

dr hab. n. med. Anna Popławska-Kita  
Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Białystok, dnia 05 stycznia 2019

**Ocena całokształtu dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej  
dr n. med. Przemysława Pawłowskiego  
pt. "Ocena ekspresji cząsteczek adhezyjnych,  
kostymulatorowych oraz komórek immunokompetentnych jako markerów  
miejscowych i obwodowych przebiegu orbitopatii Gravesa"  
wykonana na wniosek Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów.**

Niniejsza ocena całokształtu dorobku naukowego i rozprawy habilitacyjnej dr n. med. Przemysława Pawłowskiego jest związana z Jego staraniami o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych.

Rozprawę otrzymałam w formie 5 spójnych tematycznie prac twórczych oryginalnych (IF = 12,203, MNISZW = 123 pkt), które są wynikiem badań nad biomarkerami obwodowymi oraz markerami miejscowymi przebiegu orbitopatii Gravesa. Ponadto otrzymałam dokumenty dotyczące Habilitanta, w tym autoreferat, wykaz opublikowanych osiągnięć naukowych, analizę bibliometryczną publikacji naukowych oraz kopie wybranych publikacji opublikowanych przez Habilitanta. Wszystkie dokumenty zostały przygotowane wyjątkowo starannie i elegancko.

### **Dane biograficzne**

Przemysław Pawłowski urodził się 16.08.1976 r. w Białymstoku. Dyplom lekarza uzyskał na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Białymstoku w 2001r. Po odbyciu stażu lekarskiego, w roku 2002 rozpoczął pracę jako asystent w Klinice Okulistyki Dziecięcej z Ośrodkiem Leczenia Zeza UDSK. Od roku 2005 organizował i prowadził pierwszą na Podlasiu Pracownię Elektrofizjologii Narządu Wzroku. W 2006r. oraz w latach 2008-2012 pracował na stanowisku asystenta w Klinice Okulistyki Dziecięcej z Ośrodkiem Leczenia Zeza UMB. W 2007r. Habilitant był stypendystą Tistou i Charlotte Kerstan Vision 2000 w Centrum Okulistyki, Instytutu Badań Naukowych w Okulistyce - Tybinga (Tübingen), Niemcy. Prowadził pracę naukową w zakresie elektrofizjologii wzroku pracując w Poradni Dziedzicznych Zwyródnień Siatkówki. Habilitant jest aktywnym lekarzem, od 2008r posiada specjalizację w dziedzinie okulistyki. W latach 2013 – 2017 rozwijał chirurgię szklistkowo siatkówkową w Oddziale Chorób Oczu, Wojewódzkiego Szpitala Zespołonego im. J. Śniadeckiego w Białymstoku. W tym samym czasie nie zrezygnował z pracy naukowej i jako asystent w Zakładzie Patomorfologii Lekarskiej, Katedra Biostruktury, UMB, prowadził prace

badawcze nad tkanką włóknisto-tłuszczową oczodołu. Od 1.10.2017 dr n. med. Przemysław Pawłowski kieruje Oddziałem Okulistycznym Szpitala Wojewódzkiego im. L. Rydygiera w Suwałkach.

W roku 2002 lek. Przemysław Pawłowski doktoryzował się w zakresie nauk medycznych na podstawie rozprawy pt. "Ekspresja cząsteczek adhezyjnych na komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej w przebiegu cukrzycy typu 1 u dzieci i młodzieży". Promotorem pracy doktorskiej była prof. dr hab. Mirosława Urban.

Habilitant aktywnie poszerzał swoją wiedzę z okulistyki uczestnicząc w licznych szkoleniach krajowych i zagranicznych (kursy certyfikowane w zakresie nowoczesnych metod wykorzystywanych w chirurgii witreoretinalnej, oraz 10-krotne szkolenia z zakresu fakowitrektomii w Klinice Okulistyki Ogólnej, Katedry Okulistyki w Lublinie pod kierunkiem prof. R. Rejdaka). W 2007r. w Moguncji Habilitant odbył Międzynarodowy kurs Europejskiej Grupy Orbitopatii Graves'a, a w 2009r w Padwie Kurs ISCEV kurs Międzynarodowego Towarzystwa Klinicznej Elektrofizjologii Narządu Wzroku. W 2014r w Indiach ukończył kurs fakoemulsyfikacji zaćmy, następnie w Szwajcarii kurs ESASO (European School for Advanced Studies in Ophthalmology). W 2017r. w Lugano, ukończył kurs Europejskiej Szkoły Zaawansowanych Studiów w Okulistyce - Chirurgia siatkówki (witrektomia + wetlaby).

