

064/100036

INSTYTUT GRUŻLICY I CHOROBY PŁUC  
Oddział Terenowy w Rabce-Zdrój  
KLINIKA ALERGOLOGII I PNEUMONOLOGII  
Oddział Kliniczny I  
34-700 Rabka-Zdrój, ul. Prof. J. Rudnika 3B  
tel. 18 26 76 060 wew. 281, 370, 410  
000000018616 21 096  
REGON 000288490-00020

## RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. med. Zbigniewa Sankowskiego na temat :  
**Ocena częstości występowania reakcji alergicznych natychmiastowych i późnych na pospolite alergeny u dzieci z atopowym zapaleniem skóry, astmą i alergicznym nieżytem nosa”.**

Choroby alergiczne wieku rozwojowego takie jak atopowe zapalenie skóry (AZS), astma oskrzelowa (AO) i alergiczny nieżyt nosa (ANN) których częstość występowania wzrosła w ciągu ostatnich 30 lat XX wieku stanowią jeden z ważniejszych problemów współczesnej medycyny. Alergia atopowa jest dzisiaj zjawiskiem powszechnym nie tylko w Europie, USA ale też i na innych kontynentach, dlatego choroby alergiczne zostały uznane za jeden z głównych problemów i wyzwań współczesnej opieki zdrowotnej a Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaliczyła je do chorób cywilizacyjnych. Według opinii ekspertów WHO w 2018 roku ponad 600 milionów ludzi na całym świecie choruje na alergiczny nieżyt nosa i ponad 350 milionów na samą astmę. Badania epidemiologiczne, monitorujące sytuację częstości występowania chorób alergicznych wykonywane są okresowo na różnych kontynentach jak również w poszczególnych krajach i regionach krajów. Między innymi takie badania przeprowadzono w Polsce w latach 2006 - 2008 (*Epidemiologia Chorób Alergicznych w Polsce - ECAP*), którymi objęto ponad dwadzieścia tysięcy osób badanych w trzech grupach wiekowych: 6-7 lat, 13-14 lat oraz 20 - 44 lata i stwierdzono, że częstość występowania alergii w społeczeństwie polskim wynosi 40%. Wzrost częstości występowania chorób alergicznych u dzieci, i młodzieży, związany jest ze zmianami zachodzącymi w otaczającym środowisku (zmiana nawyków żywieniowych, chemizacja żywności, ekspozycja na infekcje i przewlekły stres) oraz zmianą stylu życia tzw. „westernalizacją”.

**Klasyczne punktowe testy skórne (SPT)** stanowią przydatne narzędzie diagnostyczne w wykrywaniu alergii IgE-zależnej - ujawniają bowiem obecność swoistych przeciwciał IgE w skórze do uwalniania mediatorów oraz reakcję tkanki na te mediatory, natomiast **badanie as IgE in vitro** określa stężenie krążących w surowicy krwi przeciwciał alergenowo-swoistych w kasie immunoglobuliny IgE.



Kierownik Kliniki  
prof. dr hab. n. med.  
Ryszard Kurzawa

KLINIKA  
ALERGOLOGII  
I PNEUMONOLOGII  
INSTYTUTU  
GRUŻLICY  
I CHOROBY PŁUC

ODDZIAŁ  
TERENOWY  
im. JANA I IRENY  
RUDNIKÓW  
w RABCE ZDRÓJU

34-700 RABKA ZDRÓJ  
ul. Prof. Jana Rudnika 3b Paw II  
tel. (018) 26 76 936  
fax: (018) 26 79 850  
e-mail:  
rkurzawa@zpigichp.edu.pl

ODDZIAŁ TERENOWY  
im. Jana i Ireny Rudników  
RABKA ZDRÓJ

Mitchella, który wykazał, że naskórkowa aplikacja niektórych alergenów atopowych (*haptenów*) na niezmiernie obszary skóry u pacjentów z ciężkim AZS powoduje wystąpienie zmian skórnych typu wyprysku. Od tego czasu metodyka wykonywania APT ulegała wielokrotnym modyfikacjom i dopiero w 2006 roku Europejska Akademia Alergologii i Immunologii Klinicznej (EAACI) wraz z Globalną Siecią Europejską ds. Alergii i Astmy (GA<sup>2</sup>LEN) opublikowała stanowisko dotyczące aktualnego statusu atopowych testów płatkowych.

