

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Ziemnicka
Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49
60-355 Poznań

Poznań, 05.07.2019

Ocena rozprawy doktorskiej **lek. Aleksandra Kusia** z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na podstawie cyklu prac na temat:

„Związek wybranych czynników genetycznych i środowiskowych z rozwojem choroby Gravesa-Basedowa i jej fenotypów”

(Promotor: prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk)

Choroba Gravesa-Basedowa (ChGB) jest najczęstszą przyczyną nadczynności tarczycy w krajach z odpowiednią podażą jodu w diecie. Jest to choroba autoimmunologiczna spowodowana obecnością przeciwciał skierowanych przeciwko receptorowi TSH (TSHRAb). Badania wykonywane u bliźniąt wykazują, że choroba ta ma podłoże genetyczne jednak jak w większości chorób autoimmunologicznych podłoże to ma prawdopodobnie charakter wielogenowy. Podatność genetyczna nie jest jednym czynnikiem rozwoju choroby Gravesa-Basedowa – niezbędna jest interakcja pomiędzy czynnikami genetycznymi a czynnikami środowiskowymi. Niestety dokładne mechanizmy tych interakcji nadal pozostają niejasne. Do tej pory powiązano wiele *loci* (regionów chromosomów) z rozwojem chorób autoimmunologicznych tarczycy. Należą do nich geny układu zgodności tkankowej (m.in. *HLA-DR3*), geny związane z regulacją odpowiedzi immunologicznej (m.in. *CD40*, *PTPN22*, *FOXP3* czy *CD25*) oraz geny białek specyficznych dla tarczycy (tyreoglobuliny, receptora TSH czy TPO). Charakter reakcji immunologicznej może zależeć od płci.

1 

U części chorych z ChGB dochodzi do rozwoju orbitopatii tarczycowej, która charakteryzuje się różnego stopnia zajęciem przez proces zapalny niektórych struktur w oczodole, przede wszystkim zewnętrznym mięśni gałki ocznej i fibroblastów. Główną rolę odgrywają tu przeciwciała TSHRAb ale podkreśla się też udział receptora dla IGF1 czy cytokin. Dokładny mechanizm rozwoju orbitopatii podobnie jak samej choroby Gravesa-Basedowa pozostaje nadal niewyjaśniony stąd badania nad patogenezą tych schorzeń stanowią ciekawy temat dociekań naukowych.

Praca doktorska lek. Aleksandra Kusia oparta jest na trzech pracach zawierających analizę czynników genetycznych i środowiskowych mających potencjalne znaczenie w rozwoju i przebiegu choroby Gravesa-Basedowa. Prace te zostały opublikowane w czasopismach o łącznym współczynniku oddziaływania (IF) 9,506 (zaktualizowany – 9,326) i łącznej punktacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego: 80 pkt. We wszystkich tych publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem. W skład tego cyklu wchodzi prace oryginalne wydane w czasopismach z listy filadelfijskiej - chronologicznie:

1. „The association of thyroid peroxidase antibody risk loci with susceptibility to and phenotype of Graves’ disease” opublikowana w *Clinical Endocrinology (Oxf)* w 2015 r. – IF – 3,487
2. „Gender-dependent and age-of-onset-specific association of the rs11675434 single-nucleotide polymorphism near TPO with susceptibility to Graves’ ophthalmopathy” opublikowana w *Journal of Human Genetics* w 2017 r. – IF 2,942
3. „Paediatric-onset and adult-onset Graves’ disease share multiple genetic risk factors” opublikowana w *Clinical Endocrinology (Oxf)* w 2019 r. – IF 3,077 (podany przez Doktoranta w czasie przygotowywania tej pracy doktorskiej - zaktualizowany IF za 2019 – 2,897)

Pierwsza z opublikowanych w 2015 r. prac oryginalnych Doktoranta obejmuje analizę występowania 16 polimorfizmów jednego nukleotydu (SNPs) skojarzonych z występowaniem przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej (TPOAb) u 647 chorych z chorobą Gravesa-Basedowa i u 769 osób z grupy kontrolnej. W badaniach wykorzystano sondy TaqMan a wyniki m.in. korelowano ze stopniem zaawansowania orbitopatii tarczycowej. Analiza wykazała skojarzenie polimorfizmu rs653178 regionu genów *ATXN2* (koduje ataksynę 2) /*SH2B3* (koduje represor indukowanej cytokinami ekspansji komórek macierzystych hemopoety) z podatnością na chorobą Gravesa-Basedowa. Jest to pierwsze tego typu doniesienie w tym schorzeniu. Dodatkowo Doktorant wykazał też znacznie częstsze występowanie polimorfizmów genów: *MAGI3* (koduje związaną z błoną kinazę guanylową) oraz *HCP5* (gen zlokalizowany w obrębie regionu MHC klasy I) u chorych z chorobą Gravesa-Basedowa aniżeli w grupie kontrolnej. Polimorfizm rs3094228 genu *HCP5* był także skojarzony z wiekiem rozpoznania choroby. Dodatkowo wyniki otrzymanych badań wskazały na częstsze występowanie polimorfizmu rs11675434 regionu genu *TPO* (peroksydazy tarczycowej) u chorych z bardziej zaawansowaną orbitopatią tarczycową. Doktorant wśród słabych cech swojej pracy wymienia fakt przeprowadzenia badań w stosunkowo homogennej populacji choć moim zdaniem jest to również mocna strona tej pracy jako, że akceptując wieloczynnikową predyspozycję do choroby Gravesa-Basedowa musimy także założyć możliwości istnienia unikalnych dla populacji zmian genetycznych co mogłoby mieć znaczenie nie tylko dla określenia patogenezы schorzenia ale też być może w przyszłości i dla jego diagnostyki.

