



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

Zakład Fizjologii, Patofizjologii i Immunologii Klinicznej
Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Ul. Żeligowskiego 7/9, 90-753 Łódź
Kierownik Zakładu:
Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Starska-Kowarska
www.umed.pl

Łódź, dnia 13 kwietnia 2022 roku

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Starska-Kowarska

Zakład Fizjologii, Patofizjologii i Immunologii Klinicznej

Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. Karoliny Piskadło-Zborowskiej

pt.: „Ocena wpływu polimorfizmu w receptorach smaku gorzkiego i węchu na predykcję do rozwoju przewlekłego zapalenia zatok przynosowych”

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych i błony śluzowej nosa (PZZP) jest jednym z najczęstszych problemów zdrowotnych, zarówno terapeutycznych, jak i ekonomicznych, szczególnie w społeczeństwach krajów wysokorozwiniętych. Zgodnie z danymi epidemiologicznymi dotyczącymi populacji Europy i Stanów Zjednoczonych, PZZP może stanowić nawet 10%–15% przewlekłych schorzeń, stając się tym samym, chorobą cywilizacyjną. Co więcej, diagnostyka oraz terapia opornego na leczenie PZZP nadal pozostaje wyzwaniem i problemem klinicznym. Istnieje wiele klasyfikacji opartych na różnorodnych kryteriach kliniczno-morfologicznych, które stanowią narzędzie mające wspomóc klinicystów i chirurgów regionu głowy i szyi w stawianiu prawidłowego rozpoznania oraz właściwej kwalifikacji chorych do zastosowania odpowiednich metod postępowania chirurgicznego. Przykładem może być europejski konsensus przedstawiony w 2012 roku i zaktualizowany w 2020 roku przez Europejskie Towarzystwo Rynologiczne (*European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps, EPOS 2020*). Interdyscyplinarne podejście do patofizjologii schorzenia, zgłaszanych przez pacjentów objawów oraz wyników nowoczesnych badań endoskopowych i rezultatów metod współczesnej radiologii pozwoliły

na dokładne zdefiniowanie rodzajów i typów PZZP. Jednak, pomimo intensywnych wielośrodkowych badań oraz zastosowania najnowszej generacji metod badawczych morfologiczno-molekularnych, przyczyny rozwoju PZZP pozostają nie do końca wyjaśnione. Ustalenie kluczowych mechanizmów patogenezы grupy przewlekłych schorzeń, jaką jest PZZP oraz czynników etiologicznych, jak też rokowania przebiegu choroby i ustalenie jednoznacznych, ogólnie akceptowanych standardów postępowania terapeutycznego, w odmiennych pod względem patofizjologii i parametrów genetycznych przypadkach, nadal są wyzwaniem współczesnej laryngologii.

