Dr hab. n. med. Ewa Langwińska
Katedra i Klinika Okulistyki Wydziału Lekarskiego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa, 24.07.2023

Recenzja

Rozprawy doktorskiej w dziedzinie nauk medycznych:
nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

MAŁGORZATY DANUTY WOJTKOWSKIEJ

OCENA STĘŻENIA WYBRANYCH CYTOKIN PROZAPALNYCH W PŁYNIE ŁZOWYM U PACJENTÓW Z CHOROBĄ GRAVESA

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Małgorzata Mrugacz

Samodzielna Pracownia Rehabilitacji Narządu Wzroku
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Nadczynność tarczycy to autoimmunologiczne schorzenie, w którym dochodzi do nadmiernej produkcji hormonów tarczycy, przekraczającej aktualne zapotrzebowanie tkankowe.
Wyróżniamy jawną i utajoną nadczynność tarczycy. Jawna nadczynność jest zespołem objawów klinicznych wywołanych przez hormony tarczycy i łączy się z podwyższonym stężeniem wolnych hormonów tarczycy w surowicy krwi.
Utajona zwana także subkliniczną nadczynność tarczycy nie daje żadnych objawów klinicznych bądź objawy te są dyskretne. W tych przypadkach stężenia wolnych hormonów tarczycy są prawidłowe a stężenie hormonu tyreotropowego -TSH jest obniżone.

Panadto można wyodrębnić:

a) pierwotną nadczynność tarczycy, dla której charakterystyczne jest obniżone stężeniem TSH w surowicy krwi wtórnie do podwyższonego stężenia wolnych hormonów tarczycy

b) wtórną nadczynność tarczycy przebiegającą z podwyższonym stężeniem TSH w surowicy krwi, kiedy to czynniki wywołujące tę nadmierną aktywność tarczycy nie są bezpośrednio związane z tym gruczołem.

Nadczynność tarczycy dotyczy blisko 2% populacji dorosłych. Jest zdecydowanie częstsza u kobiet niż u mężczyzn (1,6% u kobiet, 0,14% u mężczyzn).

U dzieci natomiast występuje z częstością 10-15 razy mniejszą niż u dorosłych a u noworodków notuje się ją raz na 50 000 urodzeń.

U niemowląt i małych dzieci zdarza się sporadycznie. Natomiast w okresie dojrzewania ryzyko wystąpienia nadczynności tarczycy istotnie się zwiększa, zwłaszcza u dziewczynek. Zapadalność na nadczynność tarczycy w przebiegu choroby Gravesa i Basedowa w wieku 10-14 lat szacuje się u chłopców na 0,5/100 000, a u dziewczynek na 3/100 000.

W krajach o wysokiej ekspozycji na jod, w tym w Polsce najczęstszą przyczyną nadczynności tarczycy jest choroba Gravesa i Basedowa. Odpowiada ona za około ok. 70 % przypadków nadczynności tarczycy.

Ważną rolę w rozwoju schorzeń autoimmunologicznych takich jak choroba Gravesa i Basedowa czy zapalenie tarczycy typu Hashimoto odgrywają czynniki genetyczne. Poza czynnikami genetycznymi istotny wpływ mają też niekorzystne czynniki zewnętrzne, takie jak stres, nadmierna podaż jodu, palenie papierosów czy infekcje.

Obraz kliniczny choroby Gravesa i Basedowa przebiega z typowymi objawami, które umożliwiają wczesne rozpoznanie. Dolegliwości dotyczą różnych narządów. Na pierwszy plan wysuwają się objawy związane ze wzrostem przemiany materii, zmniejszeniem tolerancji ciepła, nadmierną potliwością. Ze strony układu nerwowego obserwuje się drażliwość, chwiejność emocjonalną, niepokój, często także bezsenność i trudności w skupieniu uwagi. Dochodzi do osłabienia siły mięśniowej i nadmiernej męczliwości. Ze strony układu krążenia pojawiają się kołatania serca, zaburzenia rytmu, niekiedy obserwuje się niewydolność krążenia. U chorych wśród wielu objawów występują również zmiany oczne, głównie w postaci obrzękowo-naciekowej oftalmopatii zwanej także orbitopatią. Występuje ona u 25-50 % pacjentów z chorobą Gravesa i Basedowa, dotycząc głównie osób po 50. roku życia. Ciężką postać zwaną wytrzeszczem naciekowo-obrzękowym obserwuje się u około 5% chorych. Może

