Katowice 16.10.2023r.

**Prof. dr hab.n. med. Dorota Wyględowska-Promieńska**
**Profesor badawczo- dydaktyczny**
**Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki**
**Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach**

**Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych Lekarz Małgorzaty Danuty Wojtkowskiej pt: „Ocena stężenia wybranych cytokin prozapalnych w płynie łzowym u pacjentów z chorobą Gravesa".**

Nadczynność tarczycy to schorzenie, w którym dochodzi do nadmiernej produkcji hormonów tarczycy przekraczającej aktualne zapotrzebowanie tkankowe.

Choroba dotyczy blisko 2% populacji dorosłych u dzieci występuje z częstością 10-15 razy mniejszą, a u noworodków notuje się ją raz na 50 000 urodzeń.

Główną przyczyną nadczynności tarczycy u dzieci jest autoimmunlogiczna choroba Gravesa i Basedowa. Jest to choroba spowodowana obecnością przeciwciał stymulujących receptor dla TSH (anty-TSH-R), co powoduje nadmierną syntezę i wydzielanie hormonów tarczycy. Chorobie Gravesa i Basedowa często towarzyszą objawy oftalmopatii o podłożu autoimmunologicznym, określane także mianem orbitopatii Gravesa (albo orbitopatii tarczycowej).

Pacjenci z orbitopatią tarczycową wykazują objawy dyskomfortu ocznego podobne do objawów w zespole suchego oka. Wysychanie powierzchni rogówki w orbitiopatii tarczycowej spowodowane jest retrakcją powieki górnej, niedomykalnością szpary powiekowej oraz ograniczeniem ruchomości oka ku górze. Jeden z pierwszych objawów to uczucie pieczenia oraz szczypania oczu może być spowodowany zwiększonym parowaniem, nieprawidłowym rozprowadzeniem łez przez powieki oraz zmianą składu łez. Częstość występowania zespołu suchego oka w orbitopatii tarczycowej jest wysoka a umiarkowane lub ciężkie objawy występują u około 60 % chorych.

W przebiegu autoimmunologicznych chorób tarczycy w tkance pozagałkowej dochodzi do akumulacji pobudzonych komórek jednojądrzastych uwolnienia cytokin prozapalnych oraz wtórnego uwolnienia hydrofilowych glikozaminoglikanów. Skutkuje to wzrostem zawartości wody, obrzękiem tkanek pozagałkowych i wzrostem ciśnienia w oczodole. Dochodzi do rozplemu tkanki tłuszczowej.

Zmiany te mogą być przyczyną wytrzeszczu i upośledzenia ruchów gałek ocznych, obrzęku i zaczerwienienia powiek.

Główną rolę w patogenezie orbitopatii odgrywają cytokiny wytwarzane lokalnie przez autoreaktywne limfocyty Th1/Th2 i fibroblasty. Regulują odpowiedź immunologiczną przez zwiększenie ekspresji MCH klasy II, cząsteczek adhezyjnych, CD 40, prostaglandyny i białka szoku termicznego. odgrywają zasadniczą rolę w lokalizacji i wspomaganiu odpowiedzi zapalnej . Ważną rolę w procesach reakcji immunologicznych odgrywają fibroblasty oczodołowe, które są łącznikiem patologii tarczycy i oczodołu.

Za cel pracy Autorka przyjęła wykazanie czy objawy ze strony powierzchni oka są związane ze stanem zapalnym poprzez oznaczenie poziomu cytokin prozapalnych (IL-6, IL-17 i TNF-α) w płynie łzowym i surowicy krwi oraz wykonanie testów w kierunku zespołu suchego oka.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska posiada ogólnie przyjęty układ dla tego typu dysertacji, liczy 129 stron, w tym streszczenie w języku polskim i angielskim, 7 tabel, 37 rycin, spis dobrze dobranych pozycji zagranicznych i polskich piśmiennictwa w liczbie 214, dokument zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, uchwała nr APK.002.255.2020.

Układ pracy jest logiczny i przejrzysty. Kolejne rozdziały pracy tworzą ciekawe połączenie ogólnej wiedzy medycznej z wiedzą okulistyczną. Praca w sposób zwięzły prowadzi czytelnika przez zagadnienia dotyczące chorób autoimmunologicznych i ich ścisłych powiązań z chorobami okulistycznymi w których istnieje duże prawdopodobieństwo etiologii autoimmunologicznej. Do realizacji tego celu autorka przeprowadziła bardzo wiele badań diagnostycznych krwi jak oraz diagnostycznych badań okulistycznych.