W światowym piśmiennictwie medycznym z ostatnich kilkunastu lat wskazuje się na liczne dowody sugerujące udział w powstawaniu PZZP, nie tylko czynników zależnych od gospodarza (alergia, występowanie biofilmu, zespół GERD, zmienności mikrobiomu oraz obecność zaburzeń anatomicznych jam nosa i zatok przynosowych) lub czynników środowiskowych (nikotyzm i zanieczyszczenie środowiska), ale także udział wielu czynników genetycznych w patogenezie, inicjacji i progresji choroby. Najnowsze doniesienia wskazują na występowanie u chorych z PZZP zmian genetycznych w postaci polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) dotyczących wielu genów, także genu kodującego receptor smaku gorzkiego *TAS2R38*. Wyniki badań sugerują, że polimorfizm genu *TAS2R38*, wpływając na funkcję kodowanego receptora, może przyczyniać się do nasilenia objawów choroby oraz występowania indywidualnych różnic w predyspozycji do rozwoju PZZP. Brak jest jednak jednoznacznych doniesień tłumaczących złożone mechanizmy patofizjologiczne związane ze zmianami genotypu w zakresie genu *TAS2R38*. Wiele dowodów wskazuje na to, że genetyczna zmienność receptora smaku gorzkiego *TAS2R38*, którego ekspresję wykazano m.in. w rzęskach komórek nabłonkowych błony śluzowej jam nosa i zatok przynosowych (HSEC) może zwiększać podatność osobniczą na zakażenia górnych dróg oddechowych oraz rozwój PZZP. Ponadto, w aktualnie prowadzonych badaniach nad pojedynczymi polimorfizmami genu smaku gorzkiego (SNP) *TAS2R38*, potwierdza się teorię protekcyjnej funkcji allela PAV oraz występowanie niefunkcjonalnego allela AVI, jak też pozytywnego znaczenia prognostycznego funkcjonalnego, „obronnego” genotypu PAV/PAV i negatywnego wpływu genotypu niefunkcjonalnego AVI/AVI. Według obserwacji badawczych potwierdzenie obecności allela PAV zwiększa wrażliwość osobniczą na smak gorzki. Należy tutaj przytoczyć również najnowsze publikacje, które dowodzą występowanie zależności pomiędzy odczuwaniem smaku gorzkiego a zapadalnością na PZZP oraz dominacji wśród pacjentów leczonych z powodu tego schorzenia, niefunkcjonalnego genotypu AVI/AVI. Co więcej, wskazuje się na zjawisko zależności zmiennej nadekspresji białek receptora *TAS2R38* z nasileniem objawów PZZP, determinowanej prawdopodobnym pośrednictwem receptora smaku gorzkiego w uruchamianiu klirensu śluzowo-rzęskowego po

związaniu się z nim patogenów bakteryjnych. Interesujące są także doniesienia naukowe, potwierdzające że receptory smaku gorzkiego zlokalizowane są nie tylko w jamie ustnej, ale także można je znaleźć w innych narządach, w tym w błonie śluzowej górnych dróg oddechowych, co może pozostawać w związku z obserwowanymi lokalnie zmianami w systemie odpornościowym. Zaburzenia węchu stwierdzane u chorych z PZZP mogą mieć złożony charakter i być uzależnione m.in. od zmian typu przewodzenia bodźca, wynikającymi zarówno z objęcia procesem zapalnym części węchowej błony śluzowej nosa, jak i zaburzeniami wydzielania lub składu śluzu, a także przewlekłego stosowania kropli miejscowo obkurczających błonę śluzową jamy nosa. Niestety, pomimo powszechnie znanego i wskazywanego w literaturze pojęcia „klinicznej jedności” dotyczącej współwystępowania dysgeusji i dysosmii oraz ścisłego powiązania funkcjonalnego z błoną śluzową nosa, badania nad występowaniem odmian genetycznych i zaburzeń genów kodujących receptory węchu *OR1G1* nie były dotychczas wykonywane. Co prawda, udowodniono, że obecność mutacji i modyfikacji receptorów z grupy OR (*olfactory receptors*), w tym istnienie licznych pojedynczych polimorfizmów nukleotydowych (SNP) ma związek z wieloma przewlekłymi schorzeniami oraz może wpływać na zmianę struktury receptora węchu.

