

**Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
02-781 Warszawa, ul. Roentgena 5 tel. 22 546-33-86
KLINIKA ENDOKRYNOLOGII ONKOLOGICZNEJ
I MEDYCYNY NUKLEARNEJ
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Marek Dedecjus**

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych
mgr inż.**

**p.t. „Stan zapalny w chorobie Hashimoto na tle diety i poziomu
aktywności fizycznej“**

Promotor prof. Akademii Kaliskiej, dr hab. Katarzyna Domaszewska

Choroba Hashimoto jest najczęściej występującym zapaleniem tarczycy i najczęstszą niejatrogeną przyczyną niedoczynności tarczycy. Obecnie jest uważana za najczęstszą chorobę autoimmunologiczną i najczęstsze zaburzenie endokrynologiczne. Synonimami spotykanymi w piśmiennictwie zapalenia tarczycy Hashimoto są: choroba Hashimoto, przewlekłe limfocytowe zapalenie gruczołu tarczowego, wole limfocytarne, zapalenie tarczycy autoimmunologiczne, wole limfoidalne, zapalenie tarczycy limfocytarne, wole limfocytowe, przewlekłe autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy lub przewlekłe limfocytarne zapalenie tarczycy. Zapalenie to charakteryzuje się w badaniu histologicznym rozlanym naciekiem limfatycznym w obrębie gruczołu tarczowego. Natomiast w dalszym rozwoju choroby następuje zwłóknienie i atrofia mięszu tarczycy, prowadząc do niedoczynności tarczycy z towarzyszącymi objawami. Jedynym pewnym rozpoznaniem limfocytarnego zapalenia tarczycy jest rozpoznanie histopatologiczne. Istotną wskazówką w diagnostyce może być miano przeciwciał przeciw tarczycowym: przeciwko tyreoperoksydazie (aTPO) lub tyreoglobulinie (aTG). Ich wysokie miano odgrywa znaczącą rolę w patogenezie choroby Hashimoto. Choć do 5% choroby Hashimoto może przebiegać bez wzrostu miana przeciwciał – seronegatywne zapalenie Hashimoto. Przeciwciała, których miano jest podwyższone są czynnikami cytotoksycznymi oraz aktywatorami cytotoksycznych limfocytów T, prowadząc do niszczenia komórek pęcherzykowych tarczycy. Oprócz wspomnianej aktywacji, dochodzi do zwiększenia liczby komórek plazmatycznych, a skutkiem

nieprawidłowej aktywności limfocytów jest zwiększone wydzielanie cytokin o charakterze zapalnym. Hormon tyreotropowy (TSH) jest istotnym elementem osi podwzgórze-przysadka-tarczycy, a oznaczanie jego stężenia w surowicy krwi stanowi podstawę wstępnej oceny aktualnego stanu tyreometabolicznego organizmu. Fluktuacje stężenia TSH mogą świadczyć o zaburzeniach czynności gruczołu tarczowego, ale istnieje wiele innych czynników, które wpływają na syntezę i wydzielanie TSH wpływając tym samym pośrednio lub bezpośrednio na stężenie TSH w surowicy krwi. Z tego względu ocena stężenia TSH jest jedynie przybliżeniem funkcji tarczycy a oparcie oceny stanu tyreometabolicznego o izolowane oznaczenie tego hormonu może prowadzić do nieprawidłowej diagnozy. Interpretacja wyniku badania TSH musi być powiązana z kontekstem klinicznym, a profil badań w razie wątpliwości należy poszerzyć o oznaczenie stężenia innych parametrów np. wolnych hormonów tarczycy.

Recenzowana rozprawa doktorska jest oparta o cykl prac poświęconą ocenie wpływu choroby Hashimoto na odpowiedź prozapalną i stres oksydacyjny. Dodatkowo doktorantka pragnie uzyskać odpowiedź na pytanie, w jaki sposób aktywność fizyczna wpływa na stężenie hormonów tarczycy i jaki jej rodzaj jest szczególnie polecany w niedoczynności tarczycy. Ponadto celem opracowania była również ocena częstości stosowania diety bezlaktozowej oraz najczęściej pojawiające się dolegliwości zdrowotne wśród chorych z Hashimoto. Tematyka rozprawy jest ze wszechmiar aktualna.