Do badania Autorka włączyła 40 pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa w wieku od 7 do 17 lat. W celach kwalifikacyjnych u wszystkich pacjentów wykonano badanie obejmujące ocenę odcinka przedniego, dna oka oraz testy w kierunku zespołu suchego oka. Na podstawie kwestionariusza OSDI grupę badaną podzielono na dwie podgrupy: z zespołem suchego oka i bez zespołu suchego oka . U wszystkich oznaczano poziom hormonów takich TSH, FT4, FT3, poziom przeciwciał przeciwtarczycowych: anty-TSHR, anty-TPO i anty-ATG oraz cytokiny IL-6, TNF-α oraz IL-17. Grupę kontrolną stanowiło 30 dzieci w wieku 7-17 lat, u których nie stwierdzono chorób ogólnych.

Analizę statystyczną dokonano przy użyciu wielu testów oraz wykresów .Analizę uzyskanych wyników opracowano z ogólnie przyjętymi regułami, a zasadność wykorzystanych testów nie budzi wątpliwości.

W przeprowadzonych przez Doktorantkę badaniach w grupie pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa uzyskano niższe stężenia TSH i wyższe poziomy przeciwciał przeciwtarczycowych (fT3, fT4, anty-TPO, anty- TG, anty-TSH) niż w grupie kontrolnej. Stwierdzono wyższe poziomy IL-6 w surowicy krwi w grupie badanej niż w grupie porównawczej, natomiast nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy stężeniami TNF-α i IL-17 a grupą kontrolną. W płynie łzowym otrzymano wyższe stężenia wszystkich badanych cytokin w grupie pacjentów z chorobą tarczycy i zespołem suchego oka niż w grupie kontrolnej. Na podstawie uzyskanych badań można sądzić, że IL-6 pełni kluczową rolę w indukcji procesów zapalnych i indukcji procesu immunologicznego w chorobie Gravesa-Basedowa. Przeprowadzone testy korelacji ujawniły dodatnią zależność między działaniem IL-6 a produkcją przeciwciał przeciwtarczycowych (anty-TSH). Istotne statystycznie korelacje zachodzące pomiędzy stężeniem badanych cytokin w łzach a poziomami przeciwciał przeciwtarczycowych świadczą o powiązaniu zmian zachodzących na powierzchni oka z procesami autoimmunologicznymi zachodzącymi w krwi obwodowej. Cytokiny prozapalne, takie jak IL 6, TNF-α i IL 17 według uzyskanych wyników badań Autorki mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju zespołu suchego oka w przebiegu choroby Gravesa- Basedowa.

Na podstawie przeprowadzonych i wnikliwie przeanalizowanych badań Doktorantka wyciągnęła trafne wnioski, które realizują założenia i zaplanowane etapy badań.

1. Zmiany stężenia IL-6 we krwi obwodowej u pacjentów chorobą Gravesa-Basedowa wskazują, iż pełni ona kluczową rolę w indukcji procesów zapalnych i przebiegu procesu immunologicznego w autoimmunologicznej chorobie tarczycy

2. Istotne statystycznie dodatnie korelacje zachodzące pomiędzy stężeniem IL-6 a poziomem przeciwciał przeciwtarczycowych (anty-TSH) świadczą o związku działania tej cytokiny z produkcją przeciwciał przeciwtarczycowych

3. Istotne statystycznie korelacje zachodzące pomiędzy stężeniem badanych cytokin w łzach a poziomami przeciwciał przeciwtarczycowych świadczą o powiązaniu zmian zachodzących na powierzchni oka z procesami autoimmunologicznymi zachodzącymi w krwi obwodowej

4. Cytokiny prozapalne, takie jak IL 6, TNF-α i IL 17 mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju zespołu suchego oka w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa.

Jedyne uwagi ,które mi się nasunęły z obowiązku recenzenta dotyczą kilku błędów drukarskich, literowych, nieprawidłowo przedstawionej w stosunku do opisu ryciny nr 3, brak opisu skrótu TPO. Nie umniejsza to w żaden sposób wartości merytorycznej pracy.

Całość recenzowanej pracy oceniam dobrze, a jej skonstruowanie świadczy, że Doktorantka dysponuje doświadczeniem analitycznym oraz potrafi samodzielnie rozwiązywać problemy naukowe.

Rozprawa doktorska pt.: „Ocena stężenia wybranych cytokin Prozapalnych w płynie łzowym u pacjentów z chorobą Gravesa" w mojej ocenie stanowi samodzielny i oryginalny dorobek naukowy.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki(Dz.U. nr 65, poz 595 z poźn. zmianami) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce(Dz. U z 2018r. poz.1669 z poźn. zm).

Biorąc pod uwagę powyższe, zwracam się do Komisji Doktorskiej z wnioskiem o dopuszczenie lekarz Małgorzaty Danuty Wojtkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie zwracam się z wnioskiem do Senatu Uniwersytetu w Białystoku o nadanie Pani lek. Małgorzacie Danucie Wojtkowskiej stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne oraz o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Prof. dr hab. n. med. Dorota Wyględowska-Promieńska