ona prowadzić do trwałego uszkodzenia narządu wzroku. Kobiety chorują pięciokrotnie częściej, natomiast przebieg i rokowanie są gorsze u mężczyzn.
U pacjentów w młodszym wieku częściej obserwuje się pełnoobjawowy obraz choroby, natomiast u osób starszych objawy mogą być słabiej wyrażone i występują głównie w postaci objawów ze strony układu sercowo-naczyniowego.
U dzieci natomiast objawy mogą być nietypowe i nierzadko dopiero badania laboratoryjne naprowadzają na rozpoznanie.
Objawami najczęściej występującymi u dzieci są: wole, tachykardia, chudnięcie przy dobrym lub wzmożonym apetycie, zaburzenia snu, problemy psychologiczne, pogorszenie osiągnięć szkolnych, wtórne moczenie nocne. U połowy dzieci występuje łagodny wytrzesz i oczne objawy nadczynności.
Diagnostyka choroby Gravesa i Basedowa obejmuje liczne badania laboratoryjne oraz obrazowe w tym głównie badania ultrasonograficzne, scyntygraficzne.
Pacjenci z objawami orbitopatii tarczycowej wykazują objawy dyskomfortu ocznego podobne do objawów w zespole suchego oka. Wysychanie powierzchni rogówki spowodowane jest retrakcją powieki górnej, niedomykalnością szpary powiekowej oraz ograniczeniem ruchomości oka ku górze. Jedne z pierwszych objawów subiektywnych to uczucie pieczenia oraz szczypania oczu, które mogą być spowodowane zwiększonym parowaniem, nieprawidłowym rozprowadzeniem łez przez powieki oraz zmianą składu łez. Częstość występowania zespołu suchego oka w omawianej orbitopatii jest znaczna, gdyż umiarkowane lub ciężkie objawy występują u około 60 % chorych.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Małgorzaty Danuty Wojtkowskiej dotyczy właśnie zaburzeń powierzchni oka i filmu łzowego oraz oceny stężenia wybranych mediatorów prozapalnych i ich wpływu na stan powierzchni oka.
Monografia ma typowy układ edytorski, liczy łącznie 129 stron, uzupełnia ją 7 tabel i 37 rycin.

Praca poprzedzona jest spisem treści, zawiera streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz ważniejszych skrótów używanych w pracy. Zasadniczy układ rozdziałów oraz opracowanie graficzne są przejrzyste, zgodnie z ogólnie przyjętymi wymogami prac doktorskich.

Tytuł pracy

W tytule pracy podano, że dotyczy ona stężenia wybranych cytokin w płynie łzowym podczas gdy badano także ich stężenia we krwi obwodowej. Tytuł powinien zatem uwzględniać ten fakt. Przy przygotowywaniu pracy do publikacji sugeruję rozszerzenie tytułu o stwierdzenie, że praca dotyczy dzieci co z powodu rzadkości występowania tego schorzenia w tej grupie wiekowej mogłoby stanowić jej wyróżnik i zachęcić potencjalnego czytelnika.

Wstęp

Wstęp liczący 25 stronic zawiera między innymi dane epidemiologiczne, klasyfikacje chorób tarczycy, obraz kliniczny, diagnostykę (w tym obszernie omówioną diagnostykę laboratoryjną). Sporo miejsca doktorantka poświęciła na opisanie zespołu suchego oka i roli cytokin w tym zaburzeniu.

Moim zdaniem wstęp jest nieco zbyt obszerny i sam w sobie mógłby stanowić pracę poglądową na w/w temat. Rozumiem jednak chęć Doktorantki jak najszerszego nakreślenia problemu dla różnych grup czytelników. Proponuję jednak przy przygotowywaniu pracy do publikacji skrócenie tego rozdziału.