W świetle najnowszej wiedzy o zmienności ludzkiego genomu i regulatorowych mechanizmach patofizjologicznych zachodzących u człowieka, także w przebiegu przewlekłego zapalenia zatok przynosowych (PZZP) oraz w związku z szybkim postępem w stosowanych technologiach analizy DNA, w tym badawczych metodach genetycznych, coraz bardziej prawdopodobna staje się możliwość zastosowania w najbliższych latach indywidualnych metod diagnostyczno-terapeutycznych w oparciu o poznane osobnicze zmiany molekularne i genetyczne u konkretnego chorego. Tak nowoczesna wiedza warunkowałaby właściwe rozpoznanie i leczenie choroby. Poszukiwanie spersonalizowanych mechanizmów i uwarunkowań powstawania, przebiegu ostrych i przewlekłych zmian zapalnych w zakresie w jamy nosa i zatok przynosowych, regulowanych przez występowanie pojedynczych polimorfizmów genetycznych (SNP) w genach receptorów smaku gorzkiego *TAS2R38* i receptorach węchu *OR1G1* jest jednym z ciekawszych i obiecujących kierunków badań z zakresu rynologii, zwłaszcza na polu polskiej literatury dotyczącej w/w problemu. Zatem, tematyka podjętych przez Doktorantkę lek. Karolinę Piskadło-Zborowską badań jest bardzo interesująca i nowatorska, daje możliwość poszerzenia i zdobycia nowej wiedzy na temat patomechanizmów leżących u podstaw PZZP, stając się także elementem w dyskusji dotyczącej wykorzystania uzyskanych wyników badań genetycznych i molekularnych zarówno w postępowaniu chirurgicznym, jak i nowoczesnej terapii celowanej u chorych z PZZP w niedalekiej przyszłości.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. Karoliny Piskadło-Zborowskiej została przygotowana pod opieką naukową Pani hab. dr n. med., prof. CMKP Karoliny Dżaman z Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie jako Promotora oraz Panią dr n. med. Elizę Brożek-Mądry jako promotora pomocniczego. Praca jest napisana i opracowana w układzie typowym dla rozpraw doktorskich. Całość rozprawy obejmuje 126 stron maszynopisu i podzielona jest na 12 rozdziałów oraz obszerny aneks, jak też dołączoną opinią Komisji Bioetycznej przy WUM (nr KB/130/2015) oraz kilkanaście odpowiadających omawianym problemom naukowym licznym podrozdziałów, które w sposób uporządkowany, z zachowaniem odpowiednich proporcji przedstawiają i omawiają przeprowadzone przez Doktorantkę badania. Praca zawiera 30 kolorowych rycin i aż 43 tabele, przedstawiające zestawienie wyników przeprowadzonych doświadczeń klinicznych i molekularnych oraz rozważań naukowych w formie wykresów pozwalających na łatwiejsze zapoznanie się z uzyskanymi wynikami. W pracy zacytowano 106 pozycji piśmiennictwa polskiego i obcojęzycznego, z czego około 65% prac obejmuje publikacje odnoszące się do tematu badawczego z ostatnich 10 lat. Na podstawie sprawdzenia cytowań wyrywkowo wybranych pozycji piśmiennictwa mogę przyjąć, że sposób przytaczania danych literaturowych jest poprawny. Praca napisana jest zgodnie z zasadami dobrej polszczyzny, a sposób formułowania zdań jest prawidłowy i zrozumiały dla czytelnika. W ocenie rozprawy wskazać należy na konsekwentne i logiczne prezentowanie uzyskanych wyników badań, co czyni pracę przejrzystą i łatwą w czytaniu. Zwraca również uwagę, szczególnie we wstępie i dyskusji dysertacji, umiejętność z jaką Doktorantka porusza się wśród danych literaturowych dotyczących tak trudnej tematyki jaką jest biologia i genetyka przewlekłego zapalenia zatok przynosowych (PZZP) oraz patomechanizmów związanych z występowaniem wariantów polimorficznych genów (SNP) tj. receptora smaku gorzkiego i genu receptora węchu. Należy również zaznaczyć bardzo dobrą umiejętność właściwej interpretacji wyników badań własnych i opublikowanych, niekiedy przeciwstawnych wniosków innych autorów.

Tytuł pracy sformułowany jest krótko, przejrzysto i zrozumiale oraz w sposób właściwy opisuje zakres i rodzaj przeprowadzonych badań. Z przyczyn nomenklaturowych zwracam jednak uwagę, że w tytule powinno znaleźć się określenie „...wpływu polimorfizmu genów receptorów smaku gorzkiego i węchu...”, bo zmiany o charakterze SNP dotyczą właśnie genów, a nie samych receptorów. To zmiany w cząsteczkach receptorów są konsekwencją zmian genetycznych.

