



**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I
ENDOKRYNOLOGII**

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

KIEROWNIK: prof. dr hab. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, dnia 06.07.2021

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. Magdaleny Londzin-Olesik

„Wpływ leczenia immunosupresyjnego na wybrane parametry układu antyoksydacyjnego u chorych na chorobę Gravesa - Basedowa z aktywną orbitopatią tarczycową”

przygotowanej pod kierunkiem dr hab. n. med. Mariusza Nowaka, prof. SUM

wykonanej w Zakładzie Patofizjologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. n. med. Beata Kos-Kudła Wydział Nauk Medycznych w
Zabrzu Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Choroba Gravesa - Basedowa (chGB) jest najczęstszą przyczyną nadczynności tarczycy. Orbitopatia tarczycowa (OT) stanowi pozataarczycową manifestację chGB. Patofizjologia OT jest złożona i nadal pozostaje do końca niewyjaśniona. Poznanie mechanizmów prowadzących do rozwoju OT ma istotne znaczenie z punktu widzenia prowadzonej terapii. Jest to szczególnie istotne w przypadku ciężkich postaci OT: umiarkowanej do ciężkiej oraz zagrażającej utratą wzroku. Jednym z istotnych czynników biorących udział w rozwoju OT jest stres oksydacyjny. Aktywowane limfocyty T naciekając tkanki oczodołu zapoczątkowują kaskadę zdarzeń prowadzących do produkcji cytokin, czynników wzrostu oraz reaktywnych form tlenu. W dotychczasowych badaniach wykazywano zmiany parametrów układu oksydo - redukcyjnego u chorych z nadczynnością tarczycy w porównaniu z pacjentami w eutyreozie jak również zależność pomiędzy w/w parametrami a przebiegiem OT. Oceniano również wpływ terapii immunosupresyjnej na zmiany w/w parametrów. W dobie wprowadzania do leczenia nowych leków w terapii OT (rituximab, tocilizumab, teprotumumab) pełna wiedza dotycząca roli wpływu stresu oksydacyjnego w rozwoju OT i analiza w kontekście wpływu terapii na poszczególne parametry wydaje się być niepodważalna.

Głównym celem pracy była ocena wpływu leczenia immunosupresyjnego wlewami dożylnymi metyloprednizolonu (MP) oraz uzupełniającego doustnego leczenia MP na stężenie lub aktywność wybranych składowych enzymatycznych i nieenzymatycznych układu antyoksydacyjnego t.j.: całkowitą zdolność redukcji jonów żelaza przez osocze (FRAP), aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz paraoksonazy-1 (PON-1), stężenia witaminy C i kwasu moczowego oraz na stężenie produktów peroksydacji lipidów ocenianych poprzez stężenie dialdehydu malonowego (MDA) oraz skoniugowanych dienów (CD) u chorych z aktywną orbitopatią tarczycową w przebiegu choroby Gravesa - Basedowa. Dodatkowo przeprowadzono analizę aktywności w/w parametrów w zależności od stanu tyreometabolicznego.

Rozprawa doktorska jest oparta na 3 opublikowanych pracach: 2 oryginalnych i jednej przeglądowej. Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich pracach. Sumaryczny Impact Factor trzech publikacji wynosi 4,258. Łączna suma punktów MNiSW wynosi 150.

Wykaz prac stanowiących cykl publikacji:

1. The effect of thyroid hormone status on selected antioxidant parameters in patients with Graves' disease and active thyroid-associated orbitopathy. Magdalena Londzin-Olesik, Beata Kos-Kudła, Aleksandra Nowak, Tomasz Wielkoszyński, Mariusz Nowak. *Endokrynologia Polska*. 2020.
2. The effect of immunosuppression on selected antioxidant parameters in patients with Graves' disease with active thyroid-associated orbitopathy. Magdalena Londzin-Olesik, Beata Kos-Kudła, Jacek Karpe, Aleksandra Nowak, Mariusz Nowak. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2020.
3. Rola stresu oksydacyjnego w patogenezie orbitopatii Gravesa. Magdalena Londzin-Olesik, Beata Kos-Kudła, Aleksandra Nowak, Mariusz Nowak. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2021.

Prace oryginalne 1 i 2 stanowią podsumowanie badań przeprowadzonych w grupie 56 chorych z chGB z aktywną umiarkowaną do ciężkiej OT leczonych w Klinice Endokrynologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego. Wszyscy chorzy byli w trakcie leczenia tyreostatykiem (thiamazol). 34 chorych było w momencie kwalifikacji do badania nadal w stadium nadczynności tarczycy, 22 chorych w stadium eutyreozy. Grupa kontrolna składała się z 20 zdrowych ochotników w porównywalnym przedziale wiekowym i podobnym rozkładzie płci w stosunku do grupy badanej, bez klinicznych cech oraz

hormonalnych zaburzeń funkcji tarczycy. Chorzy z OT zostali zakwalifikowani do leczenia pulsami MP zgodnie z wytycznymi EUGOGO, a następnie prowadzono leczenie doustnym MP przez 3 miesiące w stopniowo redukowanych dawkach. Pobrania krwi wykonywano 24 godziny przed rozpoczęciem leczenia dożylnego MP, 24 godziny po zakończeniu leczenia dożylnymi wlewami MP i po 3 miesiącach od zakończenia uzupełniającej doustnej terapii MP oraz jednorazowo w grupie kontrolnej.

