

Kraków, 25.08.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Filip Gołkowski
Katedra Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych
Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Beaty Polowczyk-Kawałko
**„Ocena stężenia rozpuszczalnego delta-podobnego homologu typu 1 (s(Dlk-1))
u pacjentów z akromegalią”**

Akromegalia jest relatywnie rzadko spotykaną chorobą, jednak ze względu na zakres powikłań układowych i narządowych, wymaga wczesnego rozpoznania, które w wielu przypadkach jest jednak opóźnione. Często przewlekłe leczenie chorych z akromegalią w którym wykorzystywane są metody neurochirurgiczne w skojarzeniu z leczeniem farmakologicznym oraz radioterapią, prowadzone jest w wyspecjalizowanych jednostkach klinicznych, do których należy niewątpliwie Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, kierowana przez profesora Marka Bolanowskiego. Przedstawiona do oceny praca została przygotowana w wyżej wymienionej Klinice, a jej promotorem jest profesor Marek Bolanowski, ekspert w zakresie chorób przysadki, co stworzyło niewątpliwie warunki do powstania wartościowej pracy badawczej. Pomimo wypracowania globalnych standardów w obszarze rozpoznawania i optymalnej terapii w tej grupie chorych, prowadzenie badań pogłębiających wiedzę o patomechanizmach prowadzących do rozwoju i powikłań choroby, jest nadal bardzo istotne nie tylko z poznawczego, ale również klinicznego punktu widzenia. Delta-podobny homolog typu 1 (Dlk-1) w formie transbłonowej wraz ze swoją rozpuszczalną formą (sDlk-1), odgrywa rolę między innymi w kontroli procesów proliferacji i różnicowania komórek. U ludzi ekspresja Dlk-1 jest największa w okresie embrionalnym oraz płodowym, natomiast w organizmach dorosłych jest ograniczona do narządów o charakterze neuroendokrynnym. W obrębie przysadki współwystępuje z hormonem wzrostu w komórkach somatotropowych. Podobieństwa stwierdzano także w procesie powstawania

formy rozpuszczalnej (sDlk-1) oraz uwalnianiu białka wiążącego hormon wzrostu. Efekt działania Dlk-1 oraz hormonu wzrostu jest podobny w zakresie hamowania różnicowania tkanki tłuszczowej. Znaczenie Dlk-1 jako markera nowotworów jest obecnie przedmiotem badań, z uwagi na obserwacje jego wyższego stężenia w surowicy krwi w rakach kory nadnerczy, wątrobowokomórkowym, okrężnicy, trzustki oraz sutka. W zakresie guzów przysadki wysoką ekspresję DLK-1 stwierdzono jedynie w guzach somatotropowych oraz w niektórych guzach prolaktynowych.

Lek. Beata Polowczyk-Kawałko postawiła sobie jako cele pracy 5 zagadnień, którymi były:

1. Ocena stężenia sDlk-1 w krążeniu obwodowym osób chorujących na akromegalię w porównaniu do osób w grupie kontrolnej.
2. Ocena stężenia sDlk-1 na różnych etapach akromegalii.
3. Analiza potencjalnego związku stężenia sDlk-1 z gospodarką węglowodanową i lipidową w akromegalii.
4. Analiza zależności stężenia sDlk-1 z wykładnikami zawartości tkanki tłuszczowej oraz beztłuszczowej masy ciała ocenianych metodą DXA.
5. Ocena wpływu stosowania analogów somatostatyny na stężenie sDlk-1 w krążeniu osób z akromegalią.

Wybór tematyki pracy jest uzasadniony nie tylko z perspektywy naukowej, ale również praktycznej. Analiza czynników wpływających na zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej w przebiegu akromegalii oraz poszukiwanie wyznaczników skuteczności terapii u tych chorych, jest aktywnością badawczą mogąca przyczynić się nie tylko do lepszego poznania patomechanizmów choroby, ale także optymalizacji jej leczenia.

Przedstawiona do oceny rozprawa liczy łącznie 78 stron i posiada układ typowy dla pracy doktorskiej. Tekst pracy poprzedzony jest wykazem skrótów stosowanych w pracy, wykazem tabeli i rycin oraz spisem treści. Pracę podzielono na 9 rozdziałów zatytułowanych: Wstęp, Założenia i cele pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie, Summary oraz Piśmiennictwo. W zakresie układu pracy i podziału struktury treści pewne zastrzeżenia może budzić fakt wyodrębnienia w zakresie podrozdziału 3.1. tylko jednego podrzędnego podrozdziału. W tekście pracy umieszczono 17 tabel oraz 11 rycin.

Proporcje części opisowej do części badawczej oraz objętości poszczególnych rozdziałów są poprawne. Wykaz piśmiennictwa, obejmujący 109 pozycji ułożonych w kolejności

ukazywania się w tekście, został sporządzony bez istotnych błędów i z należą starannością w zakresie jednolitości przedstawiania danych bibliograficznych. Stwierdzono jedynie bardzo drobne uchybienia formalne w postaci dodatkowych spacji pomiędzy kolejnymi liczbami precyzującymi miejsce publikacji w czasopiśmie (poz. 1, 2), które nie występują w pozostałych pozycjach. Dobór licznych pozycji literatury naukowej i zasadność ich wykorzystania w pracy oceniam pozytywnie.