We Wstępie dysertacji Doktorantka w zwięzły, ale bardzo ciekawy sposób przedstawia epidemiologię przewlekłego zapalenia zatok (PZZP) w Polsce i na świecie, etiopatogenezę, zarys budowy anatomicznej i fizjologię zmysłu smaku i węchu oraz ich znaczenie i rolę

w patogenezie PZZP, jak też metody nowoczesnej diagnostyki omawianego zespołu chorób. Na uwagę zasługuje obszerny rozdział dotyczący genetyki PZZP, w którym szeroko i szczegółowo Doktorantka opisuje charakterystykę występujących zaburzeń w genach m.in. genach wpływających na transport śluzowo-rzęskowy, funkcję regulatorową, efekty kliniczne wybranych zaburzeń w genach związanych z mechanizmem odporności wrodzonej, defekty genetyczne skutkujące zaburzeniami w produkcji mediatorów zapalenia i receptorów rozpoznających patogeny oraz udział zjawiska polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP) wybranych cząsteczek tj. SNP genów receptorów smaku gorzkiego *TAS2R38* i genów receptorów węchu *OR1G1* w zjawisku zapadalności na PZZP. Dokładnie omawia polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP) wskazanych genów, które determinują występowanie dwóch haplotypów i przedstawia występowanie alleli: „obronnego” funkcjonalnego o nazwie PAV oraz niefunkcjonalnego allela AVI, oraz genotypu „obronnego” PAV/PAV i niefunkcjonalnego genotypu AVI/AVI, które determinują wrażliwość receptorów na smak gorzki. Doktorantka charakteryzuje szczegółowo następstwa występowania zmian pojedynczego nukleotydu genów w/w kodujących białek w oparciu o dane literaturowe. Ponadto, słusznie wskazuje, że receptory smaku gorzkiego nie są zlokalizowane tylko w jamie ustnej, ale także w innych odcinkach górnych dróg oddechowych, przytaczając publikacje które dowodzą zależności między odczuwaniem smaku gorzkiego a zapadalnością na PZZP. Warto zaznaczyć, że propozycja badań SNP receptorów węchu to nowatorskie podejście do tematu PZZP, tym bardziej, że w literaturze polskiej i światowej brakuje doniesień dotyczących korelacji zaburzeń genetycznych w narządach zmysłów, w tym węchu, z czynnikami biorącymi udział w patogenezie PZZP.

W rozdziale drugim Doktorantka sformułowała założenia oraz cele badawcze pracy doktorskiej, które zostały określone jasno i rzeczowo.

Rozdziały Materiał i Metody zawierają dokładny opis badanej grupy 70 pacjentów (grupa badana) leczonych z powodu przewlekłego zapalenia zatok przynosowych rozpoznanych w oparciu o parametry konsensusu EPOS 2012/2021 oraz 30 chorych (grupa kontrolna) z rozpoznaniem skrzywienia przegrody nosa oraz wykluczonym w TK występowaniem zmian zapalnych w zatokach przynosowych. Razem w rozprawie doktorskiej przebadano 100 chorych. Nie znalazłam jednak w tekście przedziału czasowego, w którym dokonywano wyboru chorych oraz przeprowadzono leczenie chirurgiczne. Pacjenci byli leczeni w Oddziale Otolaryngologii Międzyzyleskiego Szpitala Specjalistycznego w Warszawie. Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym o numerze KB/130/2015. Autorka przedstawiła jasne kryteria *włączenia* chorych do grupy badanej: Grupę I – którą stanowili chorzy z PZZP bez polipów i Grupę II – w której znaleźli się pacjenci z PZZP z polipami nosa. Materiał do badań molekularnych stanowiły