Habilitant posiada międzynarodowe certyfikaty potwierdzające znajomość języka niemieckiego i angielskiego na poziomie biegły w piśmie i w mowie. Był kierownikiem 8 statutowych prac badawczych, oraz współwykonawcom w siedmiu statutowych pracach badawczych. Należy podkreślić, iż wszystkie prace badawcze wymagały interdyscyplinarnego podejścia do tematu, wyniki badań prezentowane na 23 zjazdach krajowych i międzynarodowych, trzykrotnie były nagradzane na międzynarodowych konferencjach naukowych i były zakończone dobrze opublikowanymi pracami.

### **Działalność dydaktyczno-wychowawcza**

Dr n. med. Przemysław Pawłowski w latach 2006, oraz 2008-2013 aktywnie uczestniczył w kształceniu młodzieży – prowadził zajęcia dydaktyczne ze studentami medycyny z zakresie okulistyki. W latach 2014-2017 prowadził zajęcia dydaktyczne w zakresie patomorfologii narządu wzroku w Zakładzie Patomorfologii Lekarskiej, UMwB, Wydział Lekarski i Oddział Nauczania w Języku Angielskim.

## Ocena dorobku naukowego

Wyniki badań naukowych zostały opublikowane w wysokoimpaktowych czasopismach naukowych krajowych i zagranicznych. Habilitant jest autorem lub współautorem 28 publikacji naukowych, w tym 21 oryginalnych prac twórczych, jednej pracy w suplemencie czasopisma (5 stanowi rozprawę habilitacyjną), 2 prac poglądowych, 4 opisów przypadków, 1 listu do edytora oraz 23 doniesień zjazdowych (13 ze zjazdów międzynarodowych, oraz 10 ze zjazdów krajowych). Należy podkreślić, że łącznie w 17 pracach jest pierwszym lub drugim autorem. Całkowity Impact factor publikacji: 24,891 (liczba punktów MNiSW 294), Łączna punktacja wliczając list do redakcji 25,732 KBN/MNiSW 309. Index Hirscha wg Web of Science Core Collection wynosi 5, All Databases 7.

Na początku pracy naukowej Habilitant badał zależność pomiędzy ekspresją cząstek adhezyjnych na limfocytach T krwi obwodowej a rozwojem powikłań naczyniowych u pacjentów z cukrzycą typu 1. Badania miały na celu odpowiedź na pytanie czy L-selektyna, LFA-1, ICAM-1 mogą być wczesnymi markerami powikłań naczyniowych takich jak nadciśnienie tętnicze i mikroangiopatia. Następnym etapem pracy naukowej dotyczącym patogenezы i obrazu klinicznego subklinicznej retinopatii cukrzycowej była ocena skuteczności badań elektrofizjologicznych we wczesnej diagnostyce dysfunkcji czopków niebieskoczułych w korelacji z czynnikami zapalnymi i VEGF.

Łącząc pracę kliniczną z pracą naukową dr n. med. Przemysław Pawłowski opisał dno białopłamkowe (fundus albipunctatus) rzadką, w większości stacjonarną dziedziczną formę ślepoty nocnej z zaburzeniem systemu pręcikowego, charakteryzującą się obecnością małych biało-żółtych plamek na dnie oczu. Praca była krótkim przeglądem literatury na temat dna białopłamkowego oraz pierwszym molekularnym dowodem na mutację w obrębie genu RDH5 u polskiego pacjenta z tym rzadkim schorzeniem. Było to pierwsze doniesienie na temat mutacji genu RDH5, które dotyczy zmiany wariantu tyrozyny. W pracy przedstawiono nowy zmodyfikowany protokół skotopowego ERG wykazując, że wystarczy tylko 120 minut rozszerzonej adaptacji do ciemności, do powrotu do normalnej funkcji odpowiedzi nocnej ERG. Praca pt., „Elektrofizjologiczna ocena dna białopłamkowego” była odznaczona na kongresie EVER (Europejskie Towarzystwo Widzenia i Badań Narządu Wzroku). Hersonissos, Grecja 2011.