Rozprawa doktorska liczy 31 stron i obejmuje: wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, komentarz do cyklu prac w języku polskim (konspekt), kopie prac składających się na cykl, oraz informacje o udziale i wkładzie współautorów w poszczególnych publikacjach. Tytuł pracy doktorskiej odpowiada tematyce analizowanych publikacji. W skład rozprawy przedstawionej do recenzji wchodzi pięć publikacji:

- pierwsza z tych prac jest pracą oryginalną, opublikowaną w 2021 r. w czasopiśmie ze współczynnikiem oddziaływania (ang. impact factor, IF): IF= IF 4,614 (140 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego-MNiSW),
- druga praca jest pracą przeglądową opublikowaną 2021 r. i stanowi rozdział w monografii naukowej pt.: "Advances in Biomedical Research – From Cell-in-Cell to Skin Disease" Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., Warszawski Uniwersytet Medyczny (20 pkt. MEiN)
- trzecia praca jest pracą oryginalną opublikowaną w J Health Inequal 2020; 6 (1): 75-78 (100 pkt. MEiN).
- czwarta praca to badanie ankietowe opublikowane jako rozdział w monografii naukowej Biomedycyna i zagadnienia pokrewne. Tom 2, Wydawnictwo

Naukowe TYGIEL sp. z o.o., Warszawski Uniwersytet Medyczny (20 pkt. MEiN).

- Piąta praca jest pracą oryginalną opublikowaną w Gabinet Prywatny 26 (1); 7-12. (5 pkt. MEiN)

Prace wchodzące w skład cyklu są opracowaniami zbiorowymi, w których Doktorantka jest pierwszym autorem. Wkład Doktorantki niniejszej rozprawy w publikacjach nie został określony w oświadczeniach współautorów, które zostały zawarte na końcu rozprawy, jednak ze względu na małą liczbę współautorów i fakt bycia pierwszym autorem nie ulega wątpliwości, że Doktorantka miała wiodącą rolę w ich powstawaniu: Doktorantka dokonała wyboru tematu i koncepcji publikacji, przeglądu piśmiennictwa oraz odegrała główną rolę w opracowaniu manuskryptów.

W pracy numer 1 Doktorantka poddała ocenie czy choroba Hashimoto wpływa na wybrane parametry stresu oksydacyjnego oraz na stężenie cynku i miedzi w surowicy krwi. Do grupy kontrolnej ostatecznie zakwalifikowano 30 osób, a do grupy badanej 41. Stężenie cynku i miedzi w surowicy zostało oznaczone metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej. Natomiast w celu określenia stężeń całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza (FRAP) została zastosowana metoda kalorymetryczna oceniając zdolność do obniżania stężenia żelaza w osoczu. Ponadto oznaczono stężenie substancji reaktywnych z kwasem tiobarbiturowym i całkowite stężenie związków fenolowych. Doktorantka nie stwierdziła różnic w stężeniach cynku, miedzi, polifenoli w surowicy krwi oraz FRAP pomiędzy grupami osób z chorobą Hashimoto w porównaniu do osób zdrowych. Natomiast zanotowała znaczące różnice pomiędzy osobami z chorobą Hashimoto, a osobami zdrowymi w zakresie stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym, czyli powstających w wyniku peroksydacji lipidów.

W publikacji numer 2 Doktorantka poddała ocenie wpływ aktywności fizycznej na czynność tarczycy u pacjentów z subkliniczną nadczynnością i niedoczynnością tarczycy. Badanie stanowiło przegląd piśmiennictwa i nie doprowadziło do jednoznacznych wniosków. Choć istnieją przesłanki, że regularny wysiłek fizyczny może korzystnie wpływać na oś podwzgórze-przysadka-tarczyca to charakter, częstotliwość i rodzaj wysiłku fizycznego u pacjentów z niedoczynnością tarczycy nie jest jednoznacznie określony, i wydaje się, że u pacjentów z niedoczynnością tarczycy należy w pierwszej kolejności uzupełnić niedobory hormonalne.

W pracy 3. Doktorantka poddała ocenie stężenie wybranych cytokin w surowicy krwi pacjentek z chorobą Hashimoto (N=41) i porównała je do grupy zdrowych pacjentek z grupy kontrolnej (N=30) dobranych pod względem wieku i płci. Doktorantka oceniała stężenia interleukiny 1 (IL-1 β), interleukiny 6 (IL-6) i czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF α).