APT - stanowią odpowiednik naskórkowych testów płatkowych stosowanych w diagnostyce wyprysku kontaktowego, ale zamiast haptenów stosuje się powszechne alergeny środowiska - alergeny powietrzno pochodne (np. roztocza kurzu domowego, pyłki roślin), jak i alergeny pokarmowe (mające znaczenie w etiologii chorób atopowych)

Doktorant podjął się ważnego i ciekawego problemu, jakim jest **ocena częstości występowania dwóch typów reakcji immunologicznych w skórze: reakcji natychmiastowej, ocenianej za pomocą SPT i as IgE i reakcji późnej, ocenianej za pomocą atopowych testów płatkowych (APT), po różnej aplikacji tego samego alergenu u dzieci chorych na AZS, AO i ANN**

Maszynopis recenzowanej pracy lek med. Zbigniewa Sankowskiego składa się z 93 stron właściwego tekstu, podzielonego w przejrzysty sposób na rozdziały: **wstęp, cel pracy, materiał i metody badań, wyniki, dyskusja i wnioski**. Najistotniejsze elementy opracowania przedstawione są w 3 i pół stronicowym streszczeniu w języku polskim i angielskim. Orientację w tekście pracy ułatwia spis treści oraz wykaz pojęć i użytych w pracy skrótów jak również spis tabel i rycin. Pracę zamyka wykaz 151 pozycji aktualnego, cytowanego piśmiennictwa.

**WE WSTĘPIE** - autor daje syntetyczny przegląd aktualnych informacji na temat czterech typów reakcji immunologicznych wg podziału Coombsa i Gella, biorących udział w rozwoju chorób alergicznych u dzieci. Zwraca uwagę, że rutynowo, w celu identyfikacji alergenów wywołujących objawy chorób alergicznych (AZS, AO i ANN), wykonuje się w diagnostyce alergologicznej badania wykrywające reakcję natychmiastową IgE-zależną za pomocą SPT i asIgE, natomiast APT wykonuje się w celu ewentualnego potwierdzenia reakcji komórkowej, szczególnie u pacjentów z AZS. Doktorant podaje wyczerpujące

informacje na temat wskazań do wykonania APT, techniki ich wykonywania oraz standaryzacji; omawia również przydatność w badaniach epidemiologicznych oraz ich wykorzystanie w diagnostyce różnych chorób alergicznych, nie tylko atopowego zapalenia skóry, ale również w alergii pokarmowej w ANN i AO. Należy nadmienić że, atopowe testy płatkowe, w przeciwieństwie do skórnych testów punktowych i aslgE, są mało znane i rzadko wykonywane przez lekarzy specjalistów alergologów, jak również, że aktualne wytyczne międzynarodowych grup ekspertów (ARIA, GINA, WAO) nie zalecają rutynowego ich wykonywania w diagnostyce ANN i AO. Doktorant w końcowej części wstępu zwraca jednak uwagę, że wiele opublikowanych wyników badań wskazuje na to, że APT znacząco zwiększają prawdopodobieństwo wykrycia alergii, szczególnie w grupie młodszych dzieci.

**CELEM BADANIA** - była ocena częstości występowania dwóch typów reakcji immunologicznych w skórze, (*typu natychmiastowego i typu późnego*) *w zależności od sposobu aplikacji tego samego alergenu na skórę u dzieci chorych na AZS, AO i ANN*. Cel badania przedstawiony jest jasno i jest logicznym następstwem dyskusji w piśmiennictwie przytoczonym we wstępie jak również w dostatecznym stopniu uzasadnia potrzebę podjęcia tych badań.

**MATERIAŁ KLINICZNY** stanowiła retrospektywna analiza wyników badań częstości występowania dwóch typów reakcji immunologicznych w skórze, *natychmiastowej i późnej* w grupie wyjściowej 830 dzieci, u których wykonano testy płatkowe z alergenami pokarmowymi i powietrznopochodnymi, którą po analizie kompletności badań zmniejszono do **711 dzieci i młodzieży (406 dziewczynek – 57,1% i 305 chłopców – 42,9%)**, w średnim wieku 7 i pół lat. (Q50 = 79 miesięcy). Dzieci te hospitalizowane były w Oddziale Alergologii i Chorób Płuc Szpitala Dziecięcego Polanki im Macieja Płażyńskiego w Gdańsku Oliwie w okresie od 1 stycznia 1996 do 28 lutego 2012 roku w celu przeprowadzenia pogłębionej diagnostyki alergologicznej, ustalenia rozpoznania i zasad dalszego leczenia. U 560 dzieci rozpoznano atopowe zapalenie skóry (AZS), u 151 dzieci astmę oskrzelową (AO), a u 260 dzieci alergiczny nieżyt nosa (ANN). Chorych, u których rozpoznano AO i/lub ANN zakwalifikowano do grupy pacjentów z chorobą układu oddechowego (ChUO).