Główny nurt badań naukowych Habilitanta dotyczył jednak autoimmunizacyjnych chorób tarczycy. Początkowo dr n. med. Przemysław Pawłowski rozpoczął badania nad neuropatią nerwu wzrokowego w przebiegu orbitopatii Graves'a (Graves' orbitopathy – GO).

Neuropatia związana z GO występuje dość rzadko ale stanowi bardzo poważny problem terapeutyczny powodując wysokie ryzyko trwałej utraty wzroku. Celem prac była identyfikacja wczesnych objawów neuropatii nerwu wzrokowego u pacjentów z GO bez objawów klinicznych, perymetrycznych neuropatii nerwu wzrokowego przy zastosowaniu wzrokowych potencjałów wywołanych wzorcem (PVEP) oraz następnie za pomocą elektretinogramu generowanego wzorcem (PERG). Badania potwierdziły tezę że ocena amplitudy fali PERG P50 oraz N95-P50 u pacjentów z GO może stanowić czuły test skryningowy neuropatii nerwu wzrokowego. Wykorzystując hodowle komórkowe oraz metodę cytometrii przepływowej Habilitant opisał zwiększenie ekspresji HLA-DR na komórkach pęcherzykowych tarczycy w przebiegu choroby Graves-Basedowa (ChGB). W następnych pracach analizował stężenia metyloproteinaz (MMP-2, MMP-9) i VCAM-1 jako wskaźników aktywnej orbitopatii tarczycowej. Konsekwentnie badając pacjentów z ChGB oceniono polimorfizm genu kodującego fosfatazę tyrozynową (PTPN22) w korelacji z podatnością na występowanie choroby stwierdzając, że nie wpłynął on znamienne na ryzyko rozwoju oftalmopatii oraz manifestacji choroby przed 40 rokiem życia. Obecność różnych wariantów badanych polimorfizmów genów była oceniana przy użyciu metody sekwencji DNA Sangera u pacjentów z ChGB oraz w grupie kontrolnej. Następne badania wskazały, że stężenie VCAM-1 w surowicy może służyć jako wskaźnik predykcyjny skuteczności kortykoterapii, zaś oznaczanie stężenia rozpuszczalnej MMP-9 może być przydatne w monitorowaniu leczenia GO.

Podsumowując dorobek naukowy dr n. med. Przemysława Pawłowskiego należy stwierdzić, że jest on znaczący i konsekwentnie ukierunkowany na tematy związane głównie z orbitopatią tarczycową.

### **Ocena szczególnego osiągnięcia naukowego**

Zwieńczeniem wieloletnich zainteresowań naukowych Habilitanta jest praca habilitacyjna pt. "Ocena ekspresji cząsteczek adhezyjnych, kostymulatorowych oraz komórek immunokompetentnych jako markerów miejscowych i obwodowych przebiegu orbitopatii Gravesa" składająca się ze spójnych tematycznie 5-ciu prac naukowych o łącznym IF=12,203 i łącznej punktacji MNiSW=123 pkt.

W leczeniu chorych na ChGB najtrudniejszym problemem klinicznym nie jest tyreotoksykoza, lecz objawy pozataarczycowe, a zwłaszcza orbitopatia. GO demonstruje się klinicznie u 25% chorych z ChGB. Większość przypadków stanowią zmiany łagodne, niewymagające specjalistycznego leczenia. Decyzja o leczeniu uwzględnia ocenę aktywności

i ciężkości zmian oraz ich wpływ na jakość życia. Leczenie miejscowe i kontrola czynników ryzyka (palenie papierosów, zaburzenia czynności tarczycy) dotyczą wszystkich chorych. Ciężka GO stanowi jeden z najtrudniejszych problemów w leczeniu pacjentów z ChGB. Pomimo znacznego postępu w zrozumieniu patogenez, GO pozostaje interdyscyplinarnym terapeutycznym dylematem.

W związku z powyższym, w ocenianych pracach, Habilitant poszukiwał czynników obwodowych i miejscowych aktywności GO jako wczesnych biomarkerów toczącego się procesu autoimmunizacyjnego oraz markerów przewlekłego zapalenia i przebudowy tkanki włóknisto-tłuszczowej oczodołu.