W badaniu wykazano, iż w porównaniu z grupą kontrolną, kobiety z zapaleniem tarczycy Hashimoto charakteryzowały się istotnie wyższym stężeniem IL-1 β oraz IL-6 w surowicy krwi oraz nieistotnie wyższym stężeniem TNF- α . Interleukina 6 może mieć działanie prozapalne, jak i przeciwzapalne. Jej działanie przeciwzapalne wynika ze zdolności do hamowania odpowiedzi zapalnej przez zmniejszanie syntezy TNF- α , IL-1 β i wpływ na ekspresję chemokin. TNF- α i IL-1 β są natomiast czynnikami, które powodują istotne zwiększenie ekspresji IL-6, a także innych cytokin z jej rodziny. W ostrym zapaleniu rola IL-6 polega na ograniczaniu reakcji zapalnej, jednak w przewlekłym zapaleniu ma głównie działanie prozapalne. Podwyższone stężenie IL-6 w badaniach Doktorantki wydaje się być zgodne z oczekiwaniami, gdyż choroba Hashimoto związana jest z przewlekłym stanem zapalnym w obrębie tarczycy. IL-1 β uwalniana jest przez monocyty krwi obwodowej, pobudza limfocyty T do syntezy innych cytokin prozapalnych, wpływa na proliferację i różnicowanie limfocytów B. Dodatkowo stymuluje uwalnianie czynników wzrostu i chemotaktycznych, indukując migrację komórek żernych i promuje miejscowy proces zapalny. Poprzez podwyższenie temperatury ciała, działa ogólnoustrojowo i zwiększa wytwarzanie białek ostrej fazy. IL-1 może odgrywać rolę w stanach fizjologicznych, jak i patofizjologicznych, wpływając na rozwój chorób autoimmunizacyjnych tarczycy, gdyż pobudza ona lub nasila ekspresję wielu innych immunologicznie aktywnych cząsteczek (cząsteczki adhezyjne, cytokiny i białka regulatorowe) w komórkach nabłonkowych tarczycy. Wyniki Doktorantki odnoszące się do istotnych zależności pomiędzy stężeniem cytokin prozapalnych wydają się być w zgodzie z powyższym. Dotychczas wykazano, że IL-1 β odgrywa ważną rolę w autoimmunizacji tarczycy, gdyż modyfikuje szczelność nabłonka tyreocytów, zmieniając ekspresję i lokalizację białek łączących. TNF- α (czynnik martwicy guza alfa) jest białkiem ostrej fazy, które inicjuje kaskadę cytokin, zwiększając przepuszczalność naczyń, odgrywa rolę w odpowiedzi zapalnej i immunologicznej. W wyniku stymulacji przez inne cytokiny np. IL-1 β dochodzi również do bezpośredniego uwalniania TNF- α . Już wyniki z lat dziewięćdziesiątych sugerują, że TNF- α jest obecny w utkaniu tarczycy w przebiegu różnych jej chorób. Dodatkowo limfocyty pochodzące z tarczycy są potencjalnymi producentami TNF- α i mogą lokalnie wpływać na jej czynność.

Doktorantka wykazała pozytywną korelację między stężeniami IL-1 β i IL-6 ($r = 0.4696$, $p < 0.0001$), IL-1 β i TNF- α ($r = 0.2969$, $p < 0.05$) oraz IL-6 i TNF- α ($r = 0.3126$, $p < 0.01$). Z kolei związek między stężeniami IL-6 i TNF- α ($r = 0.4844$, $p < 0.01$) występował tylko w grupie kobiet zdrowych, a w grupie kobiet z chorobą Hashimoto stwierdzono pozytywną korelację stężenia IL-6 z wiekiem ($r = -0.3191$, $p < 0.05$). Doktoranta postuluje, że zmiany profilu stężeń cytokin we krwi mogą wynikać z toczącego się procesu zapalnego w chorobie Hashimoto.

Celem pracy jaki postawiła sobie Doktorantka w pracy nr 4 była ocena częstości stosowania diety bezlaktozowej wśród osób z chorobą Hashimoto. Doktorantka wykorzystała autorską metodę ankietową (własna ankieta autorska). W badaniu wzięło udział 113 kobiet ze stwierdzoną chorobą Hashimoto. Nietolerancja laktozy dotyczy nawet 30% populacji osób dorosłych. Główną przyczyną choroby jest brak aktywności enzymu laktazy, który rozkłada ten dwucukier na glukozę i galaktozę. Jednocześnie nietolerancja laktozy może mieć wpływ na wchłanianie niektórych leków, w tym także substytucyjnie podawanej lewoskrętnej tyroksyny. W niniejszych badaniach wykazano, że 22% badanych nie spożywa w ogóle produktów mlecznych, a 17% w swoim jadłospisie konsumuje je jedynie okazjonalnie. Doktorantka podsumowuje, że dieta bezlaktozowa nie jest powszechnie stosowana wśród osób z chorobą Hashimoto. Jednocześnie Doktorantka spekuluje, że pacjenci z Hashimoto korzystający z regularnych konsultacji dietetycznych w kierunku odpowiednich wyborów żywieniowych i korzyści ze stosowania zrównoważonego sposobu żywienia uzyskaliby dużą korzyść terapeutyczną.

