



Prof. dr hab. n. med. Artur Bossowski
Klinika Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii
z Pododdziałem Kardiologii UM w Białymstoku
ul. Waszyngtona 17, 15-274 Białystok

Recenzja pracy pt. „Nowe aspekty genetyczne i autoimmunologiczne limfocytarnego zapalenia tarczycy typu Hashimoto” oraz dorobku naukowego, dr n. med. Anny Popławskiej-Kity na stopień doktora habilitowanego.

1/ Dane biograficzne

Dr nauk medycznych Anna Popławska-Kita urodziła się w 1967 roku w Zawierciu. Już jako uczennica odznaczała się nieprzeciętnymi zdolnościami. Ukończyła studia wyższe na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Białymstoku w roku 1991. W 1992 roku została zatrudniona w Klinice Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, przechodząc wszystkie szczeble kariery akademickiej od asystenta do adiunkta. Jednocześnie jest zatrudniona na stanowisku starszego asystenta w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym, gdzie prowadzi Pracownię Diagnostyki Chorób Tarczycy, której od 2000 roku jest kierownikiem. Habilitantka wykonuje tam badania ultrasonograficzne tarczycy i przytarczyc, a także biopsje cienkoigłowe tarczycy pod kontrolą usg. U pacjentów z rozpoznaniem torbieli tarczycy prowadzi leczenie wielokrotnymi iniekcjami alkoholu.

W 1994 roku uzyskała I stopień specjalizacji w zakresie chorób wewnętrznych, zaś dwa lata później uzyskała stopień doktora nauk medycznych na podstawie pracy pt. „Ocena skuteczności leczenia wola prostego- próba stworzenia modelu terapeutycznego”. W 1997 roku uzyskała z wyróżnieniem II stopień specjalizacji z chorób wewnętrznych a w 2000 roku wzorowo zdała egzamin z endokrynologii.

Habilitantka ciągle pogłębia swoją wiedzę. Uczestniczy w licznych szkoleniach krajowych i zagranicznych. Za swą pracę została wielokrotnie wyróżniona nagrodą Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Dr n. med. Anna Popławska Kita uczestniczyła w wielu zjazdach naukowych a prezentowane przez nią prace zdobyły jej szerokie uznanie. Habilitantka współpracuje z wybitnymi ośrodkami krajowymi i zagranicznymi. Wszędzie daje się poznać jako dojrzały naukowiec.

Jest członkiem komitetu redakcyjnego i recenzentem prac w *Advanced Medical Science: An International Journal (AMS)*. Zna języki obce i jest dobrze przygotowana do prowadzenia samodzielnej pracy badawczej.

2/ Działalność dydaktyczno-wychowawcza.

Od chwili podjęcia pracy w Klinice Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych prowadziła wszystkie formy zajęć dydaktycznych ze studentami III i V roku Wydziału Lekarskiego, a także ze studentami Stomatologii, Dietetyki i Pielęgniarstwa, od ćwiczeń i seminariów, po wykłady dla studentów. W ramach działalności dydaktycznej prowadzi również zajęcia z zakresu endokrynologii i diabetologii w języku angielskim dla studentów Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim. Wygłasza referaty na zebraniach naukowych i klinicznych, oraz prowadzi wykłady w ramach kursów kształcenia ustawicznego dla lekarzy specjalizujących się w zakresie diabetologii i endokrynologii, internistów oraz dla lekarzy rodzinnych. Habilitantka jest obdarzona zdolnościami pedagogicznymi, a zajęcia przez nią prowadzone cieszą się popularnością wśród studentów, szkolących się lekarzy i pielęgniarek. Była kierownikiem specjalizacji II stopnia w zakresie endokrynologii a także opiekunem trzech prac licencjackich oraz trzech prac magisterskich na Wydziale Nauk o Zdrowiu, jak również recenzentem licznych prac licencjackich i magisterskich.

W ramach Czwartkowych Obiadów u Diabetyków na zaproszenie Stowarzyszenia Diabetyków angażuje się w działalność edukacyjną skierowaną dla pacjentów z cukrzycą.