Kolejna praca z 2017 r. zawiera wyniki bardziej szczegółowych badań nad skojarzeniem wspomnianego już wcześniej w poprzedniej publikacji polimorfizmu rs11675434 regionu genu *TPO* z podatnością na występowanie orbitopatii tarczycowej w odniesieniu do wieku wystąpienia objawów i płci chorych z chorobą Gravesa-Basedowa.



Doktorant zanalizował imponującą grupę chorych z chorobą Gravesa-Basedowa (1231 osób w różnym wieku) i odniósł wyniki swoich badań do dużej grupy kontrolnej (970 potencjalnie zdrowych osób). Doktorant wykorzystał też metodykę badań stosowaną w poprzedniej pracy. Wykazał on częstszą obecność allelu T dla polimorfizmu rs11675434 u chorych mężczyzn a także u chorych z ewidentnymi objawami orbitopatii tarczycowej. U nosicieli tego allelu orbitopatia tarczycowa ujawniała się w późniejszym wieku. Do tej pory nie ma zbyt wielu prac łączących polimorfizmy genu i regionu genu *TPO* z chorobą Gravesa-Basedowa a szczególnie z orbitopatią tarczycową choć sugeruje się taki związek. W tej sytuacji badania prowadzone przez Doktoranta mają istotne znaczenie dla rozważań patogenetycznych w tym schorzeniu.

Ostatnia z prac, opublikowana przez Doktoranta w 2019 r., również dotyczyła podatności genetycznej na chorobę Gravesa-Basedowa ale tym razem Doktorant skupił się na analizie korelacji pomiędzy genotypem a wiekiem wystąpienia choroby. W swojej pracy przedstawił wyniki badań 39 polimorfizmów genów sugerowanych jako warianty związane z ryzykiem rozwoju choroby i dodatkowo również analizy *HLA-DRB1*03*. Badania wykonane ponownie na bardzo dużej liczbie osób (1267 chorych z chorobą Gravesa-Basedowa i 1054 osoby zdrowe) wykazały, że polimorfizm rs3094228 genu *HCP5* występuje częściej u chorych, u których choroba rozwinęła się wcześniej.

Wszystkie wymienione wyżej prace cechują się właściwym doбором wyjątkowo licznych grup badanych oraz zastosowaniem adekwatnych do celu pracy metod badania. Publikacje przedstawione do recenzji stanowią spójną całość. Bardzo wnikliwa analiza wyników, dobór odpowiednich metod statystycznych, krytyczny charakter prowadzonej dyskusji i krytyczna analiza ograniczeń pracy, jednocześnie duża oryginalność badań i prawidłowość wyciąganych wniosków upoważniają do stwierdzenia, że Doktorant jest w pełni przygotowany do planowania i prowadzenia badań naukowych. Przeprowadzone przez



Doktoranta badania są szczególnie ciekawe z punktu widzenia poznawczego ale być może w przyszłości zaowocują też wykorzystaniem praktycznym choćby w prognozowaniu przebiegu choroby. W przyszłych badaniach ciekawe byłoby uwzględnienie analizy predyspozycji wielogenowej do rozwoju choroby Gravesa-Basedowa (o czym Doktorant wspomina) ale w tym przypadku byłby to temat kolejnej dużej pracy, która w chwili obecnej nie jest Doktorantowi potrzebna. Nie mam też żadnych szczególnych uwag do rozprawy może poza jedną, że w tytule też jest mowa o czynnikach środowiskowych a analizowano właściwie jeden czynnik czyli palenie papierosów. O wartości publikacji stanowiących podstawę tej pracy doktorskiej i ich opracowanie stanowi fakt, że zostały one ocenione pozytywnie przez recenzentów artykułów przed ich wydrukiem w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

Rozprawa doktorska lek. Aleksandra Kusia spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. 2016 poz. 882 z późn.zm.), w zw. z art. 179 ust. 1 – Ustawy z dnia 03 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 poz.1669). W związku z tym wnioskuję do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na nowatorski charakter pracy, nowoczesną metodykę badań i duży wkład Doktoranta w przygotowanie i opracowanie wyników a także fakt, że analizy te zostały opublikowane w renomowanych czasopismach medycznych zwracam się z wnioskiem o wyróżnienie tej pracy.



Poznań, 05.07.2019

prof. dr hab. n. med. Katarzyna Ziemnicka

UNIwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
KATEDRA I KLINIKA ENDOKRYNOLOGII,
PRZEMIANY MATERII I CHOROBY WEWNĘTRZNYCH
SZPITAL KLINICZNY im. H. Święcickiego
60-355 Poznań, ul. Przybyszewskiego 49
tel. 61 867 55 14; 61 869 13 30, fax 61 869 16 82

5 