We wstępie liczącym 18 stron, Doktorantka przedstawiła stan aktualnej wiedzy w zakresie dotyczącym tematyki pracy doktorskiej opierając się na nowoczesnym piśmiennictwie światowym oraz krajowym. Rozdział, podzielony na 7 podrozdziałów, napisany jest przejrzysto i zawiera ogólną informację o akromegalii, a następnie przedstawienie charakterystyki i roli fizjologicznej hormonu wzrostu, charakterystyki IGF-1 oraz omówienie zaburzeń endokrynych i metabolicznych w akromegalii. W kolejnych podrozdziałach Doktorantka skupiła się na charakterystyce tkanki tłuszczowej oraz omówieniu znaczenia biologicznego Dlk-1. Zakres oraz sposób przedstawienia podstaw wiedzy dotyczącej tematu pracy wskazuje na gruntowne przygotowanie i znajomość tematyki rozprawy.

Założenia i cele pracy sformułowano precyzyjnie i przedstawiono w sposób jednoznaczny. Ich dobór jest interesujący z naukowego punktu widzenia oraz wskazuje na dążenie Doktorantki do uzyskania wyników o charakterze nie tylko poznawczym, ale również mogącym mieć znaczenie w aspekcie klinicznym.

Materiał i metodykę badań przedstawiono w kolejnym rozdziale, podzielonym na trzy podrozdziały, poświęcone kolejno charakterystyce badanej grupy, stosowanym metodom antropometrycznym i laboratoryjnym oraz statystycznym. Ta część pracy obejmuje 8 stron rozprawy doktorskiej. Badania dotyczyły 122 pacjentów (54 kobiet, 29 mężczyzn) z rozpoznaną akromegalią w wieku 25-82 lat, hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami w latach 2017-2019. Należy podkreślić, że w obliczu rzadkości występowania akromegalii, Autorce udało się zgromadzić relatywnie liczną grupę chorych. Grupę kontrolną stanowiło 39 osób (28 kobiet i 11 mężczyzn) w wieku 21-79 lat bez zaburzeń wydzielania hormonu wzrostu, u których nie stwierdzono chorób mogących wpływać na stężenie sDlk-1, z wyjątkiem zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Doktorantka określiła przyjęte kryteria włączenia do badania, a dokładną charakterystykę badanych zaprezentowano w formie tekstowej, tabelarycznej oraz za pomocą rycin.

W rozdziale zawarto również informacje o podziale grupy pacjentów z akromegalią na podgrupy w zależności od stanu wyrównania choroby, zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego oraz Endocrine Society Clinical Practice Guideline. Wyszczególniono w ten sposób podgrupę: AA, którą stanowili chorzy z aktywną akromegalią (19,3%); AK, którą stanowili pacjenci z chorobą kontrolowaną za pomocą farmakoterapii (55,4%); AW, którą stanowili chorzy, u których stan choroby kontrolowanej uzyskano już po zabiegu neurochirurgicznym (25,3%). Taki podział badanych potwierdza związek prowadzonych badań ze stanem klinicznym pacjentów, określanym na tak istotnej w akromegalii stratyfikacji uzyskanego stanu wyrównania choroby. Charakterystyki wymienionych podgrup przedstawiono czytelnie w trzech tabelach. Dodatkowo wyodrębniono również podgrupę AS, którą stanowili wszyscy pacjenci leczeni w trakcie obserwacji analogami somatostatyny (62,7%). Kolejne przekroje grupy badanej i kontrolnej wykonane zostały w zależności od parametrów metabolicznych i w ten sposób wyodrębniono podgrupy chorych z cukrzycą, stanem przedcukrzycowym, insulinoopornością, zaburzeniami lipidowymi oraz nadwagą i otyłością. Doktorantka podała w formie tekstowej kryteria zaliczenia do poszczególnych podgrup.

W rozdziale poświęconym metodyce w stopniu wystarczającym opisano stosowane metody badawcze, w szczególności pomiary antropometryczne oraz procedurę oznaczeń laboratoryjnych. Autorka umiejętnie zastosowała w swoich badaniach metody i narzędzia badawcze adekwatne do założonych celów. Uzasadnienie doboru stosowanych metod statystycznych, ujęte w odrębnym podrozdziale, nie budzi istotnych zastrzeżeń.

