być użyta jako potencjalny czynnik prognostyczny IgE-zależnej alergii pokarmowej u małych dzieci z objawami AZS i została włączona do opracowanego przez Doktoranta algorytmu diagnostycznego.

Celem badań opisanych w trzeciej publikacji była analiza zmian w profilu wolnych aminokwasów u pacjentów z IgE-zależną oraz IgE-niezależną alergią pokarmową w stosunku do grupy kontrolnej (pacjentów bez alergii pokarmowej). Zidentyfikowano trzy aminokwasy o potencjale diagnostycznym: homocytrulinę, sarkozynę i L-tyrozinę, różnicujące badane grupy. Pacjentów z IgE-niezależną alergią pokarmową charakteryzuje statystycznie niższe stężenie homocytruliny i L-tyrozyny oraz podwyższone stężenie sarkozyny w porównaniu do pozostałych dwóch grup. Oznaczenie stężenia sarkozyny i homocytruliny zostało uwzględnione w algorytmie diagnostycznym.

Ostatnia publikacja, przeglądowa, porusza problem diagnostyki różnicowej. Doktorant wskazuje jak istotne jest rozróżnienie między objawami alergii pokarmowej a innymi schorzeniami, takimi jak infestacje pasożytnicze, a co może być trudne ze względu na podobieństwo objawów.

Badania molekularne stanowią kluczowy element w diagnozowaniu alergii pokarmowej. Wyselekcjonowanie najczęściej alergizujących molekuł i opracowanie panelu diagnostycznego są zgodne z najnowszymi tendencjami w diagnostyce alergii. Z kolei charakterystyka alergii pokarmowej na poziomie proteomiczno-metabolomicznym pozwala na lepsze zrozumienie mechanizmów alergii pokarmowej, co



może prowadzić do identyfikacji nowych markerów diagnostycznych i terapeutycznych. Jest to obszar intensywnych badań naukowych, który wpisuje się w aktualne trendy w badaniach nad alergią.

Istotnym celem w diagnostyce alergii u dzieci jest opracowanie precyzyjnych algorytmów, które uwzględniają różnorodne czynniki, takie jak objawy kliniczne, wywiad pacjenta, wyniki badań laboratoryjnych i obrazowe. Doktorant wykorzystał innowacyjne metody metabolomiczne i proteomiczne, co pozwoliło na optymalizację procedury diagnostycznej. Warto podkreślić, że Doktorant krytycznie podchodzi do uzyskanych wyników i wskazuje na potrzebę potwierdzenia użyteczności zaproponowanych biomarkerów na większej grupie pacjentów.

Ostatecznie Doktorant sformułował aż 11 wniosków, będących podsumowaniem przeprowadzonych prac eksperymentalnych oraz przeglądu literatury. Jedynie wniosek VII wydaje się raczej ogólnym stwierdzeniem.

Podsumowując, praca doktorska dotycząca alergii u dzieci jest doskonałym przykładem aktualnych badań naukowych, które uwzględniają najnowsze ustalenia w dziedzinie alergologii pediatricznej, w tym związek między AZS a alergią pokarmową, rozwój algorytmów diagnostycznych oraz wykorzystanie nowoczesnych metod molekularnych w diagnostyce i charakterystyce alergii pokarmowej. Sukces tego projektu podkreśla znaczenie współpracy między nauką a biznesem oraz roli innowacji w poprawie jakości opieki zdrowotnej, szczególnie dla pacjentów pediatricznych. Doktorant jest doskonałym przykładem jak można skutecznie łączyć pracę naukową z szeroką aktywnością zawodową. Ocena rozprawy jest dowodem na to, że Doktorant posiada wystarczającą wiedzę i kompetencje, które pozwoliły mu zaplanować i przeprowadzić szerokie badania oraz skutecznie opublikować ich wyniki. Na podkreślenie zasługuje umiejętność współpracy w interdyscyplinarnym zespole, gdyż badania zostały zrealizowane przy współpracy lekarzy klinicystów, specjalistów w dziedzinie biotechnologii, bioanalitik i analityki medycznej.

W trakcie lektury pracy zainteresowały mnie zagadnienia i pojawiły się pytania, które chciałabym, aby były przyczynkiem do dyskusji podczas obrony:

1. Czy pozytywne skutki wdrożenia opracowanego algorytmu diagnostycznego, jakie Doktorant postuluje w pracy, już potwierdziły się w praktyce (od czasu złożenia pracy doktorskiej)? Ilu pacjentów zostało zdiagnozowanych z użyciem opisanego algorytmu?
2. W opracowanym algorytmie diagnostycznym Doktorant wykorzystał dwa z trzech aminokwasów różnicujących badane grupy, a mianowicie homocytrulinę i sarkozynę. Dlaczego pominięto określenie stężenia L-tyrozyny, czy okazało się to nieprzydatne?



3. Z kolei w badaniu proteomicznym wskazano cztery białka (CDC5UA, DENND5A, SKOR2 i TX13B) różniące grupę badaną od kontrolnej. Czy na tym etapie wyniki te stanowią wyłącznie naukowe osiągnięcie, bez przełożenia na bezpośrednie wykorzystanie w praktyce?

Wniosek końcowy

Rozprawę doktorską mgr. Kacpra Packiego oceniam wysoko. Praca spełnia ustawowe kryteria określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 30.08.2018 poz. 1668, art. 187) i stanowi oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej. Przedstawione wyniki badań mają przede wszystkim silny charakter praktyczny, ale także duży aspekt poznawczy i wnoszą wkład w rozwój dyscypliny nauki farmaceutyczne.

W związku z powyższym wnoszę do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Uniwersytetu Medycznego Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie mgr. Kacpra Packiego do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Jednocześnie składam wniosek o wyróżnienie rozprawy.

dr hab. Bogumiła Kupcewicz, prof. UMK