3/ Dorobek naukowy

Na dorobek naukowy dr A. Popławskiej-Kita składa się łącznie 78 publikacji naukowych. W tej liczbie są 24 prace oryginalne, 2 publikacje będące wynikiem badań wieloośrodkowych, których habilitantka była współbadaczem. Piętnaście prac zostało opublikowanych w czasopiśmie z punktacją Impact Factor. Ponadto jest autorem 9 prac poglądowych, jednego opisu przypadku klinicznego i jednego listu do redakcji w czasopiśmie

posiadającym punktację IF. Łączna ocena w punktacji KBN/MNiSW wynosi 285.5 pkt, IC 121,08 pkt z IF 17,08 pkt. co spełnia kryteria na stopień dr habilitowanego wymagane przez Wydział Lekarski UM w Białymstoku. Należy podkreślić, że w 16 pracach dr Popławska jest pierwszym lub drugim autorem. Wyrazem aktywności naukowej habilitantki była prezentacja 36 doniesień na konferencjach krajowych i zagranicznych.

Od początku zainteresowania naukowe dr Popławskiej-Kita skupiały się wokół tyreologii ze szczególnym ujęciem oceny niedoboru jodu w północno-wschodniej Polsce, określeniem wartości referencyjnych objętości tarczycy u dzieci oraz skuteczności leczenia wola prostego tarczycy z zastosowaniem jodku potasu, L-tyroksyny lub terapii skojarzonej jodem i tyroksyną (opublikowane w Endokrynologii Polskiej 1996, 2001). Kolejne publikacje obejmowały analizę funkcji śródbłonka w zaburzeniach tarczycy a szczególnie w subklinicznej i jawnej nadczynności tarczycy (Int J Endocrinol, 2013, Adv Med Sci. 2013). Prace te wykazały, że w obu tych stanach zaburzenie funkcji śródbłonka naczyniowego skutkuje zmniejszeniem aktywności fibrynolitycznej, nadkrzepliwością oraz zwiększonym stężeniem interleukiny 6, 12 i 18 w surowicy krwi, co zależy od nasilenia zaburzeń hormonalnych. Zdaniem Habilitantki oznaczanie wskaźników funkcji śródbłonka u osób z subkliniką jak i jawną nadczynnością tarczycy może pomóc we wczesnym wykryciu zaburzeń czynnościowych komórek śródbłonka naczyniowego i jest przydatne w diagnostyce i prewencji schorzeń układu sercowo-naczyniowego.

Dalsze zainteresowania Habilitantki dotyczyły problematyki etiopatogenezy i przewlekłych powikłań cukrzycy. Przeprowadziła analizę związku pomiędzy glikemią na czczo (FPG) w grupach z „wysoką-normalną” FPG (≥ 88 mg/dl) i „niską -normalną” FPG (<88 mg/dl), a obecnością i mianem autoprzeciwciał, pierwszą fazą wydzielania insuliny i insulinoopornością u krewnych pierwszego stopnia pacjentów z cukrzycą typu 1. Badania te zaowocowały publikacjami krajowymi (Endokrynologia Polska 2009, Endokrynol Pol. 2009, Przegląd Kardiodiabetologiczny 2012) oraz zagraniczną (J Diabetes Complications. 2013), które wykazały w grupie pacjentów z „wysoką normalną” glikemią obecność autoprzeciwciał u 40,9% badanych osób, podczas gdy w grupie z „niską-normalną” glikemią, jedynie 21,7%. Habilitantka dowodzi, że pomijając wpływ wieku i BMI na insulinowrażliwość, krewni pacjentów z cukrzycą typu 1 o „wysokich” normalnych poziomach glikemii, nie są już w stanie kompensować postępującego wzrostu insulinooporności.

Kolejnym aspektem klinicznym było poszukiwanie wczesnych wykładników uszkodzeń kłębuszka nerkowego u pacjentów z cukrzycą w oparciu o zmiany w wydalaniu GAG z moczem, jako przydatnego markera rozwoju nefropatii cukrzycowej. Przeprowadzone badania potwierdziły, iż u chorych na cukrzycę dochodzi do zwiększenia wydalania GAG z

moczem, co dowodzi zmiany w metabolizmie glikozaminoglikanów u tych chorych (Diabetes-Metabolism Research and Reviews 2008).

