

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Justyny Jakubas-Zawalskiej
pt. „Badania nad antygenami roztoczy i owadów magazynowych na terenie
województwa śląskiego”

ODDZIAŁ KLINICZNY
PEDIATRII KATEDRY
PEDIATRII

41-902, Bytom, ul. Batorego 15
www.sum.edu.pl

KIEROWNIK
Prof. dr hab. n. med.
Anna Obuchowicz
aobuchowicz@sum.edu.pl

SEKRETARIAT
tel.: (+48 32) 78 61 498

fax: (+48 32) 78 61 498
pedbyt@sum.edu.pl

Badania epidemiologiczne prowadzone w wielu krajach wskazują na dynamiczne zwiększanie się częstotliwości występowania chorób o podłożu alergicznym. Ich znaczne rozpowszechnienie dotyczy zwłaszcza krajów rozwiniętych. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego, wśród chorób przewlekłych występujących u Polaków w wieku do 30 lat, dominuje astma i inne postaci alergii. Prowadzone badania mają na celu wskazanie czynników odpowiedzialnych za wzrost zachorowań na choroby alergiczne. Wśród czynników ryzyka ważną rolę odgrywają czynniki środowiskowe, zarówno w miejscach zamieszkania, jak i miejscach pracy.

Celem przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej jest ocena ryzyka ekspozycji mieszkańców i pracowników przemysłu spożywczego w województwie śląskim na roztocze i owady magazynowe oraz antygeny tych stawonogów, w tym na frakcje białkowe o możliwym potencjale alergennym.

Podstawę pracy doktorskiej stanowi zbiór, spójnych tematycznie, trzech publikacji, o łącznym IF=3.500 i 85 punktach MNiSW. Zostały one opublikowane w następujących recenzowanych czasopismach:

1. Jakubas-Zawalska J., Asman M., Kłyś M., Solarz K. Sensitization to *Sitophilus granarius* in selected suburban population of South Poland. *Journal of Stored Products Research* 2016; 69:1-6. (MNiSW: 35; IF:1,750).
2. Jakubas-Zawalska J., Asman M., Kłyś M., Solarz K. Prevalence of sensitization to extracts from particular life stages of the saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis*) in citizens of selected suburban areas of Southern Poland. *Journal of Stored Products Research* 2016; 69: 252-256. (MNiSW:35; IF:1,750).
3. Jakubas-Zawalska J., Asman M., Solarz K. Sensitization to the storage mites *Lepidoglyphus destructor* and *Tyrophagus putrescentiae* (Acari, Sarcoptiformes, Astigmatina) in a suburban population in Southern Poland. *Annals of Parasitology* 2017; 63(3): 183-188. (MNiSW: 15).



Forma przygotowania rozprawy jest zgodna z obowiązującymi przepisami prawnymi dotyczącymi stopni naukowych i tytułu naukowego oraz stopni i tytułu w zakresie sztuki (Dz. U.65, poz. 595, z późn.zm).

Dokumentacja rozprawy doktorskiej została przez Autorkę starannie opracowana. Spis treści, wykazy: skrótów, tabel i rycin, poprzedzają obszerny Wstęp. Doktorantka omówiła w nim znaczenie stawonogów, zwłaszcza roztoczy i owadów magazynowych, dla rozwoju chorób alergicznych u osób związanych zawodowo z rolnictwem lub przemysłem spożywczym. Zwróciła również uwagę, że do wystąpienia reakcji anafilaktycznej może dojść po spożyciu porażonych produktów, co z klinicznego punktu widzenia zasługuje na podkreślenie. Drugi istotny aspekt bytowania szkodników magazynowych, na który wskazuje Doktorantka, to ogromne zniszczenia produktów, zwłaszcza ziaren zbóż – w Polsce sięga ono 400 000 ton rocznie.

W kolejnych podrozdziałach Wstępu zostały omówione alergeny roztoczy magazynowych i owadów magazynowych. Autorka podkreśla, że w porównaniu z wiedzą na temat alergenów roztoczy domowych, wiedza na temat alergenów roztoczy przechowywanych jest fragmentaryczna, a na temat alergenów owadów przechowywanych – wręcz znikoma.