W oparciu o rozpoznania kliniczne, do dalszej analizy podzielono dzieci na cztery grupy badawcze:

**grupa A (AZS bez ChUO) – 314 dzieci,**

**grupa B (ChUO bez AZS) – 61 dzieci**

*grupa C (AZS i ChUO) – 246 dzieci*

*grupa D (bez AZS i ChUO) – 90 dzieci*

### METODYKA BADAŃ

**Atopowe testy płatkowe (APT)** - wykonywano na skórze górnej części pleców nieobjętej procesem chorobowym i nie poddanej wcześniejszemu *strippingowi*. Do wykonania testów stosowano aluminiowe komory (Finn Chambers) o średnicy 8 mm umocowane na plastrze Scanpor, a do testowania wystandaryzowane roztwory alergenów inhalacyjnych firmy Stallergenes o mocy alergenowej 200 IR/g rozprowadzone w wazelinie białej: *Dermatophagoides pteronyssinus (DP)*, *Dermatophagoides farinae (DF)*, *naskórek kota*, *naskórek psa*, *Alternaria tenuis (Alt)*, *Cladosporium herbarum (Clad)*, *pyłki traw*, *pyłek brzozy*, *i bylicy*. Jako kontrolę ujemną używano wazelinę białą. W przypadku wykonywania testów z alergenami pokarmowymi posługiwano się świeżymi pokarmami, rozpuszczając *surowe białko jaja (BJ)*, *żółtko jaja (ZJ)*, *mąkę pszenną (MP)* i *żytnią (MZ)* w roztworze 0,9% NaCl w proporcji 1g na 100 ml roztworu. Kroplę 3,2% mleka krowiego (MK) oraz przygotowanego *de novo* roztworu z pokarmami umieszczano na krążku bibułowym, a ten w komorze aluminiowej. Komory Finn Chambers przymocowywano do skóry pleców. Jako kontrolę ujemną używano 0,9% NaCl (jedna kropla naniesiona na krążek bibułowy). Pierwszego odczytu wyniku dokonywano po 48 godzinach (w 20 min. po usunięciu plastrów z komorami), drugiego po 72 godzinach od momentu założenia testów. Za wynik dodatni przyjmowano wynik odczytany po 72 godzinach i oznaczony co najmniej jako „jeden plus” (+). APT wykonywano i oceniano zgodnie z zaleceniami Europejskiej Grupy Roboczej do Spraw Wyprysku Atopowego – ETFAD

**Testy skórne punktowe (SPT)** - wykonywano z wyciągami alergenowymi firmy Allergopharma o mocy alergenowej od 10000 do 100000 BU/ml (SBE/ml): *Dermatophagoides pteronyssinus (DP)*, *Dermatophagoides farinae (DF)*, *Alternaria tenuis (Alt)*, *Cladosporium herbarum (Clad)*, *naskórek kota*, *naskórek psa*, *pyłki traw (kłosówka, kupkówka pospolita, rajgras angielski, tymotka łąkowa, wiechlina łąkowa, kostrzewa łąkowa)*, *pyłek brzozy i bylicy pospolitej*. Testy skórne wykonywano na dłoniowej części przedramienia w obrębie niezmiętej chorobowo skóry, przemytej wcześniej środkiem odkażającym. Przez nałożone na skórę krople alergenów oraz roztworów kontroli dodatniej (histamina) i kontroli ujemnej nakłuwano prostopadle skórę za pomocą lancetu

o jednomilimetrowym ostrzu (każdy alergen za pomocą oddzielnego lancetu). Wynik SPT z histaminą oceniano po upływie 10-15 minut, a z poszczególnymi alergenami po 15-20 minutach, po uprzednim usunięciu wyciągu alergenowego gazikiem. Odczytywano pomiary dwóch średnic bąbla: najdłuższej i prostopadłej do niej poprowadzonej w połowie długości z pominięciem "nibynózek", o ile takie występowały. Do oceny wyniku wykorzystywano pomiar najdłuższej średnicy bąbla. Za wynik dodatni przyjmowano najdłuższą średnicę bąbla większą lub równą 3 mm. Testy skórne punktowe wykonywano i oceniano zgodnie z wytycznymi polskiej grupy ekspertów i wytycznymi EAACI