próbki krwi obwodowej oraz fragmenty błony śluzowej zatok, uzyskane podczas operacji jam nosa zatok przynosowych. Rozdział zawiera także dokładne omówienie zastosowanych metod i narzędzi badawczych, w tym szczegółowe omówienie wykonania badań genetycznych tj. oznaczanie polimorfizmów jednego nukleotydu (SNP) w genach kodujących receptor smaku gorzkiego *TASR38* oraz w genach receptora węchu *OR1G1*. Zwraca także uwagę wykorzystanie w równoległe przeprowadzonym eksperymencie *in vitro* ludzkich komórek HeLa, jako model podany na infekcje, pochodzących z banku komórek Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów Narodowego Instytutu Onkologii w Warszawie do potwierdzenia zależności pomiędzy poziomem transkryptu genu dla węchu *OR1G1* a zapaleniem zatok przynosowych. Zastosowanie nowoczesnych metod biologii molekularnej i genetyki oraz szeroki aspekt analizy wybranych markerów molekularnych, ale także wykorzystanych licznych testów do badań podmiotowych tj. gustometrycznych, olfaktometrycznych, nasofiberoskopii oraz wykorzystanie analizy wyników badań tomografii komputerowej stanowią o dużej wartości merytorycznej rozprawy doktorskiej. Pozytywnie należy także ocenić zawarcie w Dysertacji informacji dotyczącej kryterium wyboru konkretnych polimorfizmów genu *OR1G1*, a mianowicie informacji o analizie polimorfizmów niesynonimicznych z bazy ENCODE i przeprowadzenie badań własnych w oparciu o wykonaną w polskiej populacji analizę chromatografów polegającą na ocenie 14 spośród 140 polimorfizmów w sekwencji genu *OR1G1*. Koniecznym i wartym zauważenia wydaje się jednak zwrócenie uwagi oraz konieczność przedyskutowania liczebności relatywnie małych podgrup chorych dla zaproponowanych badań populacyjnych, jakimi niewątpliwie z natury są badania wariantów polimorficznych genów, szczególnie po uwzględnieniu podziału na trzy grupy badawcze.

W kolejnej części dysertacji Wyniki Doktorantka dogłębnie i w uporządkowany sposób omawia uzyskane rezultaty przeprowadzonych badań własnych, które przedstawia także w formie licznych kolorowych wykresów i tabel. Kolejność prezentacji wyników jest przejrzysta, logiczna i stanowi odpowiedź na kolejno stawiane w pracy cele, zgodnie z założeniami rozprawy. Doktorantka w 8 podrozdziałach kolejno przedstawia rezultaty podmiotowego badania laryngologicznego, w tym wyniki łącznej oceny objawów ze strony nosa i zatok wg EPOS 2012/2020, wyniki badania przedmiotowego, w tym rezultaty nasofiberoskopii, oceny badań TK jam nosa i zatok przynosowych, analizę poziomu Immunoglobuliny IgE w surowicy krwi chorych oraz wyniki badań olfaktometrycznych metodą Sniffin'Sticks, wyniki badania gustometrycznego smaku gorzkiego roztworem PORP (n-propylotouracylem), oraz szereg analiz korelacyjnych badania olfaktometrycznego z wynikami ankiet tj. subiektywną oceną węchu i smaku, korelacji z łączną oceną nasilenia objawów dodatkowych ze strony nosa i zatok wg EPOS 2012/2020, korelacji wyników