Na podstawie przeprowadzonej analizy badanych parametrów zostały przedstawione następujące wnioski:

1. Leczenie immunosupresyjne wlewami dożylnymi metyloprednizolonu wpływa znamienne na obniżenie stanu stresu oksydacyjnego mierzonego poprzez aktywność FRAP jak i stężenie produktów peroksydacji lipidów w surowicy krwi chorych z aktywną OT.
2. Leczenie uzupełniające prowadzone metyloprednizolonem podawanym drogą doustną prowadzi do dalszej normalizacji aktywności oraz stężeń badanych parametrów aczkolwiek bez różnicy znamiennej w stosunku do wartości uzyskanych w pierwszym etapie leczenia prowadzonym za pomocą wlewów dożylnych leku.
3. Podwyższone stężenie produktów peroksydacji lipidów w surowicy krwi chorych z aktywną OT wskazuje na znaczącą patogenetyczną rolę zaburzenia równowagi układu oksydacyjno-redukcyjnego w patogenezie OT.
4. Znamienne wzrost aktywności FRAP może być mechanizmem adaptacyjnym do stanu stresu oksydacyjnego a adaptacyjne pobudzenie bariery antyoksydacyjnej organizmu obejmuje głównie jego składową enzymatyczną.
5. Nadczynność tarczycy u chorych z aktywną OT ma znaczący udział w powstawaniu stresu oksydacyjnego, co przejawia się wzmożoną peroksydacją lipidów oraz aktywacją układu antyoksydacyjnego. Stan eutyreozy prowadzi do obniżenia aktywności oraz stężenia większości badanych składowych układu antyoksydacyjnego, ale nie ich normalizacji. Autoimmunologiczny proces zapalny oczodołu wydaje się być niezależnym od stanu tyreometabolicznego czynnikiem nasilonych reakcji oksydacyjnych.

Praca pogładowa przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący roli stresu oksydacyjnego w patogenezie OT i stanowi istotne uzupełnienie cyklu prac.

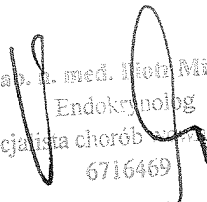
Podsumowując cykl prac stwierdzam, że składają się one na spójną całość. Dobór metodologii w pracach oryginalnych jest prawidłowy i pozwala na przedstawienie w/w wniosków. Analiza badanych parametrów została wykonana wyjściowo pomiędzy trzema grupami (nadczynność tarczycy, eutyreoza, grupa kontrolna), a następnie pomiędzy całą grupą chorych z chGB w kolejnych punktach czasowych a grupą kontrolną. Powyższa struktura badania umożliwiła realizację zamierzonego celu badania.

W trakcie lektury nasunęły mi się pewne uwagi, które z obowiązku recenzenta przytaczam:

1. Prezentowaną grupę pacjentów zgodnie z polską nomenklaturą opisałbym po polsku mianem pacjentów z „umiarkowaną do ciężkiej” zamiast „moderate to severe”.
2. Klasyfikacja NOSPECS stosowana jest już coraz rzadziej z racji małej przydatności. Operowanie kryteriami aktywności (aktywna, nieaktywna) i ciężkości (łagodna, umiarkowana do ciężkiej i zagrażająca utratą wzroku) jest wystarczające.
3. W charakterystyce badanej grupy brakuje mi czasu leczenia nadczynności tarczycy, czasu trwania OT w momencie włączenia do badania. Szczególnie istotne jest to w związku ze wstępną analizą w grupie eutyreoza/hipertyreoza.
4. Ocena aktywności w NMR nie jest konieczna do rozpoznania aktywności. Jedynym obiektywnym parametrem jest CAS.
5. Nie wpływa to na jakość pracy, jednak dodatkowe przedstawienie w postaci wykresów pozwala łatwiej odczytać wyniki, szczególnie w przypadku bardziej rozbudowanych tabel.
6. Proponuję w przypadku dopuszczenia rozprawy do dalszego etapu przewodu doktorskiego przygotować na obronę przynajmniej jeden schemat obrazujący udział czynników stresu oksydacyjnego w patogenezie OT. To bardzo ładnie uzupełnia pracę.
7. Brakuje pod niektórymi tabelami wyjaśnienia wszystkich skrótów, np.: min, me, max.
8. Strona 27: „Hübner i wsp. jako pierwsi sugerowali udział stresu oksydacyjnego w patogenezie nadczynności tarczycy”. To zdanie może zostać źle odczytane, proponowałbym wpisać odwrotnie. Nadczynność tarczycy prowadzi do wzrostu parametrów stresu oksydacyjnego.
9. Raz wprowadzony skrót powinien być stosowany do końca rozprawy.
10. Na koniec chciałbym poruszyć kwestię dodatkowego leczenia MP doustnie. Jest to moim zdaniem bardzo istotny element badania i cieszę się, że taka analiza została wykonana. Nie ma jednoznacznych wytycznych dotyczących przedłużenia leczenia pulsami poprzez

dodanie sterydów doustnie przez kolejne 3 miesiące. Uważam, że takie leczenie może przynieść dodatkowy efekt i warto je rozważyć u pacjentów z umiarkowaną do ciężkiej, aktywną OT. W tabeli 8 zaznaczono istotność statystyczną w ocenie FRAP: spadek pomiędzy momentem zakończenia pulsów a zakończeniem MP doustnie. Spadek poniżej wartości w grupie kontrolnej. We wnioskach (pkt 2) napisano, że nie ma istotności statystycznej. Ten element wart jest wyjaśnienia.

Powyższe uwagi nie wpływają na moją ostateczną ocenę. Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska stanowi wartościowy wkład w rozwój nauki. Podjęcie badań na ten temat jest w pełni uzasadnione. Metody badawcze są adekwatne do celu pracy. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 1789. W związku z tym mam zaszczyt wnioskować do Rady Dyscyplin Nauk Medycznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie lek. Magdaleny Londzin-Olesik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Dr hab. n. med. Piotr Miśkiewicz
Endokrynolog
Specjalista chorób wewnętrznych
6716469