Cel pracy

W rozdziale 5 na stronie 50 pod tytułem **Cel pracy** Doktorantka niepotrzebnie powtarza wiadomości ze wstępu a zasadniczy cel określony jako „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 „ umieszczony jest na samym końcu przez co staje się mniej czytelny.

Proponuję podanie celu pracy w punktach. Jeden określałby zbadanie zależności stężenia wybranych cytokin we krwi obwodowej i tarczycowych parametrów hormonalnych, kolejny badanie i ocenę poziomu stężenia cytokin we łzach i zależności tych wartości od stanu powierzchni oka ocenianego testami w kierunku zespołu suchego oka. Ponad to proponuję zamianę kolejności rozdziałów 4 i 5 czyli najpierw **Cel pracy** a potem **Materiał i metody**.

Materiał i metody

W rozdziale podano charakterystykę grupy badanej i grupy kontrolnej.

Grupę badaną stanowiło 40 pacjentów z chorobą Gravesa i Basedowa w wieku od 7 do 17 lat, średnia wieku 11,64 ± 3,38. W celach kwalifikacyjnych u wszystkich pacjentów wykonano badanie obejmujące ocenę odcinka przedniego, dna oka oraz testy

w kierunku zespołu suchego oka. U dzieci tych 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, średnia wieku 10,66 ± 2,78 u których nie stwierdzono chorób ogólnych. W celach kwalifikacyjnych u wszystkich badanych przeprowadzono badanie okulistyczne obejmujące ocenę odcinka przedniego, dna oczu oraz testy w kierunku zespołu suchego oka.

Na podkreślenie zasługuje zgromadzenie tak licznej grupy badanej co w przypadku chorób tarczycy u dzieci i młodzieży z pewnością nie było łatwym zadaniem.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, uchwała numer APK.002.255.2020.

Szczegółowo omówiono użyte zestawy odczynników i aparaturę laboratoryjną oraz przedstawiono metody oznaczania cytokin i hormonów.

Przedstawiono także metodę wykonywania testu Schirmera, badania czasu przerwania filmu łzowego.

Analiza statystyczna

Otrzymane dane poddano analizie statystycznej. W przypadku potwierdzenia zgodności z rozkładem normalnym do porównania dwóch grup zastosowano test t-Studenta. W przypadku, gdy nie potwierdzono zgodności z rozkładem normalnym do porównania dwóch grup zastosowano test Manna-Whitney'a. Podano także zasady tworzenia wykresów.

Wyniki

Wyniki zostały podane zarówno w formie opisowej jaki i tabelarycznej z podziałem na grupę badania i kontrolną. Zamieszczono także liczne ryciny obrazujące graficznie otrzymane dane. Przedstawiono graficznie korelacje analizowanych parametrów. Na stronach 91-92 podsumowano zaobserwowane istotne korelacje. Takie podsumowanie wydaje się być cenne bo daje czytelnikowi całościowy obraz wyników.

Dyskusja

W rozdziale tym na stronach od 93 do 99 Doktorantka rozpoczyna od przypomnienia szeregu wiadomości na temat choroby zasadniczej, które były już podane we wstępnie i mogłyby być tu pominięte bez szkody dla pracy. Słusznie zauważa, że brak jest doniesień na temat badania poziomu cytokin we łzach u dzieci z orbitopatią tarczycową. Następnie Doktorantka przywołuje liczne prace z dostępnej literatury oceniające poziomy cytokin, ich zależność od stopnia zaawansowania choroby tarczycy i innych przypadków prowadzących do zespołu

suchego oka. Powołuje się na badania zarówno potwierdzające patofizjologiczny udział cytokin (zwłaszcza IL-17) w rozwoju oftalmopatii Gravsa jak i te, które nie do końca akceptuję tę tezę. W całości dyskusja prowadzona jest prawidłowo i przejrzyście.