Po omówieniu budowy anatomicznej stawonogów i roztoczy, Doktorantka wskazała na trzy rzędy roztoczy bytujących w produktach spożywczych. Spośród nich, do badań wybrała roztocze powrzechnie występujące w magazynach i zmagazynowanych produktach spożywczych – rozkruszka (*Tyrophagus putrescentiae*) oraz roztoczka owłosionego (*Lepidoglyphus destructor*).

Omówienie budowy anatomicznej i stadiów rozwojowych owadów poprzedza podrozdział poświęcony owadom (chrząszczom) zakwalifikowanym do badań – spichrzelowi surynamskiemu (*Oryzaephilus surinamensis*) oraz wołkowi zbożowemu (*Sitophilus granarius*).

Podstawa dokonania wyboru, tj. duża częstość występowania wymienionych roztoczy i chrząszczy magazynowych oraz ich znaczenie alergenne, jest właściwa dla zrealizowania celów pracy.

Rozdział III recenzowanej rozprawy został zatytułowany „Podsumowanie i omówienie wyników”. Doktorantka omawia w tym rozdziale wyniki znacznie szerszego zakresu badań niż te, które stały się podstawą publikacji. Prezentację wyników poprzedza opis uzyskania 75 prób materiału do badań akarologicznych (30 z pomieszczeń gospodarstw wiejskich i 30 z pomieszczeń sklepów spożywczych) oraz akarologicznych i entomologicznych (15 prób paszy dla zwierząt).

łącznie, ze wszystkich prób wyizolowano 2867 roztoczy oraz 31 owadów, których gatunki zostały szczegółowo opisane w podrozdziałach:

- 1.1. Akarofauna w pomieszczeniach gospodarstwa wiejskiego oraz ekspozycja rolników na roztocze alergenne
- 1.2. Akarofauna w pomieszczeniach sklepów spożywczych oraz ekspozycja pracowników na roztocze alergenne
- 1.3. Akarofauna w próbach paszy dla zwierząt hodowlanych oraz ekspozycja rolników na roztocze alergenne.

Doktorantka wykazała, że zabudowania gospodarstw wiejskich, pasza dla zwierząt i pomieszczenia sklepów spożywczych są źródłem licznych gatunków roztoczy alergicznych. Osoby mieszkające lub pracujące w tych środowiskach mogą być zagrożone rozwojem alergii na antygeny tych roztoczy, w tym na objętych badaniami – roztoczka owłosionego (*L. destructor*) i rozkruszka drobnego (*T. putrescentive*). Ponadto, osoby te mogą być narażone na antygeny owadów przechowywanych, w tym chrząszczy objętych badaniem – spichrzela surynamskiego (*a. surynamensis*) i wołka zbożowego (*s. granarius*).

Z klinicznego punktu widzenia na szczególną uwagę zasługują dwa końcowe podrozdziały podsumowania wyników. Stanowią one podstawę trzech publikacji będących zasadniczą częścią rozprawy doktorskiej. We wzmiankowanych podrozdziałach Autorka podsumowała wyniki identyfikacji frakcji białkowych o potencjale alergicznym, wybranych gatunków stawonogów przechowywanych. W badaniach immunologicznych zastosowała metody SDS PAGE i Western blot. Liczba wykrytych frakcji białkowych była mniejsza u badanych gatunków roztoczy niż owadów. Warto podkreślić, że identyfikacji frakcji białkowych dokonano we wszystkich stadiach rozwojowych badanych owadów, co świadczy o docieklivosti naukowej Doktorantki. Dzięki tej analizie zidentyfikowano frakcje białkowe o zróżnicowanej masie cząsteczkowej – w większej liczbie w przypadku badanych gatunków owadów niż roztoczy. Wśród badanych stadiów rozwojowych owadów największą liczbę frakcji białkowych stwierdzono u poczwerek. Badania poświęcone identyfikacji frakcji białkowych dopełnia analiza molekularna ekspresji podjednostki I mitochondrialnej oksydazy cytochromu c (COI) u aktywnych stadiów rozwojowych badanych owadów przechowywanych. Podstawą wyboru tego białka było dokonanie analizy porównawczej określonych w badaniach własnych frakcji białkowych z danymi dostępnymi w bazie danych Uni Prot (*The Universal Protein Resource*). Doktorantka opisała szczegółowo metodę izolacji DNA owadów oraz jego amplifikację w reakcji PCR. Obecność COI wykazała na poziomie genomu obu gatunków badanych owadów, co wskazuje na możliwość ekspresji tego białka u obu gatunków. Co ważne, wskazaniem do kwalifikacji COI do analizy molekularnej były wyniki przeprowadzonego uprzednio badania immunologicznego. Doktorantka

