

**Zakład Alergologii i Immunologii Doświadczalnej  
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku  
Sktłodowskiej-Curie 24a  
15-276 Białystok**

**Recenzja pracy doktorskiej lekarz medycyny Bernadetty Siergiejko  
pt. "Oskrzelowy test prowokacji z alergenem – dwutygodniowa obserwacyjna  
zmiana w zakresie FEV1 oraz PEF po inhalacji alergenu".**

**Prof. dr hab. med. Krzysztof Kowal**

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska lekarz medycyny Bernadetty Siergiejko pt. "Oskrzelowy test prowokacji z alergenem – dwutygodniowa obserwacyjna zmiana w zakresie FEV1 oraz PEF po inhalacji alergenu" jest próbą oceny długofalowego wpływu na czynność dolnych dróg oddechowych pojedynczej, kontrolowanej, dooskrzelowej ekspozycji na alergen, na który chory jest uczulony.

Chociaż ocena funkcji oskrzeli w odpowiedzi na czynniki bronchokonstrykcyjne ma swoją dosyć długą historię, to większość badań oceniała jedynie wybrane fragmenty odpowiedzi bronchokonstrykcyjnej w ograniczonym zakresie czasu obserwacji. Wpływ alergenu na funkcję dolnych dróg oddechowych zależy od szeregu czynników, co może wpływać na trudności w interpretacji klinicznej uzyskanych wyników. Ponadto, pojawiające się w ostatnich latach publikacje opisujące badania w oparciu o nowoczesne metody biochemiczne i molekularne wskazują, iż znaczenie reakcji astmatycznej w odpowiedzi na prowokację alergenową nie jest jeszcze w pełni poznane. Szczególnie brakuje badań oceniających długofalowy efekt ekspozycji na alergen w aspekcie zmian funkcji układu oddechowego, które mogłyby pomóc w wyjaśnieniu wpływu alergii i ekspozycji na alergeny na kliniczny przebieg astmy. Jest to o tyle istotne, iż wpływ

alergenów na przebieg schorzeń takich jak alergiczna astma czy alergiczny nieżyt nosa możemy modyfikować przy pomocy immunoterapii alergenowej, jedyne obecnie znanego leczenia przyczynowego tego typu schorzeń.

Badania prowadzone w celu wykazania roli alergenów w patogenezie astmy uważam za bardzo istotne w postępowaniu diagnostycznym jak i terapeutycznym. Dooskrzelowa próba prowokacyjna jest złotym standardem w ocenie roli alergenów w reakcji astmatycznej.

**Dlatego też badania ukierunkowane na wykazanie roli jaką pełnią alergeny w patogenezie astmy podjęte przez lekarz Bernadettę Siergiejkę uważam za bardzo niezwykle istotne z punktu widzenia klinicznego oraz naukowego.**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest przedstawiona na 103 stronach maszynopisu i ma typową strukturę, na którą składają się: Wstęp, Cel pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Streszczenia w języku polskim i angielskim, Piśmiennictwo, Spis stosowanych skrótów, Spis rycin oraz Spis tabel. Badania wykonane zostały po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Część opisowa jest wzbogacona 38 rycinami i 18 tabelami.

We Wstępie Autorka pracy przedstawił dokładnie metody stosowane w ocenie nadreaktywności oskrzeli oraz informacje, które możemy uzyskać po zastosowaniu każdej z nich. Doktorantka wskazuje na istotne braki w literaturze dotyczące długotrwałych efektów pojedynczej ekspozycji na alergen, na który dany chory jest uczulony. Te braki danych w literaturze są spowodowane dużą pracochłonnością tego rodzaju próby prowokacyjnej oraz niekiedy dużą trudnością w interpretacji

uzyskanych wyników. Dodatkowo niezwykle istotny jest aspekt bezpieczeństwa, który przy braku doświadczenia oraz dokładnej obserwacji może doprowadzić do niekorzystnych skutków. Z drugiej strony, Autorka wskazuje na niezwykle ważne dane, które można uzyskać u uczulonych chorych podczas wykonania dooskrzelowej próby prowokacyjnej z alergenem. Danych tych nie można w żaden sposób wygenerować stosując inne metody prowokacji dooskrzelowej. **Przedstawione we Wstępie dane uzasadniają celowość podjęcia się przez Doktorantkę badań, a zastosowanie próby dooskrzelowej z alergenem oraz wyjątkowo długa ocena po prowokacji zasługuje na uznanie ze względu na dużą czasochłonność i trudności przeprowadzanych badań.**

Postawione cele pracy są jasno sformułowane i wynikają z danych przedstawionych we Wstępie pracy.