**Pomiar asIgE** – oznaczenia stężenia alergenowo-swoistych przeciwciał w klasie IgE w surowicy krwi wykonywano metodą fluoroimmunoenzymatyczną za pomocą aparatu UniCap 100 firmy Pharmacia. Stężenie as IgE podawano w jednostkach (KU/l) oraz w klasach (I-VI). Wynik badania asIgE poniżej 0,35 kU/l (klasa 0) uznawano za ujemny a pozostałe za dodatni. Alergenowo swoiste przeciwciała IgE wykonywano z alergenami powietrzno pochodnymi: *Dermatophagoides pteronyssinus (DP)*, *Dermatophagoides farinae (DF)*, naskórek kota, naskórek psa, *Alternaria tenuis (Alt)*, *Cladosporium herbarum (Clad)*, pyłki traw, pyłek brzozy, pyłek bylicy oraz z alergenami pokarmowymi: mleko krowie (MK), białko jaja kurzego (BJ), żółtko jaja kurzego (ZJ), mąka pszenna (MP), mąka żytnia (MZ).

Dodatkowo, u wszystkich dzieci chorujących na AZS obliczono **Indeks SCORAD**, określający stopień ciężkości przebiegu klinicznego atopowego zapalenia skóry:

- łagodny            indeks SCORAD < 15 punktów,
- umiarkowany    indeks SCORAD 15 – 40 punktów,
- ciężki             indeks SCORAD > 40 punktów.

Częstość występowania alergii IgE-zależnej oceniano za pomocą dodatnich wyników oznaczeń asIgE i/lub dodatnich SPT:

**SPT/asIgE + (plus)** - oznacza dodatni test SPT i/lub dodatni test RAST.

**SPT/asIgE – (minus)** - oznacza ujemny wynik testu skórnoego lub ujemny wynik testu RAST.

W każdej z badanych czterech grup A, B, C i D określono częstość występowania dodatnich APT oraz testów skórnych punktowych i/lub asIgE z co najmniej jednym alergenem (A1) spośród alergenów użytych do testowania.

**ANALIZA STATYSTYCZNA**, która stanowi istotną część tej pracy, została wykonana w oparciu o bazę danych, założoną w arkuszu kalkulacyjnym

Microsoft EXCELL 2010. Starannie wykonaną i wszechstronną analizę statystyczną danych prowadzono kilku etapowo. W pierwszym etapie dokonano analizy rozkładów badanych zmiennych oraz porównań i badań zależności między nimi wykorzystując standardowe testy statystyczne. W celu zweryfikowania hipotezy o zgodności badanych rozkładów z rozkładem normalnym, rozkłady empiryczne badanych zmiennych mierzalnych zostały porównane do rozkładu normalnego, za pomocą testu Kolmogorowa-Smirnowa. Ze względu na silną asymetrię rozkładów zmiennych, do ich opisu wyznaczono obok klasycznych (średnia, odchylenie standardowe), parametry pozycyjne wg Tukey'a takie jak: (minimum, kwartyl 25%, mediana, kwartyl 75% i maksimum) .

Do porównań rozkładów zmiennych niezależnych wykorzystano testy nieparametryczne Wilcoxon-Manna-Whitneya, a dla zmiennych zależnych test U Manna-Whitneya.

W drugim etapie analizy współwystępowania APT i SPT/asIgE oraz dla oceny zrównoważenia niezgodności wyników testów APT i SPT/asIgE przeprowadzono test niezależności (Fisher exact test) i test jednorodności rozkładów brzegowych (test McNemara). Dodatkowo, celem bardziej szczegółowej interpretacji danych, obliczono współczynnik ryzyka względnego (relative risk – RR). W opisie charakterystyk jakościowych zastosowano tablice kontyngencji z zaznaczeniem odpowiedniego udziału procentowego i ilościowego. Ponadto na wykresach mozaikowych zaznaczono wartości procentowe występowania analizowanych zjawisk.