1. W pierwszej z cyklu prac badawczych oceniano czy odsetek limfocytów T krwi obwodowej CD4+/CD8+ z ekspresją CD62L+(L-selektyny) oraz CD54+(ICAM-1) u pacjentów z GO może być markerem aktywnej fazy orbitopatii. Badania obejmowały trójkolorową cytometrię przepływową, ocenę kliniczną chorych za pomocą skali aktywności choroby (Clinical Activity Score-CAS) oraz skali ciężkości stanu chorobowego NOSPECS. Wyniki pracy wykazały, iż odsetek limfocytów krwi obwodowej CD8+CD54+, CD8+CD62L+ oraz CD4+CD54+, CD4+CD62L+ był znamienne podwyższony w GO względem grupy kontrolnej. We wniosku stwierdzono, iż podwyższony odsetek komórek T CD8+ CD54+ oraz CD8+CD62L+ może służyć jako marker aktywności procesu zapalnego w GO.
2. W kolejnej z cyklu publikacji poszukiwano markerów miejscowych aktywności procesu zapalnego w GO na podstawie oceny odsetka komórek nabłonka spojówki z ekspresją HLA-DR oraz ICAM-1. W badaniach wykorzystano metodę cytologii impresyjnej do pobrania próbek komórek nabłonka spojówki, a następnie oceniono odsetek komórek nabłonka spojówki (CEC) z ekspresją HLA-DR oraz ICAM-1 metodą cytometrii przepływowej. Wykazano, iż odsetek komórek nabłonka spojówki HLA-DR+ był znamienne podwyższony u pacjentów z aktywną GO w porównaniu z ChGB bez aktywnej GO i kontrolą. Dodatkowo odsetek komórek nabłonka spojówki z ekspresją ICAM-1+ był znamienne podwyższony w grupie z aktywną GO względem grupy kontrolnej. Autorzy pracy podkreślili, iż podwyższony odsetek komórek nabłonka spojówki z ekspresją HLA-DR+ oraz ICAM-1+ może służyć jako miejscowy marker aktywności GO.
3. Rozszerzeniem tematyki dotyczącej znaczenia biomarkerów miejscowych w GO była ocena ekspresji molekuł związanych z nacieczeniem, zapaleniem i remodelingiem tkanki w ciężkiej GO, którą przeprowadzono we współpracy z Prof. A. Ekstein z

Oddziału Okulistycznego Uniwersytetu Duisburg-Essen w Niemczech. W pracy pt. „Markers of Inflammation and Fibrosis in the Orbital Fat/Connective Tissue of Patients with Graves' Orbitopathy: Clinical Implications” oceniano ekspresję FGF- $\beta$ , TGF- $\beta$ , COX2, oraz komórek immunokompetentnych (CD4+, CD8+, CD20+, oraz CD68+) w tkance tłuszczowej oczodołu u pacjentów z ciężką i łagodną GO. W ciężkiej GO stwierdzono dominujące nacieczenia z komórek limfocytów CD4+, natomiast komórki CD68+ były obserwowane zarówno w tkance włóknisto-łącznej w łagodnej jak i znamienne wyrażone w ciężkiej GO. W konkluzji stwierdzono, że zarówno makrofagi, jak i limfocyty CD4+ są zaangażowane w łagodnej jak i aktywnej/ciężkiej GO. Ponadto FGF- $\beta$  oraz TGF- $\beta$  mogą przyczynić się do remodelingu tkanki, włóknienia oraz rozwoju zapalenia tkanki szczególnie w ciężkiej GO.