Na szczególną uwagę zasługuje cykl prac dotyczących wpływu leczenia preparatem glikozaminoglikanów na albuminurię u chorych na cukrzycę opublikowany w Current Medical Research and Opinion 1997, Diabetes Research and Clinical Practice 1997, Medycyna Metaboliczna 1998, w których Habilitantka zauważa, że sulodeksyd uzupełnia niedobór glikozaminoglikanów błony podstawnej kłębuszków nerkowych i śródbłonna kłębuszków i naczyń krwionośnych. Zdaniem Habilitantki lek ten przywraca prawidłowy, ujemny ładunek elektryczny w błonie podstawnej kłębuszków nerkowych oraz zmniejsza wydzielanie czynników wzrostowych i cytokin. W swoich publikacjach wykazała ponadto, że kilkutygodniowe zastosowanie w leczeniu sulodeksydu podawanego domięśniowo lub doustnie u chorych na cukrzycę typu 1 z towarzyszącą albuminurią istotnie zmniejsza obecność białkomoczu. Kontynuując wątek powikłań naczyniowych w cukrzycy opiniowana przeprowadziła ocenę kwasu sialowego (SA) i transferyny desialowanej (CDT) w surowicy krwi chorych z cukrzycą typu 2 powikłaną mikroangiopatią w porównaniu do pacjentów bez zmian naczyniowych. W obu grupach pacjentów stwierdziła podwyższone stężenie SA i obniżone CDT, nie obserwując istotnych różnic pomiędzy grupami. Istotnym wydaje się natomiast uzyskanie statystycznie znamiennej korelacji pomiędzy stężeniem SA i CDT u pacjentów z angiopatią cukrzycową. Habilitantka na podstawie tych wyników potwierdziła tezę, że zmiany w stężeniu kwasu sialowego i transferyny są powiązane z obecnością zmian naczyniowych w cukrzycy, co zostało opublikowane w Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2003 oraz J Clin Lab Anal. 2006. Dodatkowo Habilitantka uczestniczyła w badaniach dotyczących występowania zapalenia przyzębia u pacjentów z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej dowodząc, że cukrzyca typu 1 jest niezależnym czynnikiem wystąpienia choroby przyzębia, zaś stan zaawansowania paradontozy jest zależny od stopnia kontroli metabolicznej cukrzycy. Brak wyrównania cukrzycy wraz z nieadekwatną higieną jamy ustnej i paleniem papierosów stanowią istotny czynnik ryzyka wystąpienia zaawansowanego zapalenia przyzębia u pacjentów z cukrzycą typu 1 (Advances in Medical Sciences. 2013, Polish J of Environmental Studies 2008, Progress in Health Sciences 2013). Oceniając całość dorobku naukowego habilitantki pragnę podkreślić, iż jest on interesujący i wskazuje na dojrzałość naukową opiniowanej. Bez wątplenia jest on konsekwencją wielu lat pracy w zakresie diagnostyki i leczenia różnych endokrynopatii ze szczególnym naciskiem na choroby tarczycy i cukrzycę co nadaje mu istotny wymiar przydatności klinicznej.

4/ Ocena pracy habilitacyjnej

Rozprawa habilitacyjna dr Anny Popławskiej-Kita zatytułowana „Nowe aspekty genetyczne i autoimmunologiczne limfocytarnego zapalenia tarczycy typu Hashimoto” przedstawiona mi do oceny stanowi 139 stronicową monografię napisaną w typowym układzie. Zawiera jedenaste rozdziałów głównych z licznymi podrozdziałami i wykazem skrótów.

We wstępie autorka uzasadnia cel podjętych przez siebie badań opisując w sześciu podrozdziałach kolejno zagadnienia dotyczące m/innymi: epidemiologii, obrazu klinicznego, etiopatogenezy choroby Hashimoto ze szczególnym uwzględnieniem roli czynników immunologicznych, a także regulujących ekspresję markerów proliferacji oraz apoptozy w autoimmunizacyjnych chorobach tarczycy.

Celami badań postawionymi przez habilitantkę była ocena czynników patogenetycznych w przebiegu reakcji immunologicznych u wyselekcjonowanej jednorodnej grupy pacjentów z zapaleniem tarczycy typu Hashimoto oraz korelacja tych parametrów z obrazem klinicznym i ultrasonograficznym gruczołu tarczowego. Dodatkowej analizie poddano porównanie wyników uzyskanych badań z grupą osób zdrowych z ujemnym wywiadem w kierunku chorób autoimmunologicznych tarczycy, przyjmowania preparatów wielowitaminowych i stosowania antykoncepcji hormonalnej. Badaniem objęto grupę 53 pacjentów z rozpoznaną HT w wieku $44,57 \pm 15,34$ lat oraz 28 osób zdrowych w wieku $40,82 \pm 15,64$ lat reprezentujących grupę kontrolną. Pacjenci byli podopiecznymi Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych UM w Białymstoku oraz Poradni Endokrynologicznej USK w Białymstoku.