**WYNIKI BADAŃ** i analiz statystycznych zostały przedstawione przez lek. med. Zbigniewa Sankowskiego na 32 stronach w sposób szczegółowy i przejrzysty, zilustrowane 13 rycinami i 24 tabelami.

Doktorant wykazał że:

1. W grupie pacjentów chorujących tylko na AZS dodatnie wyniki APT występują istotnie częściej niż dodatnie SPT/asIgE
2. W grupie pacjentów chorujących tylko na ChUO dodatnie wyniki SPT/asIgE występują istotnie częściej niż u pacjentów chorujących tylko na AZS oraz pacjentów bez AZS i bez ChUO.
3. W grupie pacjentów z AZS i ChUO częstość dodatnich wyników SPT/asIgE jest podobna jak w grupie pacjentów z ChUO.
4. Częstość dodatnich APT zmniejsza się wraz z wiekiem, a wzrasta częstość dodatnich SPT/asIgE.

*Podsumowując wyniki* chciałbym zwrócić uwagę na najważniejsze osiągnięcia: wynikające z pracy doktorskiej:

- **Doktorant potwierdził**, że u dzieci chorujących na AZS, AO i ANN występują dwa typy reakcji immunologicznych na pospolite alergeny środowiskowe (**reakcja IgE-zależna, natychmiastowa typu I oraz zależna od limfocytów T reakcja komórkowa typu IV**).
- **Udowodnił**, że wykonywanie obu metod diagnostycznych w rozpoznawaniu chorób atopowych umożliwia precyzyjniejszą identyfikację czynnika wyzwalającego objawy alergii.
- **Wykazał**, że zmniejszanie się wraz z wiekiem dzieci częstości dodatnich ATP a wzrost częstości dodatnich SPT/asIgE, pozwala na wytłumaczenie zjawiska marszu alergicznego w kontekście przełączania początkowej reakcji immunologicznej typu IV (reakcji komórkowej) na I typ natychmiastowy (reakcji alergicznej IgE-zależnej).

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na pojedyncze błędy stylistyczne oraz pewne określenia żargonowe, używane w potocznym języku „alergologicznym”, które w żaden sposób nie zmniejszają mojej bardzo wysokiej oceny przedstawionej mi do recenzji pracy.

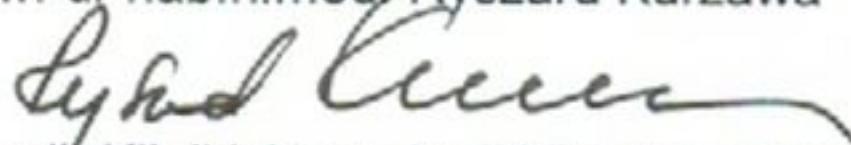
Przechodząc do **końcowego podsumowania** jestem zdania, że :

1. **Doktorant** jasno określił zagadnienie badawcze, które stanowi przedmiot jego rozprawy doktorskiej.
2. Samodzielnie rozwinął przedstawione zagadnienie przy pomocy odpowiednio zaplanowanych i przeprowadzonych badań oraz kompleksowej analizy statystycznej.
3. Wykazał dobrą orientację w przedmiocie opracowania i dowiódł umiejętności samodzielnego posługiwania się środkami naukowymi w czasie analizy, opracowywania i porównywania uzyskanych wyników badań z wynikami prac omawianymi w dyskusji
4. Wysnuł wnioski adekwatne do poczynionych spostrzeżeń.

Stwierdzam więc, że rozprawa doktorska lek med. Zbigniewa Sankowskiego pt „Ocena częstości występowania reakcji alergicznych natychmiastowych i późnych na pospolite alergeny u dzieci z atopowym zapalenie skóry, astmą i alergicznym nieżytem nosa”. odpowiada kryteriom, jakie powinna spełniać praca doktorska zgodnie z 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 (Dz. U. nr 65 poz. 595 z późniejszymi zmianami), dlatego z pełnym przekonaniem przedkładam wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie lek med. Zbigniewa Sankowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rabka Zdrój, 2018-07-24

Prof zw. dr hab.n.med. Ryszard Kurzawa



Kierownik Kliniki Alergologii i Pneumonologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc  
Oddziału Terenowego im Ireny i Jana Rudników w Rabce Zdroju