Do analizy użyto danych uzyskanych z prób prowokacyjnych przeprowadzonych u 35 chorych, którzy stanowili grupę badaną. Ponadto dane spirometryczne oraz ocenę stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym wygenerowano u 15 osób, które były prowokowane ekstraktami alergenowymi, ale nie były uczulone na białka zawarte w tych ekstraktach. Te osoby stanowiły grupę kontrolną. Badania przeprowadzono w renomowanym ośrodku naukowym zajmującym się badaniem nadreaktywności oskrzeli od wielu lat i mający w Polsce największe doświadczenie w tej dziedzinie. Renomowany ośrodek oraz opieka promotora mającego niezwykle duże doświadczenie w ocenie chorych alergicznych przy użyciu prób prowokacyjnych gwarantuje dobrą jakość uzyskanych badań. U wszystkich chorych przed próbą prowokacyjną wykonano dokładną ocenę stężenia w surowicy swoistych-alergenowo IgE wobec szerokiego panelu alergenów wziewnych. Zastosowane liczne, dobrze dobrane testy statystyczne pozwoliły Doktorantce na

wykazanie istotnych, nowych odkryć związanych z przebiegiem odpowiedzi bronchospastycznej po prowokacji dooskrzelowej ekstraktem alergenowym. Ponadto dalsza analiza w oparciu o cechy kliniczne i immunologiczne pozwoliła na uzyskanie wyników, które mogą mieć bardzo istotne kliniczne implikacje ułatwiające zrozumienie znaczenia ekspozycji na alergen w rozwoju objawów astmy alergicznej.

Dyskusja stanowi obszerny rozdział pracy, w którym Doktorantka porównuje swoje dane z nielicznymi obserwacjami publikowanymi przez innych autorów. Autorka krytycznie odnosi się do niektórych obserwacji, wskazując na potencjalne błędy związane z wykonywaniem badań, szczególnie podczas samodzielnej oceny funkcji płuc przez chorych.

Wnioski stanowią klarowną odpowiedź na postawione uprzednio cele pracy.

**Bardzo proszę aby Doktorantka ustosunkował się w trakcie obrony do następujących pytań:**

- W jaki sposób diagnozowano alergię u badanych chorych? Czy wykonywano na wcześniejszym etapie testy skórne?
- Czy chorzy uczuleni na alergeny pyłkowe byli oceniani w okresie pylenia? Jeżeli tak, to czy miało to wpływ na wyniki badań?
- Co było kryterium wyboru alergenu do prowokacji u chorych uczulonych na kilka alergenów?
- Chorzy 1 i 3 mieli IgE swoiste wobec pyłku brzozy  $<0.35$  IU/mL. Co było powodem zakwalifikowania ich do grupy badanej, a nie do kontrolnej? Czy obraz kliniczny u tych chorych przemawiał za alergią na pyłek brzozy?

- Czy przeprowadzona analiza wskazuje na różnice w odpowiedzi astmatycznej pomiędzy u chorych uczulonych na alergeny całoroczne w porównaniu z alergenami sezonowymi?
- Jak można interpretować dodatnia próbę prowokacyjną u chorego z ujemnymi wynikami IgE w surowicy?

## **Podsumowanie**

**Przedstawiona mi do recenzji praca spełnia formalne wymagania określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789). Lekarka Bernadetta Siergiejko postawiła sobie bardzo trudne zadanie dotyczące wykazania istotnego wpływu prowokacji alergenowej na funkcję płuc w długofalowej ocenie chorych uczulonych na różne alergeny wziewne. Poprawnie przeprowadzone badania czynnościowe oraz zastosowanie właściwych testów statystycznych pozwoliło na wykazanie istotnych różnic w długofalowym przebiegu odpowiedzi na inhalację alergenem w zależności od wystąpienia wczesnej i/lub późnej odpowiedzi astmatycznej. Są to nowatorskie osiągnięcia, które pozwalają na lepsze zrozumienie patogenezy astmy oraz wskazują nowe kierunki i cele terapeutyczne. Niniejszym wnioskuję o dopuszczenie powyższej pracy do publicznej obrony.**

Białystok 23.08.2020