

Dr hab. n.med. Anna Popławska-Kita
Klinika Endokrynologii, Diabetologii
i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
15-276 Białystok
ul. M.C. Skłodowskiej 24A

Białystok, 20.04.2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Lek. Katarzyny Zawadzkiej-Starczewskiej pt:

„Nowe czynniki ryzyka rozwoju choroby Gravesa i Basedowa oraz orbitopatii Gravesa, ze szczególnym uwzględnieniem czynników genetycznych”.

**przygotowanej pod kierunkiem promotora: dr hab. n. med. Magdaleny Stasiak,
profesora Instytutu
Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki
Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Andrzej Lewiński**

Podłoże genetyczne może mieć istotny wpływ na rozwój i przebieg kliniczny chorób tarczycy, w tym chorób autoimmunizacyjnych. Choroba Gravesa i Basedowa (GD) jest chorobą autoimmunizacyjną tarczycy związaną z wytwarzaniem swoistych przeciwciał przeciwko receptorowi dla tyreotropiny (TRAb). Postuluje się znaczenie alleli HLA (ludzkie antygeny leukocytarne) w rozwoju GD, jednak dla populacji kaukaskiej nie potwierdzono dotychczas jednoznacznie takiej zależności, przy pomocy wiarygodnych metod genotypowania na dużych grupach pacjentów. Identyfikacja alleli HLA związanych z ryzykiem wystąpienia GD i orbitopatii Gravesa (GO) może dostarczyć cennych informacji na temat genetycznych czynników, które przyczyniają się do rozwoju tych chorób. System HLA odpowiada za prezentację obcych antygenów limfocytom T, które odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej. Dlatego jakiegokolwiek zmiany lub zaburzenia w systemie HLA mogą prowadzić do odpowiedzi autoimmunologicznej i rozwoju chorób autoimmunizacyjnych, w tym GD/GO.

Przedstawiona mi do oceny praca dotyczy aktualnego tematu związanego z występowaniem określonych haplotypów HLA a chorobą Gravesa-Basedowa z towarzyszącą orbitopatią. Dotychczas nie stwierdzono jednoznacznie, czy którykolwiek z alleli HLA

wpływa na przebieg GD i potencjalnie może być związany z większym ryzykiem rozwoju GO. Wybór tematu pracy uważam więc za właściwy zarówno z naukowego, jak i z praktycznego punktu widzenia, zwłaszcza dla klinicysty naukowca.

Manuskrypt składa się z 77 stron, w tym trzech publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, trzech czytelnych tabel umieszczonych w tekście oraz 38 pozycji piśmiennictwa. Przed tekstem pracy znajduje się wykaz publikacji wraz z ich wartościami naukowymi oraz spis skrótów. W końcowych rozdziałach znajdują się kopie publikacji wchodzących w skład rozprawy, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz suplement zawierający oświadczenia o udziale współautorów w pracy i zgodę komisji bioetycznej. Osiągnięcie naukowe przedstawione mi do oceny składa się z trzech prac opublikowanych w czasopiśmie o wysokim łącznym współczynniku oddziaływania IF-13,8 i punktacji MNiSW 380. Cykl publikacji składa się z trzech prac oryginalnych. Pierwszy artykuł identyfikuje zależności między obecnością alleli HLA a ryzykiem rozwoju choroby Gravesa-Basedowa, druga praca opisuje znaczenie alleli HLA w rozwoju choroby Gravesa-Basedowa z towarzyszącą orbitopatią, a trzecia obejmuje ocenę niegenetycznych czynników ryzyka GO. Wszystkie trzy badania zostały przeprowadzone na grupach chorych z GD. Tematyka prac jest ściśle powiązana, ponieważ dotyczą czynników ryzyka GD oraz GO, co przemawia za połączeniem ich w cykl publikacji.

Celem cyklu prac było znalezienie nowych czynników ryzyka GD i GO, zarówno genetycznych, jak i niegenetycznych, oraz weryfikacja znaczenia czynników już opisywanych. W związku z brakiem publikacji dotyczących znaczenia HLA w rozwoju GO, jednym z kluczowych celów było udokumentowanie istnienia alleli HLA związanych zarówno z ryzykiem rozwoju GO, jak i potencjalnie chroniących przed nim. Cele pracy zostały zrozumiale sprecyzowane i uzasadniają podjęcie badań. Wyniki wszystkich analiz zostały zebrane i opublikowane w postaci cyklu prac oryginalnych, które uzupełniają się wzajemnie i tworzą logiczny ciąg nowych, oryginalnych wniosków.

Praca otwierająca cykl publikacji (*Zawadzka-Starczewska K, Tymoniuk B, Stasiak B, Lewiński A, Stasiak M. Actual Associations between HLA Haplotype and Graves' Disease Development. J Clin Med. 2022 Apr 29;11(9):2492*) miała na celu zidentyfikowanie alleli HLA związanych z ryzykiem wystąpienia GD u osób rasy kaukaskiej oraz alleli HLA, które mogą działać protekcyjnie. Wcześniejsze badania dotyczące alleli HLA związanych z GD były przeprowadzane głównie na populacji azjatyckiej oraz często wykorzystywały metody serologiczne, które cechują się mniejszą dokładnością niż zastosowana w omawianych badaniach metoda sekwencjonowania nowej generacji (next-generation sequencing – NGS).