Wnioski

Praca zwiera 4 wnioski wypływające z badań Doktorantki. Są one sformułowane jasno i oddają istotę pracy. Wniosek 1 i 2 potwierdzają istotne powiązanie stężenia IL-6 we krwi obwodowej z przebiegiem procesów immunologicznych w chorobie tarczycy. Wniosek 3 dotyczy istotnej statystycznie korelacji zachodzącej także pomiędzy stężeniem badanych cytokin we łzach a poziomem przeciwciał przeciwtarczycowych odzwierciedlając powiązanie zmian powierzchni oka i procesu autoimmunologicznego.

Streszczenie

Streszczenie w języku polskim i angielskim jest zrozumiałe i zawiera istotę wykonanej pracy.

Piśmiennictwo

Zastosowane piśmiennictwo składa się aż z 214 pozycji w języku polskim i angielskim Jest aktualne, zostało prawidłowo dobrane. Zdecydowana większość to prace z ostatnich lat co czyni całość rozprawy aktualną. Niestety przygotowując ten rozdział Doktorantka popełniła pewne niedociągnięcia. W niektórych pozycjach (zwłaszcza książkowych) brak pewnych danych np. roku wydania, wydawnictwa czy podania stron cytacji. Pozycja 37, 44 i 171 brzmią identycznie. Z uwagi na to, że w żadnej nie podano zakresu stron można domniemywać, że różnią się pod tym względem. Wymaga to uzupełnienia. Piśmiennictwo powinno być podane w kolejności cytowania co oznacza, że pierwsze cytowanie powinno być opatrzone numerem 1, drugie 2 i tak kolejno. W manuskrypcie jako pierwsza pojawia się pozycja 48, jako drugie 1 a jako trzecie 162. Proponuję zatem przy przygotowywaniu pracy do publikacji ograniczyć bibliografię do najważniejszych i najistotniejszych pozycji, uzupełnić brakujące dane, zmienić i uporządkować kolejność.

Uwagi redakcyjne

Praca Doktorantki dotyczy choroby Gravsa i Basedowa. Choroba została pierwszy raz opisana przez irlandzkiego lekarza z Dublina Roberta Jamesa Gravsa w 1832 roku. Niezależnie w 1840 roku opisał ją także niemiecki uczony Karl Adolph von Basedow z Magdeburga. Od tego czasu jej nazwa podawana była różnie. Jako choroba Gravsa, choroba Basedowa lub Gravesa-Basedowa pisana z myślnikiem lub spójnikiem i. Aktualnie w piśmiennictwie polskim np. w pracach publikowanych w Endokrynologii Polskiej stosowana jest głównie wersja ze spójnikiem i więc brzmi ona choroba Gravsa i Basedowa. W piśmiennictwie anglojęzycznym

natomiast stosowana jest głównie nazwa Graves' disease. Orbitopatię tarczycową nazywany natomiast orbitopatią Gravsa. W ocenianej monografii stosowane są w zasadzie wszystkie wymienione wersje nazwy tej jednostki chorobowej. Proponuję wyjaśnić tę kwestię na początku wstępu, zaproponować skrót i stosować go konsekwentnie do końca pracy.

Są to uwagi redakcyjne, nie mające wpływu na wartość pracy a tylko porządkujące pewne kwestie.

Podsumowując, recenzowana praca jest oryginalnym i nowatorskim dorobkiem naukowym Doktorantki. Doktorantka dowiodła, że potrafi prawidłowo zaplanować, wykonać i opracować zamierzony problem badawczy. Rozprawa ujmuje temat wszechstronnie, w sposób dobrze przemyślany, z właściwym doborem metod i wnikliwą oceną wyników w kontekście dostępnego piśmiennictwa.

Praca wzbogaca dotychczasową wiedzę na temat choroby Gravsa i Basedowa i jej okulistycznych konsekwencji. Raz jeszcze podkreślam dodatkową wartość pracy z powodu zebrania licznej badanej grupy w wieku dziecięcym. Praca może być przydatna klinicznie dla lekarzy wielu specjalności (okulistów, pediatrów i endokrynologów).

W związku z powyższym przedkładam Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie mgr Małgorzaty Danuty Wojtkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego

Dr hab. n. med. Ewa Langwińska

Ewa Langwińska