Prezentacja uzyskanych wyników badań oraz analizy statystycznej zawarta jest w stosownym rozdziale o objętości 9 stron. Do przedstawienia wyników Doktorantka wykorzystała 12 tabel oraz 5 rycin, które oceniam jako przejrzyste i zawierające istotne dla wnioskowania dane. Wśród badanych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu sDlk-1 w surowicy krwi pomiędzy grupą z akromegalią oraz grupą kontrolną, pomiędzy podgrupami AA, AW oraz AS, ani w porównaniu chorych leczonych i nieleczonych analogami somatostatyny. Wykazano natomiast różnicę w stężeniach sDlk-1 w surowicy krwi pomiędzy grupą kontrolną a pacjentami z akromegalią i jednocześnie cukrzycą, insulinoopornością, nadwagą, otyłością oraz hipercholesterolemią. Stwierdzono również dodatnią korelację pomiędzy stężeniem sDlk-1 w surowicy krwi a procentową zawartością tkanki tłuszczowej w badaniu DXA zarówno w grupie chorych z akromegalią

jak i w grupie kontrolnej. Podobnej korelacji nie wykazano pomiędzy stężeniem sDlk-1 a stężeniem hormonu wzrostu i IGF-1.

W liczącej 13 stron Dyskusji Doktorantka dokonała analizy uzyskanych wyników oraz porównała je z wynikami innych autorów uzyskanymi w badaniach dotyczących sDlk-1 w zróżnicowanych grupach pacjentów. Zwraca uwagę szerokie i wnikliwe omówienie kolejno wszystkich istotnych wyników własnych badań z widocznym dążeniem do przedstawienia ich interpretacji przydatnej w pracy klinicznej. Wybór pozycji piśmiennictwa, z uwzględnieniem najnowszych publikacji, oceniam jako właściwy. Sposób przedstawiania argumentów oraz wnioskowania potwierdza znajomość literatury naukowej, gruntowną wiedzę w zakresie tematyki rozprawy doktorskiej oraz dobre przygotowanie do pracy naukowej. W kończącym rozdział podrozdziale Ograniczenia badania lek. Beata Polowczyk-Kawałko wskazała na niewielką liczebność badanej grupy, co może zmniejszać moc statystyczną analiz. Należy jednak zauważyć, że przy małej liczebności chorych na akromegalię w populacji, to ograniczenie jest trudne do uniknięcia. W podrozdziale Doktorantka zwróciła również uwagę na statystycznie istotną różnicę wieku osób z grupy badanej i kontrolnej, wskazując równocześnie, że publikacje innych autorów, dotyczące związku stężenia sDlk-1 w surowicy krwi z wiekiem po okresie pokwitania, pozostają sprzeczne. W badaniach prowadzonych przez Autorkę nie stwierdzono korelacji stężenia sDlk-1 w surowicy krwi z wiekiem. Oczywistym ograniczeniem szerszego wnioskowania pozostaje oznaczanie w badaniu tylko rozpuszczalnej formy Dlk-1 osoczu. Przedstawione przez Doktorantkę ograniczenia badania świadczą o świadomości badacza w aspekcie ostrożności formułowania wniosków.

Posumowaniem pracy jest 6 wniosków, wynikających z tekstu pracy oraz wykazujących spójność z założonymi na wstępie celami pracy. Struktura wniosków jest wystarczająco zwięzła. W aspekcie klinicznym, co znalazło odzwierciedlenie we wnioskach, Doktorantka wykazała, że wyniki uzyskane z obserwacji badanej grupy, nie dostarczają argumentów, aby traktować stężenie sDlk-1 w surowicy krwi jako marker aktualnej aktywności guza przysadki typu somatotropinoma oraz twierdzić, że na to stężenie wpływa leczenie analogami somatostatyny.

Oceniana rozprawa doktorska charakteryzuje się staranną formą oraz dbałością o utrzymanie jednorodnego sposobu prezentowania wyników badań w postaci czytelnych tabel i rycin. Całość pracy charakteryzuje się poprawnością formalno-językową, stylistyczną i interpunkcyjną. Stwierdziłem jedynie bardzo nieliczne i stosunkowo mało istotne uchybienia

formalne. W wykazie skrótów stosowanych w pracy (strony 4-5) terminy w języku obcym zalecałbym pisanie z użyciem czcionki pochyłej. W wykazie tabel i rycin (strona 6) po „Tabela 1” nie zastosowano kropki jak w przypadku pozostałych tabel. Podobnie na stronie 9 w tytule podrozdziału napisano „1.1 Akromegalia” bez kropki po drugiej cyfrze, jak stosowano w innych przypadkach. W całości tekstu stosowano jednocześnie dwie metody oddzielania akapitów, przez wcięcie pierwszego wiersza oraz dodatkowo odstęp. Sugerowałbym stosowanie tylko jednej z tych metod. Wymienione minimalne uchybienia formalne nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej pracy.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny oryginalna praca stanowi samodzielny fragment badań naukowych, stanowiący istotny wkład w wiedzę o patomechanizmach zaburzeń występujących w akromegalii oraz ewaluację przydatności oznaczeń stężenia sDlk-1 w surowicy krwi w diagnostyce i monitorowaniu leczenia chorych.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz. U. 2018 poz. 1668).

Zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Beaty Polowczyk-Kawałko do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz wnioskuje o wyróżnienie recenzowanej pracy.



Prof. dr hab. n. med. Filip Gołkowski