oceniła bowiem obecność przeciwciał w klasie IgE przeciwko licznym zidentyfikowanym frakcjom białkowym stawonogów magazynowych, w 30 próbkach surowic pacjentów, pozyskanych z laboratorium jako pozostałość po innych badaniach diagnostycznych. Stwierdziła obecność przeciwciał przeciwko antygenom frakcji białkowych wszystkich badanych gatunków stawonogów magazynowych, w tym frakcji białkowych o masach cząsteczkowych równych lub zbliżonych do COI. Z medycznego punktu widzenia bardzo ciekawe jest stwierdzenie przez Doktorantkę mniejszej liczby frakcji białkowych i mniejsza liczba dodatnich reakcji immunologicznych w badanych surowicach na ekstrakty gatunków roztoczy niż owadów magazynowych. Jak podkreśla Autorka, badania nad antygenami białkowymi wszystkich aktywnych form owadów magazynowych nie były dotychczas publikowane. Praca ma zatem charakter nowatorski.

Rozprawa zakończona jest pięcioma wnioskami wynikającymi z przeprowadzonych badań i odpowiadającymi na cele pracy.

Ostatnie rozdziały to: Wykaz piśmiennictwa, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Aneks zawierający pełne teksty publikacji oryginalnych będących podstawą recenzowanej rozprawy wraz z oświadczeniami współautorów potwierdzających możliwość wykorzystania prac w rozprawie doktorskiej mgr Justyny Jakubas-Zawalskiej.

Oceniając bardzo pozytywnie pracę przedłożoną do recenzji pragnę jedynie zwrócić uwagę na dwa aspekty, które dla Doktorantki nie będącej lekarzem mogły nie być istotne. Po pierwsze – nie jest znany stan zdrowia, a zwłaszcza występowanie chorób alergicznych u pacjentów, których surowice poddano analizie. Zwłaszcza choroby dermatologiczne i laryngologiczne mogły mieć podłoże alergiczne. Takie informacje mogłyby zmienić interpretację wyników.

Po drugie – liczba 30 surowic nie pozwala, moim zdaniem, na uznanie wyników jako charakterystycznych dla „ogólnej populacji mieszkańców Górnego Śląska”, a jedynie dla wybranej populacji być może jednego miasta (nie wiadomo gdzie mieszkało 30 osób, których surowice badano w jednym laboratorium).

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa przedłożona do recenzji spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim określone w art. 13 ust. 1 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.).

Trzy publikacje – będące podstawą rozprawy, których mgr Justyna Jakubas-Zawalska jest pierwszą autorką, stanowią spójny tematycznie cykl prac o dużej wartości poznawczej i aspektach nowatorskich. Zakres wyników omówionych w tezach jest szerszy niż w przedstawionych publikacjach.

Mam zatem zaszczyt wystąpić z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu,



Śląski Uniwersytet
Medyczny w Katowicach

Śląskiego uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie mgr Justyny Jakubas-Zawalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wniosuję również o wyróżnienie pracy.

KIEROWNIK
Katedry Pediatrii
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

prof. dr hab. n. med. Anna Obuchowicz