badania z nasileniem zmian zapalnych w TK zatok, jak też z wynikami IgE w surowicy krwi chorych i wynikami badania gustometrycznego. Obszerną część Dysertacji stanowią bardzo ciekawie przeprowadzone badania genetyczne oraz analizy korelacji polimorfizmu genu dla smaku gorzkiego *TAS2R38* z wynikami badania gustometrycznego, oraz z łączną oceną nasilenia objawów zgodnie z wytycznymi konsensusu EPOS 2012/2020, z nasileniem zmian zapalnych w TK, z poziomem IgE w surowicy krwi badanych. Analizy w rozprawie doktorskiej dotyczyły także oceny immunohistochemicznej receptora *TAS2R38* i występujących różnic między badanymi grupami. Dzięki właściwie zaprojektowanym w badaniu starterom analiza sekwencji nukleotydowych genów kodujących receptory węchu *OR1G1* wśród pacjentów wykazała, że populacja polskich pacjentów nie posiada polimorfizmu w badanym genie. Sekwencje genu każdego z przebadanych pacjentów była w pełni zgodna z sekwencją w bazie ENCODE. Stwierdzony brak pojedynczych nukleotydów (SNP) w sekwencji genu *OR1G1* w populacji polskiej oznacza tym samym brak korelacji pomiędzy badanym SNP a patogenezą PZZP. Przeprowadzona analiza ekspresji genu na poziomie RNA wykazała znamienne wzrost transkryptu receptora *OR1G1* w tkankach pobranych z błony śluzowej kompleksów ujściowo-przewodowych chorych na PZZP w obu grupach badanych w stosunku do grupy kontrolnej, co sugeruje udział receptorów węchu *OR1G1* w patogenezie PZZP. Co, ciekawe, w równoległym przeprowadzonym eksperymencie *in vitro* analiza ilościowa ekspresji genu *OR1G1* w komórkach linii HeLa wykazała spadek ilości transkryptu genu *OR1G1* po potraktowaniu LPS. Pozwoliło to na porównanie ekspresji genu *OR1G1* w ostrym i przewlekłym zapaleniu i zaznaczenie faktu, że w ostrym stanie zapalnym organizm blokuje ekspresję receptora węchu i być może dzięki temu eliminuje całkowicie stan zapalny. W rozdziale Wyniki przedstawiono także rezultaty polimorfizmów genu *TAS2R38*. Efektywnie przeanalizowano sekwencje zebrane od 86 pacjentów tj. od 35 chorych ze stwierdzonym PZZP, 25 pacjentów z PZZPzP oraz 26 chorych grupy kontrolnej. Uzyskane rezultaty wykazały, że najczęściej stwierdzanym genotypem w populacji polskiej jest genotyp heterozygotyczny PAV/AVI obserwowany u 45% osób. W grupie PZZP oraz PZZPzP wyraźnie zaznaczyła się dominacja heterozygot, które stanowiły odpowiednio 46% i 60% grupy. Obecność genotypu „obronnego” PAV/PAV odnotowano najczęściej w grupie kontrolnej tj. u 31% chorych. Przeprowadzona dalsza analiza statystyczna wskazała znamienne istotne upośledzenie funkcjonowania narządu zmysłu węchu i smaku gorzkiego u pacjentów z PZZP oraz z PZZPzP i ich wzajemną korelację. Udowodniono znamienne korelację pomiędzy podtestem Sniffin’Stics próg powonienia (T-threshold test) a przewodzeniowymi zaburzeniami węchu. Co więcej, przeprowadzona analiza genetyczna wykazała, że w populacji polskiej występują wszystkie trzy rodzaje genotypów receptora smaku gorzkiego *TAS2R38* tj. PAV/PAV, PAV/AVI, AVI/AVI, przy czym genotyp protekcyjny PAV/PAV występował znacznie rzadziej u chorych

z PZZP i PZZPzP. Doktorantka dowiodła także, że u chorych z PZZP, jak i z PZZzP występuje zwiększona ekspresja receptora TAS2R38 w porównaniu do osób zdrowych. Co ważne, nadekspresja występowała głównie u pacjentów z genotypem niefunkcyjnym AVI/AVI. Wykazano ponadto migrację receptorów TAS2R38 do jądra komórkowego u chorych z PZZP i PZZzP. Co więcej, analiza immunohistochemiczna potwierdziła korelację ekspresji receptora TAS2R38 z nieprawidłowym odczuwaniem zapachów w Sniffin'Stick teście. Ponadto stwierdzono istotnie statystycznie łączny wpływ nasilenia zmian zapalnych, odchyłań w Sniffin'Stick teście oraz nasilenia subiektywnych objawów PZZP wg EPOS 20212/2020 na intensywność wybarwienia komórek (Index H-score), świadczący o wzroście gęstości receptora TAS2R38 w błonie śluzowej nosa.