U wszystkich pacjentów wykonano w standardowych warunkach badanie ultrasonograficzne tarczycy, używając aparatu Aloka SD1100 z głowicą liniową 7,5 MHz określając echogeniczność, unaczynienie, cechy zwłóknienia i zwapnienia oraz obecność i charakter zmian ogniskowych. Dodatkowo po uzyskaniu pisemnej zgody od pacjentów wykonywano BACC uzyskując materiał komórkowy do badania RT-PCR w kierunku ekspresji genów symportera sodowo-jodowego, czynnika martwicy nowotworów alfa oraz interleukiny-1 β . Ocena stężenia parametrów biochemicznych i immunologicznych w tym TPOAb, TRAb, IgG4, TNF- α , FasL, TRAIL, TGF- β 1, CXCL9, CXCL11 i CXCL10 w surowicy przeprowadzono metodą immunoenzymatyczną. Do analizy masy ciała zastosowano analizator składu ciała INBODY 220 umożliwiającą ocenę mięśniowej masy szkieletowej, pomiar zawartości wody, BMI, WHR, procentową zawartość tkanki tłuszczowej oraz podstawową przemianę materii (PPM).

Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o program Statistica 10.0 firmy StartSoft oraz IBM SPSS Statistics 21.0 firmy Predictive Solutions (USA) na podstawie testów nieparametrycznych, natomiast do oceny zależności pomiędzy cechami jakościowymi wykorzystano test Chi-kwadrat niezależności oraz dokładny test Fischera. Rozdział „Wyniki” jest z pewnością najbardziej wartościową częścią pracy. Habilitantka przedstawia w nim ocenę ekspresji genów dla wybranych autoantygenów tarczycy oraz prozapalnych cytokin na poziomie mRNA (transkryptów) techniką ilościowego RT-PCR z materiału pochodzącego z biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. Autorka wykazała u pacjentów z HT wzrost ekspresji genu kodującego TNF α oraz istotne zmniejszenie ekspresji genu kodującego Tg i NIS w porównaniu do grupy kontrolnej. Uzupełnia te dane istotnymi korelacjami pomiędzy ich ekspresją w tkance a objętością tarczycy w badaniu USG oraz ujemną z mianem TPOAb co zdecydowanie podkreśla cenne walory przeprowadzonych badań. Dodatkowo wyniki analizy ultrasonograficznej dowodzą, iż w grupie z HT stwierdzono częstsze występowanie obniżonej echogeniczności gruczołu tarczowego oraz cech zwłóknienia tarczycy. Autorka w swoich wynikach porównując parametry morfologiczne gruczołu tarczowego zwróciła uwagę, iż pacjenci z HT mają istotnie mniejszą objętość tarczycy, która ujemnie koreluje z dawką przyjmowanej tyroksyny, oraz dodatnią z czasem trwania choroby. Opiniowana przeprowadziła dodatkowo analizę masy ciała pacjentów z HT uzyskując w tej grupie istotnie większą masę tkanki tłuszczowej w porównaniu do kontroli. Pomiary beztłuszczowej masy ciała, masy mięśniowej a także wielkości szacunkowej podstawowej przemiany materii nie różniły się w obu grupach. Zadaniem Habilitantki nawet subkliniczny niedobór hormonów tarczycy doprowadza do zwiększenia ilości tkanki tłuszczowej, co skutkuje wzrostem leptyny w surowicy krwi, która to nasila procesy autoimmunologiczne zmniejszając ekspresję genu tyreoglobuliny oraz nasila oporność na hormony tarczycy doprowadzając do niedoczynności tarczycy. Z badań tych wynika niezwykle cenne spostrzeżenie praktyczne wskazujące, że włączenie leczenia substytucyjnego już na etapie pojawienia się przeciwciał przeciw tarczycowym, a przed ujawnieniem zaburzeń hormonalnych może zapobiec przyrostowi masy ciała u pacjentów z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy. W kolejnym etapie badań opiniowana analizowała miana przeciwciał przeciw receptorowi TSH (TRAb) uzyskując u 23% pacjentów z HT wartości powyżej 1,5 IU/l. W grupie tej częściej współistniało bielactwo, cukrzyca typ 1, celiakia, objawy niedoczynności tarczycy oraz wyższe stężenie IgG4 i TPOAb niż u pacjentów z niskim mianem TRAb. Zdaniem Habilitantki w procesach autoimmunizacyjnych tarczycy mogą współwystępować zarówno przeciwciała stymulujące TSI jak i blokujące TBI receptor