Rozwój technologii NGS umożliwił przejście od analizowania niewielkich fragmentów genu za pomocą tradycyjnych metod do stosowania technik umożliwiających uzyskanie pełnej sekwencji wielu genów, a nawet całego genomu. Najważniejszą cechą technologii NGS jest ogromna skala sekwencjonowania nowej generacji oraz równoległe odczytywanie sygnału dla setek tysięcy odrębnych zdarzeń. Zastosowanie przez Doktorantkę metody NGS istotnie zwiększa wartość przeprowadzonych badań. W przedstawionej publikacji omówiono związek między ryzykiem rozwoju choroby Gravesa-Basedowa a obecnością określonych alleli HLA, które mogą zwiększać lub zmniejszać to ryzyko. Te dane umożliwiają stworzenie rzetelnego narzędzia do spersonalizowanej oceny ryzyka choroby Gravesa-Basedowa, opartego na profilu HLA konkretnego pacjenta.

Celem drugiej publikacji (*Stasiak, M., Zawadzka-Starczewska, K., Tymoniuk, B. et al. Significance of HLA in the development of Graves' orbitopathy. Genes Immun 24, 32–38 (2023)*) było porównanie częstości występowania alleli HLA u pacjentów z GD w dwóch grupach: bez orbitopatii i z towarzyszącą GO. Uzyskane wyniki potwierdziły zaobserwowane już w pierwszej – omówionej powyżej – publikacji zwiększone ryzyko GD u nosicieli alleli HLA-B*08:01, -C*07:01 i -DQB1*03:01. Również w kontekście alleli o potencjalnie ochronnym działaniu w stosunku do GD bez orbitopatii, potwierdzono pionierskie obserwacje odnotowane w poprzedniej publikacji dotyczącej takiego działania HLA-B*07:02 i -C*07:02. Dodatkowo, spójność wyników uzyskanych po podziale pacjentów na grupy z GO i bez GO w porównaniu do wyników pierwszego badania potwierdza wysoką wiarygodność stosowanej metody oraz adekwatną wielkość badanych grup.

W kolejnej pracy (*Zawadzka-Starczewska K, Stasiak B, Wojciechowska-Durczyńska K, Lewiński A, Stasiak M. Novel Insight into Non-Genetic Risk Factors of Graves' Orbitopathy. Int J Environ Res Public Health. 2022 Dec 16;19(24):16941*) potwierdzono związek między GO a paleniem tytoniu, starszym wiekiem, wyższymi stężeniami TRAb w surowicy oraz z hipercholesterolemią, nawet jeśli stężenie cholesterolu LDL jest tylko nieznacznie podwyższone. W badaniu wykazano również, że nowe potencjalnie użyteczne markery ryzyka GO to wyższe stężenia kreatyniny w surowicy, wyższy wskaźnik MCV oraz niższa liczba płytek krwi.

Wnioski przedstawione przez Doktorantkę są zgodne z celami pracy i wynikają z uzyskanych wyników badań. Identyfikacja alleli HLA związanych z ryzykiem rozwoju chorób Gravesa i orbitopatii Gravesa stanowi istotny krok w kierunku rozwoju medycyny personalizowanej. System HLA pełni kluczową rolę w regulacji układu odpornościowego i wiadomo, że jest związany z wieloma chorobami autoimmunologicznymi, w tym z chorobą

Gravesa i orbitopatią Gravesa. Ponadto, posiadanie szerokiego panelu czynników ryzyka może stanowić niezawodne narzędzie do oceny indywidualnego ryzyka wystąpienia GO. Może to pomóc lekarzom dopasować strategię leczenia do unikalnego profilu genetycznego i czynników ryzyka pacjenta. Medycyna personalizowana ma potencjał poprawienia wyników leczenia pacjentów oraz zmniejszenia ciężaru choroby, a ocena predyspozycji genetycznych stanowi kluczowy aspekt osiągnięcia tego celu.

Nie wnoszę uwag krytycznych, co do zasadności podejmowanych badań, toku ich przeprowadzenia, doboru metod badawczych, wyników oraz ich opracowania, interpretacji, dyskusji oraz wniosków końcowych. Pragnę podkreślić nie tylko walory metodologiczne pracy, ale także jej nowatorstwo.

W ramach obowiązków recenzenta, mam kilka drobnych uwag krytycznych. W przedstawionym mi do recenzji manuskrypcie brakuje dokładnego omówienia metodyki przeprowadzonych badań, ze szczególnym uwzględnieniem opisanego sekwencjonowania nowej generacji. W wykazie skrótów brakuje angielskich odpowiedników dla niektórych skrótów. Ponadto, dwie z prezentowanych prac zostały opublikowane w czasopiśmie wydawnictwa MDPI.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została dobrze zaplanowana i wykonana przy użyciu sprawdzonych przez Autorkę technik badawczych. Drobne uwagi recenzenta nie umniejszają istotnie wartości tej pracy. W podsumowaniu, zwracam uwagę na staranność przygotowanego manuskryptu, którego analiza świadczy o umiejętności samodzielnego formułowania tezy i wniosków pracy naukowej.

Pragnę dodać, że w dwóch pracach Doktorantka jest pierwszym, a w trzeciej drugim autorem. Cykl prac jest spójny tematycznie i ze względu na dużą wartość praktyczną, nowatorskie podejścia do problemu wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Z wyżej wskazanych względów, w oparciu o przepisy Ustawy o Tytule i Stopniach Naukowych (art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.) Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2022 r. poz. 574), mam zaszczyt wystąpić do Rady Naukowej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki o dopuszczenie Lek. Katarzyny Zawadzkiej-Starczewskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,
dr hab. Anna Popławska-Kita