W przeprowadzonej w rozdziale 5 Omówienie wyników Doktorantka zestawiała i porównała wyniki przeprowadzonych badań własnych z danymi z piśmiennictwa w sposób rzeczowy i konsekwentny. Rozważania i dyskusja naukowa została poparta rzetelnym przeglądem światowego piśmiennictwa z danej problematyki a Doktorantka zinterpretowana właściwie uzyskane rezultaty pracy w odniesieniu do wyników innych badaczy. Wykazała umiejętność krytycznej i wyważonej oceny pracy własnej i uzyskanej w niej rezultatów oraz dobrej znajomości poruszanych, tak trudnych i złożonych zagadnień genetycznych. Na uwagę zasługuje fakt łatwego prowadzenia dyskusji pomimo dużej liczby publikacji dotyczących omawianego tematu i różnych, często odmiennych a nawet przeciwstawnych wniosków dotyczących określenia roli m.in. wpływu polimorfizmu genu dla receptora smaku gorzkiego *TAS2R38*, co dowodzi wiedzy Doktorantki. Brak jednoznacznych wyników badań w badanym zakresie, wskazuje na aktualny i potrzebny wymiar przeprowadzonych analiz. Nie bez znaczenia pozostaje także fakt, że nasilenie zmian zapalnych w TK wg skali Lund-Mackay u pacjentów z grup z PZZP oraz PZZPzP korelowało z uzyskanymi wynikami i diagnozą w teście Sniffin'Sticks. Co więcej, porównując wyniki testów powonienia w badanych grupach otrzymano znamiennej różnicę. Opierając się na literaturze, jest to wynik toksycznego uszkodzenia neuronów czuciowych w zakresie neuroepithelium u chorych z PZZP i wczesnej zaprogramowanej śmierci komórek w nabłonku węchowym. Na tym etapie rodzi się pytanie w jakim mechanizmie dochodzi u chorych z PZZP do wspomnianej wczesnej apoptozy komórek neuroepithelium ? Badania tj. sekwencjonowanie genu kodującego receptor smaku gorzkiego *TAS2R38* przeprowadzone przez Doktorantkę wyraźnie wskazują, że polimorfizmy opisywane w literaturze występują także w populacji polskiej. Wyniki genotypów zbliżają się do rozkładu uzyskanego w klasycznej genetyce mendelowskiej. W populacji polskiej przeważa genotyp heterozygotyczny PAV/AIV. Niefunkcyjną formę polimorfizmu w receptorze TAS2R38 (AVI) w postaci homo- lub heterozygotycznej stwierdzono istotnie częściej w grupie badanej z PZZP tj. w 83% oraz

w grupie II w 76%. Doktorantka dojrzałe dyskutuje odmienne wyniki przedstawione przez innych autorów, słusznie wskazując, że być może geneza powstawania polipów w PZZPzP jest inna niż PZZP, co musi rzutować na uzyskane obserwacje. Doktorantka wyciąga także, z prowadzonej z innymi autorami dyskusji, znaczące wnioski i ciekawe przypuszczenia, m.in. że allel PAV w genie *TAS2R38* nie predysponuje do rozwoju PZZP, potwierdzając tym samym teorię o protekcyjnej funkcji allela PAV, ze względu na niską liczbę chorych z PZZP posiadających genotyp homozygotyczny PAV/PAV. Doktorantka stara się wyjaśnić udział mechanizmów i zjawisk mogących mieć wpływ na przedstawione wyniki, zadaje trudne pytania dotyczące patogenezy PZZP i podejmuje próbę odpowiedzi na nie w oparciu o dostępne informacje z najnowszych publikacji np. tłumaczy zjawisko zależności znamiennej nadekspresji receptora *TAS2R38* z nasileniem PZZP w wyniku pośrednictwa w uruchamianiu klirensu śluzowo-rzęskowego po połączeniu się z nim patogenów. Wskazuje także, że nadekspresja receptora *TAS2R38* w PZZP, zwłaszcza u chorych z genotypem niefunkcyjnym AVI/AVI może być przyczyną stanu zapalnego, udowadniając że zwiększona ekspresja receptora jest najprawdopodobniej mechanizmem miejscowej obrony komórek na słabą funkcję homozygotycznego niefunkcyjnego receptora. Autorka podkreśla, że większa kumulacja w błonie śluzowej słabych receptorów ma przyspieszać opanowanie stanu zapalnego. Tak jak zaznacza Doktorantka, wzrost poziomu transkrypcji produktu genu *OR1G1* oraz translokację białka błonowego *TAS2R38* można będzie w przyszłości wykorzystać w nowoczesnej terapii celowanej w PZZP. Zablokowanie tych procesów będzie potrafiło spowodować spadek ekspresji genów cząsteczek prozapalnych.