TSHR. Przewaga jednych nad drugimi daje rozwój odpowiednio nadczynności tarczycy pod postacią choroby Gravesa-Basedowa (gdy jest przewaga TSI) oraz niedoczynność tarczycy pod postacią zapalenia tarczycy typu Hashimoto, czy atroficznego zapalenia tarczycy (gdy przeważają TBI). Opiniowana zastanawia się czy wyodrębniona w badaniach grupa pacjentów z wysokim mianem TRAb powinna być klasyfikowana jako AIT, czy też jako choroba Gravesa-Basedowa przebiegająca z NT. W tej sytuacji ważną rolę odgrywają przeciwciała TPOAb, których współistnienie w wysokim mianie przemawia za rozpoznaniem choroby Hashimoto oraz wskazuje na potrzebę stosowania wyższych dawek tyroksyny.

Opiniowana analizowała także rolę chemokin i cząsteczek apoptozy w surowicy krwi pacjentów z HT nie uzyskując znamienych statystycznie różnic w porównaniu z grupą kontrolną. Uwagę jednak budzi istotne obniżenie stężenia TRAIL wraz z czasem trwania autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. Ekspresja TRAIL na powierzchni tyreocytów działa ochronnie niszcząc napływające limfocyty. Zmniejszenie zatem TRAIL w przebiegu choroby może zwiększać ilość prozapalnych cytokin aktywujących procesy włóknienia i destrukcji tyreocytów tak charakterystyczne dla choroby Hashimoto.

Całość badań prowadzonych przez opiniowaną wskazuje na niezwykle wartościowe połączenie wybranych elementów patogenezy choroby Hashimoto ze stanem klinicznym oraz obrazem ultrasonograficznym tarczycy stwarzając tym samym nowe możliwości diagnostyczne i prognostyczne choroby. Przy tym należy podkreślić, iż sposób prezentacji danych zawartych na rycinach i w tabelach cechuje godna podziwu skrupulatność dojrzałego badacza.

W sprawnie prowadzonej dyskusji autorka interpretuje uzyskane wyniki na podstawie dostępnej literatury. Obiektywnie odnosi się do obserwacji innych badaczy. Styl pisania habilitantki jest swobodny, a jednocześnie zwięzły i kompetentny. Na końcu pracy znajduje się streszczenie, co pozwala na kolejne, logiczne usystematyzowanie wyników pracy autorki. Pozwala to czytelnikowi na podążanie za myślą badawczą habilitantki bez wielokrotnego czytania rozprawy.

Po omówieniu uzyskanych wyników autorka formułuje 8 wniosków logicznie wynikających z treści pracy i będących odpowiedzią na postawione uprzednio cele. Autorka podkreśla w nich rolę czynników immunogenetycznych w patogenezie zapalenia tarczycy typu Hashimoto. Zwraca tu uwagę wniosek 4, który wskazuje że toczący się proces autoimmunologiczny (wysokie miano TPOAb) i zapalny (zwiększone stężenie TNF- α) powoduje zmniejszenie ekspresji kluczowych genów dla procesu syntezy hormonów tarczycy: Tg i NIS, co doprowadza do niedoczynności tarczycy. Dodatkowo

Habilitantka we wniosku 6 podkreśla, że obniżone stężenie TRAIL wraz z czasem trwania choroby HT powoduje zwiększenie stężenia prozapalnych cytokin doprowadzając do aktywacji procesów destrukcji tyreocytów.

Piśmiennictwo w liczbie 263 prac jest dobrane starannie, adekwatne do przedstawianego zagadnienia.

Podsumowując jako recenzent powołany przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów stwierdzam, iż dorobek naukowy, działalność dydaktyczno-wychowawcza dr n. med. Anny Popławskiej-Kita wskazuje na jej dużą samodzielność i dojrzałość naukową oraz niezwykle zdolności kliniczne. Oceniając w całości rozprawę habilitacyjną uważam, że spełnia ona wymagania stawiane tego typu pracom.

Biorąc pod uwagę oryginalność przeprowadzonych badań, opanowany nowoczesny warsztat badawczy z prawdziwą przyjemnością zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie dr med. Anny Popławskiej-Kita do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

KIEROWNIK
Kliniki Pediatrii, Endokrynologii,
Diabetologii z Pododdziałem Geriatrii

prof. dr. hab. n. med. Artur Bossowski