4. Kontynuując tematykę markerów przebudowy tkanki oczodołu oraz immunoregulacji procesu autoimmunizacyjnego w GO w pracy pt. „Disturbances of Modulating Molecules (FOXP3, CTLA-4/CD28/B7, and CD40/CD40L) mRNA Expressions in the Orbital Tissue from Patients with Severe Graves' Ophthalmopathy” oceniono związek pomiędzy ekspresją mRNA cząsteczek kostymulujących FOXP3, CTLA-4/CD28/CD80/CD86 oraz ligandów CD40/CD40L w tkance tłuszczowej oczodołu w ciężkiej GO. Ocenę ekspresji mRNA FOXP3, CTLA-4/CD28/CD80/CD86 oraz ligandów CD40/CD40L dokonano za pomocą RT-PCR. Wyniki badań potwierdziły znaczenie dysfunkcji FOXP3 w tkance oczodołowej w patogenezie ciężkiej GO. Natomiast obniżona ekspresja mRNA CTLA-4 w ciężkiej GO może wskazywać na zaburzoną funkcję regulatorową limfocytów T (Treg).
5. W ostatniej z cyklu publikacji, badano ekspresję markerów Treg (CD4+, CD25+, CD127-, FOXP-3+), a następnie oceniano zdolność odpowiedzi poszczególnych subpopulacji Treg w hodowli z IGF-1. W grupie z ChGB bez GO stwierdzono obniżony odsetek komórek CD4+FOXP3+ w porównaniu z wolem guzkowym. Stymulacja komórek PBMC pochodzących od pacjentów z GO za pomocą ludzkiego rekombinowanego IGF-1 wykazała znaczący wzrost ekspresji zarówno komórek CD4+FOXP3+ jak też komórek CD4+CD25+CD127-FOXP3+. Badania potwierdziły, że obniżony odsetek CD4+CD25+CD127-FOXP3+ u pacjentów z GO w ChGB może być przydatnym markerem aktywności procesu autoimmunizacyjnego. Niewątpliwym atutem tej pracy jest wykazanie zwiększenia ekspresji Treg w efekcie stymulacji IGF-1, co może stanowić przyczynek do dalszej terapii GO.

Po szczegółowym omówieniu uzyskanych wyników i dyskusji z uwzględnieniem aktualnego, prawidłowo cytowanego piśmiennictwa, zawartych w poszczególnych pracach Habilitant sformułował 5 następujących wniosków:

1. Podwyższony odsetek komórek T CD8+CD62L+ oraz CD8+CD62L+ może służyć jako obwodowy marker aktywności procesu zapalnego w GO.
2. Ekspresja komórek nabłonka spojówki z ekspresją HLA-DR+ oraz ICAM-1 może służyć jako miejscowy marker aktywności GO, materiał do badania może zostać stosunkowo łatwo pobrany za pomocą cytologii impresyjnej.
3. Powyższe markery obwodowe i miejscowe mogą zostać wykorzystane do rozpoznania aktywnej GO i wczesnego włączenia terapii immunosupresyjnej, której wyniki leczenia GO zależą od czasu jej wdrożenia.
4. Obniżony odsetek CD4+CD25+CD127- FOXP3+ u pacjentów z ChGB oraz GO może być przydatnym markerem procesu autoimmunologicznego oraz być może stanowić prawdopodobny cel przyszłej terapii GO. Nasze wyniki jako pierwsze do tej pory wykazują możliwe modulowanie czynności limfocytów Treg w GO poprzez stymulację IGF-1 w konsekwencji mogą być zastosowane w ewentualnej immunoterapii.
5. Dodatnia korelację pomiędzy ekspresją mRNA cząsteczki FOXP3 oraz naciekiem komórek CD3 oraz obniżona ekspresja mRNA cząsteczki CTLA-4 w tkance oczodołu może świadczyć o udziale tych cząsteczek kostymulatorowych wraz z FGF- $\beta$  oraz TGF- $\beta$  w przebiegu ciężkiej GO co mogłoby być w przyszłości wykorzystywane w terapii i zapobieganiu remodelingu oraz włóknieniu tkanki oczodołu.

Założenia, metodykę i zakres pracy habilitacyjnej oceniam bardzo wysoko. Są to nowatorskie, dobrze udokumentowane i opublikowane badania dotyczące patogenezy GO w ChGB zawierające zarówno aspekt poznawczy jak i praktyczny.

Pracę habilitacyjną dr n. med. Przemysława Pawłowskiego uważam za cenny wkład w naszą wiedzę na temat patofizjologii orbitopatii Graves'a, wykonaną i napisaną z dużą dbałością o jakość. Analizując cały dorobek naukowy, dydaktyczno-organizacyjny, przebieg pracy zawodowej oraz rozprawę habilitacyjną stwierdzam, że przedstawia ona bardzo wartościową klinicznie i dojrzałą naukowo osobowość.

Dorobek naukowy dr n. med. Przemysława Pawłowskiego, jak również prace wskazane jako osiągnięcie naukowe przedstawione w ramach rozprawy habilitacyjnej,

spełniają warunki przewidziane Ustawą i uzasadniają wniosek o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych.

Na podstawie bardzo pozytywnej oceny całości dorobku naukowego, działalności dydaktyczno-organizacyjnej, zwracam się do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z wnioskiem o dopuszczenie dr. n. med. Przemysława Pawłowskiego do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

*Anna Popiarska-Kula*