W pracy 5. Doktorantka oceniała współistnienie innych chorób, ze szczególnym uwzględnieniem dermatoz u pacjentek z chorobą Hashimoto. Na podstawie autorskiej ankiety oceniano obecność innych schorzeń w grupie 42 pacjentek z chorobą Hashimoto. Istotnym ograniczeniem tej pracy jest brak odniesienia uzyskanych wyników do zdrowej populacji lub do grupy kontrolnej. Większość autorów sugeruje, iż wystąpienie jednej choroby o podłożu autoimmunologicznym może zwiększać ryzyko pojawienia się kolejnej np. przeciwciała przeciwtruczycowe częściej występują również u pacjentów z niedokrwistością złośliwą czy cukrzycą typu 1. Z kolei u osób z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy częściej stwierdza się przeciwciała przeciwko błonie śluzowej żołądka. Celiakia, łysienie plackowate, pokrzywka to przykłady chorób, z którymi współistnieją autoimmunologiczne choroby tarczycy. W badanej populacji tylko 11,9% badanych kobiet stwierdziło, iż nie choruje na żadne inne przewlekłe choroby. Z kolei 88,1% udzieliło twierdzącej odpowiedzi dotyczącej występowania innych chorób, w tym dermatoz. Na choroby skóry uskarżało się 14,4 % badanych. Wśród chorób skóry najczęściej wymieniano: bielactwo, atopowe zapalenie skóry i łuszczycę. Recenzent wyraża nadzieję, że badana grupa nie jest tożsama z grupą pacjentek z pracy numer 1, gdyż w tamtej pracy obecność innych chorób była kryterium wykluczenia.

Metodyka i wyniki zawarte w tych publikacjach zostały już ocenione przez recenzentów czasopism, w których ukazały się i merytorycznie nie budzą żadnych zastrzeżeń. Autorka rozprawy opisała tematykę, cel pracy, materiał i metody, wyniki i wnioski wynikające z pracy

oryginalnej, zawartej w cyklu publikacji. W streszczeniu (w języku polskim i angielskim) Doktorantka zawarła podsumowanie zagadnień omawianych w rozprawie oraz wnioski z przeprowadzonych badań. Są one poprawnie sformułowane i w pełni uzasadnione.

Recenzent zachęca do określania zawartości danego składnika w jednostce objętości lub masy nazwą stężenie a nie poziom, jednocześnie zwraca uwagę, że wśród tkanek występujących w organizmie ludzkim nie ma tkanki tarczycowej. Powyższe sformułowania są akceptowalne w mowie potocznej, ale należy ich unikać w publikacjach naukowych.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca dowodzi umiejętności stawiania problemów badawczych, organizacji warsztatu badawczego, przedstawienia wyników badań i ich rzetelnej, krytycznej interpretacji. Rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Szczepanik charakteryzuje się trafnością wyboru tematu. Praca jest cennym uzupełnieniem dostępnego piśmiennictwa naukowego i ma potencjalnie wartość kliniczną zarówno dla dietetyka, jak i lekarza POZ lub specjalisty endokrynologa. Treści w pracy sformułowane są jasno, czytelnie. Język w pracy jest poprawny. Stwierdza się błędy literowe i interpunkcyjne, które należy wyeliminować chociaż nie wpływają na całokształt pracy. Recenzent chciałby poznać opinię Doktorantki w kwestii czy w świetle badań przeprowadzonych przez Doktorantkę obecność przeciwciał a-TPO i/lub aTG jest wystarczająca do stwierdzenia choroby Hashimoto? Czy musimy oceniać jednocześnie a-TPO i aTG? Czy Doktorantka obserwowała istnienie seronegatywnego zapalenia Hashimoto? Czy wzrastająca częstość występowania Choroby Hashimoto jest zdaniem Doktorantki rzeczywistym wzrostem zachorowalności, czy raczej skutkiem wzrostu dostępności oznaczania przeciwciał przeciwtarczycowych?

Podsumowując, uważam, że praca jest samodzielnym dorobkiem doktorantki, dowodzi umiejętności stawiania problemów badawczych, organizacji warsztatu badawczego, przedstawienia wyników badań i ich rzetelnej, krytycznej interpretacji. Stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgr inż. Joanny Szczepanik spełnia wszystkie ustawowe wymogi i kryteria, jakim powinna odpowiadać praca na stopień doktora nauk medycznych. Dlatego, zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Akademii Kaliskiej o dopuszczenie mgr inż. Joanny Szczepanik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


KIEROWNIK
Kliniki Endokrynologii Onkologicznej
i Medycyny Nuklearnej
prof. dr hab. n. med. Marek Dedecjus

6