Wracając do ograniczonej ilościowo grup badanych analizowanych w Dysertacji, myślę, że uzupełnienie ww. obserwacji większą ilością wyników badań przed publikacją w czasopismach o randze międzynarodowej przyczyni się do przedstawienia bardziej miarodajnych i w pełni rzetelnych wniosków oraz pozwoli na podjęcie próby selekcji chorych z rzeczywiście zwiększonym ryzykiem PZZP i tym samym da możliwość klinicznego wykorzystania rezultatów badań w przyszłości. Propozycja uzupełnienia badań o proponowane analizy w żadnym jednak stopniu nie zmniejsza wartości merytorycznej Dysertacji, a stanowić może cenne źródło dodatkowych informacji w zakresie biologii PZZP.

Wnioski zawarte w rozdziale podsumowującym przeprowadzone analizy są w pełni zgodne z przyjętymi celami pracy oraz w sposób logiczny wynikają z przeprowadzonych badań. Przedstawione wnioski są oryginalnymi wnioskami Doktorantki sformułowanymi przejrzysto i precyzyjnie.

Przekazane bezpośrednio Doktorantce nieliczne uwagi stylistyczne i edytorskie mają wyłącznie charakter redakcyjny i nie mają wpływu na wysoką ocenę merytoryczną pracy.

Na podstawie dokonanej oceny całości pracy stwierdzam, że **rozprawa doktorska lek. Karoliny Piskadło-Zborowskiej pt.: „Ocena wpływu polimorfizmu w receptorach smaku gorzkiego i węchu na predykcję do rozwoju przewlekłego zapalenia zatok przynosowych”** stanowi samodzielne rozwiązanie przez Doktorantkę problemu naukowego wskazując na jej dużą wiedzę teoretyczną i umiejętność krytycznej oceny porównawczej wyników pracy własnej. Oceniona przeze mnie rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). W związku z powyższym mam zaszczyt i przyjemność przedłożyć Wysokiej Radzie Naukowej Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie wniosek o dopuszczenie Doktorantki lek. Karoliny Piskadło-Zborowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na wysokie walory poznawcze i aplikacyjne ocenianej pracy wnoszę o **wyróżnienie rozprawy**, jeśli zostały spełnione wszystkie z obowiązujących warunków stawianych przez Wysokiej Radzie Naukowej Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie.



Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Starska-Kowarska
Zakład Fizjologii, Patofizjologii i Immunologii Klinicznej
Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Na podstawie dokonanej oceny całości pracy stwierdzam, że **rozprawa doktorska lek. Karoliny Piskadło-Zborowskiej pt.: „Ocena wpływu polimorfizmu w receptorach smaku gorzkiego i węchu na predykcję do rozwoju przewlekłego zapalenia zatok przynosowych”** stanowi samodzielne rozwiązanie przez Doktorantkę problemu naukowego wskazując na jej dużą wiedzę teoretyczną i umiejętność krytycznej oceny porównawczej wyników pracy własnej. Oceniona przeze mnie rozprawa doktorska w pełni spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.). W związku z powyższym mam zaszczyt i przyjemność przedłożyć Wysokiej Radzie Naukowej Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie wniosek o dopuszczenie Doktorantki lek. Karoliny Piskadło-Zborowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na wysokie walory poznawcze i aplikacyjne ocenianej pracy wnoszę o **wyróżnienie rozprawy**, jeśli zostały spełnione wszystkie z obowiązujących warunków stawianych przez Wysoką Radę Naukową Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie.



Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Starska-Kowarska
Zakład Fizjologii, Patofizjologii i Immunologii Klinicznej
Katedra Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi