



UNIwersytet Medyczny Im. Karola Marcinkowskiego  
W POZNANIU

**KATEDRA I KLINIKA ENDOKRYNOLOGII, PRZEMIANY MATERII  
I CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH**

Kierownik Katedry i Kliniki - Prof. dr hab. n med. Marek Ruchała

ul. Przybyszewskiego 49  
60-355 Poznań

tel. 61 869 13 30  
fax. 61 869 16 82

endosk2@ump.edu.pl

---

Dr hab. n. med. Ewelina Szczepanek-Parulska Prof. UMP

Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Przybyszewskiego 49

60-355 Poznań

Poznań, 6.05.2019r.

Ocena rozprawy doktorskiej **lek. Łukasza Mizery**

z Katedry i Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

na podstawie rozprawy:

**„Badania hormonalnej funkcji mięśni u pacjentów z akromegalią**

**w aspekcie zaburzeń metabolicznych”**

**(Promotor: Prof. dr hab. n. med. Jacek Daroszewski)**

Akromegalia jest chorobą związaną z ekspozycją na nadmierne stężenia hormonu wzrostu, najczęściej rozwijającą się na podłożu hormonalnie czynnego gruczolaka przysadki. Charakteryzuje się objawami wynikającymi z nadmiernego rozrostu tkanek miękkich takich jak powiększenie dystalnych części ciała, zmiana rysów twarzy oraz organomegalia, objawami ogólnymi jak nadmierna potliwość i bóle głowy, czy wynikającymi z rozrostu guza (zaburzenia pola widzenia), w tej chorobie obserwuje się również szereg konsekwencji metabolicznych. Do najpowszechniejszych należą zaburzenia gospodarki węglowodanowej oraz procesów związanych z przemianą lipidów. Ponadto, w przebiegu akromegalii obserwuje się zmiany w zakresie składu ciała, zachodzące w wyniku lipolitycznego działania hormonu wzrostu oraz anabolicznego na tkankę mięśniową. Ponadto, w przebiegu akromegalii obserwuje się zmiany w zakresie składu ciała, zachodzące w wyniku działania hormonu wzrostu - lipolitycznego na tkankę tłuszczową oraz anabolicznego na tkankę mięśniową. Co więcej, nieleczona bądź źle kontrolowana akromegalia prowadzi do znaczącego skrócenia długości życia, a choroby układu sercowo-naczyniowego stanowią wiodącą przyczynę chorobowości i śmiertelności w tej grupie pacjentów. A zatem poznanie mechanizmów sprzyjających występowaniu zaburzeń metabolicznych u tych chorych ma istotne znaczenie nie tylko z punktu widzenia poznawczego ale również może mieć przełożenie na praktyczne zalecenia dotyczące zmiany stylu życia ale także otwiera możliwości powstania nowych opcji terapeutycznych.

W ostatnich latach wiele badań wskazuje, iż korzystny efekt zdrowotny aktywności fizycznej może wynikać również z faktu, iż ruch jest czynnikiem stymulującym wydzielanie przez mięśnie do krwiobiegu wielu substancji aktywnych zwanych miokinami. Postuluje się, iż mogą one wywierać pozytywny efekt metaboliczny i oddziaływać w sposób istotny na szereg przemian w organizmie. Niezwykle inspirującym dla badaczy jest, obecnie często przywoływane, zjawisko „dialogu” pomiędzy tkanką mięśniową i tłuszczową, w której mediatorami (jak słusznie zauważa w swojej pracy Doktorant) mogą być właśnie irisina i miostatyna. Miokiny stały się również przedmiotem zainteresowania ze względu na światową epidemię otyłości, z jaką obecnie mamy do czynienia. Wiąże się to z nadziejami pokładanymi w potencjalnym zastosowaniu ich pochodnych jako leków. Doktorant jak i Promotor są w pełni świadomi ważkości tego problemu, czym przekonująco uzasadniają we wstępie pracy podjęcie się tej tematyki badań, przytaczając dane statystyczne dotyczące rosnącej częstości występowania otyłości w ostatnich latach i niekorzystnych prognoz epidemiologicznych w tym zakresie. Na świecie podejmuje się również próby



oceny stężenia oraz wyjaśnienia potencjalnego znaczenia miokina w patogenezie różnych chorób endokrynologicznych. Warto podkreślić, iż punktem wyjścia dla prowadzonych badań dotyczących oceny stężenia wybranych miokina u pacjentów z akromegalią są prace badawcze prowadzone w macierzystym ośrodku Doktoranta oraz korespondują z tematyką działalności naukowo-badawczej Promotora pracy, których celem była wcześniej m. in. ocena stężenia irisiny w innych patologich endokrynologicznych jak zespół Turnera czy zespół policystycznych jajników. Jednocześnie, wpisują się one również w aktualne światowe trendy badawcze w endokrynologii, co stanowi o ich nowatorskim charakterze. Nie opublikowano bowiem jak do tej pory jednak w literaturze danych dotyczących sekrecji irisiny i miostatyny u chorych z akromegalią w kontekście ich związku z profilem metabolicznym i aktywnością choroby oraz w zależności od sposobu leczenia. Przedmiotem recenzowanej pracy jest ocena stężenia dwóch stosunkowo niedawno odkrytych hormonów - irisiny i miostatyny u chorych z akromegalią. Choć rozprawa podlega ocenie jako monografia, pionierski charakter badań i trafność wysuniętych spostrzeżeń rokuje nadzieję na opublikowanie ich w dobrych czasopiśmie naukowych o międzynarodowym zasięgu. A zatem, biorąc pod uwagę powyższe argumenty, wybór tematu rozprawy uważam za słuszny oraz niezwykle interesujący zarówno z naukowego jak i klinicznego punktu widzenia.

Przedstawione mi do oceny opracowanie liczy łącznie 92 strony i zawiera: podziękowania (1 strona), dedykację (1 strona), spis treści (3 strony), wstęp (25 stron), cele i założenia pracy (2 strony), metodykę (3 strony), charakterystykę grupy (4 strony), wyniki (19 stron), dyskusję (18 stron), wnioski (2 strony), streszczenie w języku polskim (2 strony) i angielskim (2 strony), wykaz skrótów (2 strony) oraz wykaz piśmiennictwa (18 stron).

Wstęp stanowi niezwykle dydaktyczne i cenne kompendium wiedzy, dające czytającemu solidną podstawę w postaci dostępnych danych literaturowych, które niezbędne są dla interpretacji i właściwej oceny znaczenia badań Doktoranta w kontekście aktualnej wiedzy w tematyce. Doktorant wykazał się we wstępie rozprawy świetnym teoretycznym przygotowaniem do prowadzenia badań w tym zakresie. Wychodząc od przytoczenia niepokojących statystyk dotyczących pandemii otyłości, Autor płynnie przechodzi do fizjologii i funkcji endokrynnej różnych rodzajów tkanki tłuszczowej oraz tkanki mięśniowej. W dalszej kolejności Doktorant zapoznaje nas ze strukturą, profilem wydzielania oraz aktywnością biologiczną irisiny i miostatyny. Opisuje





szczegółowo również ich oddziaływanie na tkankę tłuszczową, mięśnie, wątrobę i trzustkę. Prezentuje szczegółowo czynniki wpływające na wydzielanie tych miokyn w warunkach fizjologii i patologii a także dotychczas zbadany wpływ wybranych leków na ich sekrecję. Warto podkreślić, że ta część pracy napisana jest dobrze, czyta się ją z zainteresowaniem i świadczy o szerokiej znajomości opracowywanego zagadnienia przez Autora. Płynność odbioru zmniejszają jedynie zdarzające się drobne błędy redakcyjne. W dalszej części wstępu Doktorant przechodzi do charakterystyki jednostki chorobowej, na którą cierpieli pacjenci przez Niego oceniani w ramach badań – akromegalii. Część dotycząca epidemiologii, obrazu klinicznego choroby oraz kryteriów jej rozpoznania Doktorant słusznie przedstawia dość zwięźle, koncentruje się natomiast na powikłaniach metabolicznych choroby, które stanowią przedmiot Jego głównego zainteresowania. Przytacza również w tym miejscu aktualną wiedzę na temat oddziaływania fizjologicznych i ponadfizjologicznych stężeń hormonu wzrostu i insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) na objętość oraz funkcję wydzielniczą tkanki tłuszczowej i mięśniowej.

Cel i założenia pracy przedstawione są w sposób krótki i czytelny oraz pozbawiony błędów redakcyjnych. Podany jest jeden cel ogólny w formie pojedynczego zdania. Po nim następuje wymienienie w 8 numerowanych punktach kolejnych celów, które osobiście dla odróżnienia określiłabym jako szczegółowe cele pracy.

W dalszej części pracy Doktorant przechodzi do opisu metod badawczych. Robi to w sposób jasny i nie budzący zastrzeżeń, wskazując na metody obliczania wskaźników antropometrycznych, oznaczeń parametrów laboratoryjnych oraz oceny insulinooporności i parametrów odzwierciedlających funkcję komórki  $\beta$ . W punkcie dotyczącym analizy statystycznej Doktorant właściwie prezentuje stosowane do obliczeń metody oceny korelacji oraz różnic statystycznych pomiędzy wydzielonymi podgrupami, z zastosowaniem właściwych do tego testów. Poziom analizy wydaje się wystarczający na potrzeby pracy doktorskiej. Zanim jednak wyniki zostaną wysłane do publikacji, proponowałabym rozszerzeniem tych metod np. o analizę wieloczynnikową czy regresję logistyczną, co wzbogaciłoby pracę oraz dostarczyło więcej informacji na temat współzależności pomiędzy potencjalnymi determinantami stężenia irysiny czy miostatyny u chorych z akromegalią.

Następnie Autor przechodzi do charakterystyki grupy badanej i kontrolnej. Grupa badana złożona była z 43 pacjentów z rozpoznaniem akromegalii, podczas gdy grupę kontrolną stanowiło 39 osób zdrowych. Biorąc pod



uwagę rzadkość choroby, grupa badawcza wydaje się, iż ma wystarczającą liczebność dla przeprowadzenia zaplanowanych analiz. Warto jednak z pewnością rozszerzyć grupę w przyszłości i ponowić przeprowadzone analizy na większych kohortach, co może uwypuklić pewne obserwowane zależności balansujące na granicy istotności statystycznej. Oceniając dobór grupy kontrolnej, warto zwrócić uwagę na fakt, iż nie dostała ona odpowiednio dopasowana pod względem wieku (obserwowano istotną statystycznie różnicę pod względem wieku pomiędzy grupą badaną a grupą kontrolną). Biorąc pod uwagę niejednoznaczne doniesienia literaturowe dotyczące wpływu samego wieku na stężenie badanych miokina, należy wskazać ten fakt jako ograniczenie badania. Wydaje się bowiem, iż dobór grupy kontrolnej pod względem wieku i płci wydaje się sprawą o podstawowym znaczeniu i raczej nietrudną do zrealizowania. Autor nie ustrzegł się w tym rozdziale drobnych błędów redakcyjnych. Do najistotniejszych należy zaliczyć wskazanie na s. 34 jako podgrupy SSA(+) i SSA(-) odpowiednio pacjentów przyjmujących i nieprzyjmujących statyn – zapewne Doktorant miał na myśli analogi somatostatyny. Ponadto, na s. 35 pojawiło się dwukrotne powtórzenie tego samego kryterium dyslipidemii aterogennej (stężenie frakcji HDL < 40 mg/dl w przypadku mężczyzn). W ocenie recenzenta zapewne Doktorant w jednym z tych dwóch wersji planował wskazać jakie kryteria zastosował dla kobiet, co jednak ostatecznie nie znalazło się w pracy.

W dalszej części rozprawy Autor przechodzi do zaprezentowania wyników swoich badań. Robi to w sposób czytelny, ilustrując je licznymi tabelami (łącznie 18 w pracy) i rycinami (łącznie 12 w pracy), które w sposób obrazowy prezentują obserwowane przez Autora zależności: stężenie miokina w grupie badanej i kontrolnej, stężenie miokina w zależności od kontroli choroby w grupie badanej, analiza różnic i korelacji stężenia miokina w zależności od występowania zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz w zależności od parametrów antropometrycznych czy stosowanego leczenia. Ponadto, w grupie badanej Autor przeprowadza analizę korelacji stężenia irisiny i miostatyny a stężeniem GH i IGF-1. Zarówno w grupie kontrolnej jak i badanej nie obserwowano jednak istotnej zależności pomiędzy stężeniem irisiny i miostatyny.

Niestety, na równie pozytywną ocenę jak wartość merytoryczna dysertacji, nie w pełni zasługuje estetyka rozprawy i jej opracowanie edytorskie. Poruszanie się w obrębie tekstu i jego odbiór estetyczny nieco utrudnia fakt, iż tekst wyrównany jest jedynie do lewej krawędzi. Tymczasem, w mojej ocenie lepsze byłoby wyrównanie





(wyjustowanie tekstu) obustronnie (do lewego i prawego marginesu). Stosowanie skrótów wywodzących się z języka angielskiego (np. WAT dla białej tkanki tłuszczowej) w ocenie recenzenta winno wiązać się z przytoczeniem angielskiego rozwinięcia skrótu w momencie jego wprowadzania w tekście. Tymczasem zostało to przez Autora pominięte. Ponadto w pracy pojawiają się dość liczne błędy stylistyczne, a także interpunkcyjne i literowe, m. in. (na przykładowych dwóch stronach pracy):

- s. 6 „O ile pojemność magazynu energii w postaci węglowodanów jest u ssaków ma dość ściśle określony limit...”

- s. 6 – słowo unikalną zamiast unikatową

- s. 6 – układu iimmunologicznego

- s.7 – „BAT uczestniczy w termogenezie oraz jest tkanką a efektorową...”

- s. 7 – ‘determinant dla sukcesu ewolucyjnego’ – powinno być bez słowa „dla”

- s. 7 – jednie zamiast jedynie

- s. 7 – umożliwiającą zamiast umożliwiających

- s. 7 – „Odmienna funkcja znajduje odzwierciedlenie w odmiennej charakterystyce...” – powtórzenie


itp.

Niektóre zdania są wielokrotnie złożone (np. obejmują 5-6 wersów), co nieco utrudnia śledzenie wątku.

Na s. 54 Autor przechodzi do omówienia i dyskusji wyników własnych w odniesieniu do danych literaturowych. Dyskusja zagadnień prezentowanych w pracy prowadzona jest w oparciu o imponującą liczbę 261 pozycji piśmiennictwa, w ogromnej większości aktualnego (z ostatnich 10-ciu lat) i anglojęzycznego, stanowiących publikacje w czasopismach o międzynarodowym zasięgu. Dobór i opracowanie piśmiennictwa jest bardzo staranne i dokładne, a powiązanie z tekstem prawidłowe. Choć jest to część pracy zwykle najtrudniejsza, Doktorant zdaje w niej egzamin na 5, prowadząc błyskotliwą i dynamiczną dyskusję oraz dokonując próby interpretacji uzyskanych



wyników na tle opisanych przez innych badaczy. Wobec rozległości zagadnień będących przedmiotem rozprawy, niezwykle trafnym posunięciem było podzielenie dyskusji na małe podrozdziały i zastosowanie odpowiednich podtytułów, informujących czytelnika jaki aspekt wyników w danym momencie będzie dyskutowany. Zdecydowanie poprawia to jej czytelność i ułatwia konfrontowanie omawianych danych literaturowych z odpowiednimi aspektami wyników badań Autora. Omawiając wyniki swoich badań Doktorant wykazał się dużą dojrzałością naukową i umiejętnością krytycznego spojrzenia na własne rezultaty. Nie przecenia on ich znaczenia, wskazując na ograniczenia badania, wykazując się przy tym należyłą pokorą i dystansem właściwymi dla wytrawnych badaczy. Potrafi wskazać i podkreślić nowatorskie aspekty swoich badań, dostrzec złożone zależności i umiejętnie skonfrontować wyniki badań uzyskanych zarówno w badaniach eksperymentalnych jak i w warunkach klinicznych. Należy podkreślić, że Doktorant równie swobodnie porusza się w obu tych obszarach, co świadczy o Jego elastyczności i wszechstronności jako naukowca. Ważnym punktem wieńczącym dyskusję jest wymienienie ograniczeń badania, których Autor wydaje się w pełni świadomy, co dyktuje ostrożność w interpretacji obserwowanych przez Niego zależności. Umiejętnie wskazuje on na możliwość zniwelowania przynajmniej części z nich, proponując kierunki w jakich powinny zmierzać przyszłe badania. W tym miejscu wspomnę, iż w pracy zabrakło mi odniesienia do funkcji pozostałych osi przysadkowych. Czy pacjenci mieli współistniejącą niedoczynność przysadki w zakresie pozostałych osi – kortykotropowej, tyreotropowej czy gonadotropowej? Jeśli współistniały tego typu zaburzenia, czy były właściwie kontrolowane i wyrównane substytucją hormonalną? W badaniach zespołu Prof. Marka Ruchały wykazano np. istotny związek pomiędzy stanem tyreometabolicznym a stężeniem irisiny - stężenie irisiny jest niższe w niedoczynności tarczycy w porównaniu do osób w eutyreozy czy z nadczynnością. Badania na zwierzętach i najnowsze badania kliniczne wskazują, iż stężenie hormonów tarczycy może być także jednym z istotnych determinantów stężenia miostatyny. A zatem wykluczenie dysfunkcji tarczycy powinno być jednym z istotnych kryteriów włączenia do badania. W stosunku do wstępu, w dyskusji błędów literowych jest znacząco mniej, przez co ta część sprawia wrażenie bardziej dopracowanej. Pracę wieńczy rozdział, w których Autor prezentuje wnioski płynące ze swojego badania. Na pochwałę zasługuje fakt, iż nie są one prostym powtórzeniem wyników, ale próbą ich interpretacji i nadania znaczenia uzyskanym rezultatom. Zawarto je w ośmiu punktach, co wydaje się liczbą adekwatną w stosunku do złożoności poruszanych w pracy zagadnień. Ponadto



7



stwierdzam, iż wnioski te wypływają z wyników uzyskanych przez Doktoranta oraz są właściwą odpowiedzią na pytania badawcze sprecyzowane w szczegółowych celach pracy. Podsumowując najistotniejsze obserwacje poczynione przez Doktoranta w ramach prowadzonych badań, pozwolę sobie przytoczyć w kolejnych zdaniach najistotniejsze z nich. Stężenie irisiny jest obniżone u chorych z akromegalią, podczas gdy stężenie miostatyny nie wykazywało istotnych różnic w stosunku do grupy kontrolnej. Stężenia badanych miokina nie wykazują również istotnej wzajemnej zależności. Stężenie irisiny nie zależy w sposób bezpośredni od poziomu GH czy IGF-1, podczas gdy miostatyna korelowała ze stężeniem GH. Stężenia obu miokina wykazywały ujemną korelację z insulinoopornością. Co ciekawe, stężenia irisiny wykazywały zależność z występowaniem niekorzystnego profilu lipidowego związanego z niekorzystnym rokowaniem co do incydentów sercowo-naczyniowych w tej grupie. Spośród analizowanych parametrów antropometrycznych, jedynie miostatyna pozytywnie korelowała z rozkładem tkanki tłuszczowej u chorych z akromegalią. Nie zaobserwowano natomiast istotnego związku stężenia badanych miokina ze stosowaniem statyn czy analogów somatostatyny. Analiza składu ciała potwierdziła znane już z literatury obserwacje o wyższej beztłuszczowej masie ciała u chorych z akromegalią w porównaniu do osób zdrowych, a różnice te są szczególnie wydatne w podgrupie pacjentów z nie w pełni kontrolowaną chorobą.

Streszczenia w sposób właściwy i zwięzły podsumowują najważniejsze założenia, wyniki i wnioski płynące z publikacji. Choć streszczenie w języku angielskim (podobnie jak polskie) nie budzi zastrzeżeń co do treści merytorycznych, niewłaściwe zastosowanie słów z apostrofami (it's zamiast its oraz What's more zamiast What is more) sprawia, że jego styl odbierany jest jako mniej profesjonalny. Niestety, na krytyczną uwagę zasługuje również konstrukcja wykazu skrótów. Zwykle w tego typu opracowaniach skróty prezentowane są w kolejności alfabetycznej lub w kolejności pojawiania się w tekście. Tymczasem analiza listy skrótów zaproponowana przez Doktoranta, nie wskazuje na żadną z tych technik, przez co dobór i kolejność skrótów na liście wydaje się nieco przypadkowa. Tym bardziej, że wiele skrótów używanych przez Doktoranta w rozprawie nie jest na tej liście wymieniona. Część skrótów nie jest wyjaśniona w momencie ich wprowadzenia w tekście a część (jak Ir dla irisiny) wprowadzona jest dwukrotnie.





Pragnę jednak podkreślić, że przedstawione przeze mnie uwagi wynikają z obowiązku recenzenta, jednak nie rzutują w bardzo istotny sposób na wartość merytoryczną pracy przedłożonej mi do recenzji. Jednocześnie nie wnoszę uwag krytycznych co do kluczowych kwestii jak zasadność podejmowanych badań, toku ich przeprowadzenia, dobór metod badawczych, wyniki oraz ich opracowanie, interpretacja i dyskusja oraz wnioski końcowe. Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny publikacja stanowiąca podstawę do ubiegania się o stopień doktora nauk medycznych została dobrze zaplanowana i zrealizowana. Całość pracy świadczy o tym, że Doktorant potrafi postawić nowatorskie pytania badawcze i konsekwentnie przeprowadzić badania naukowe w celu kompleksowego ich wyjaśnienia, co wskazuje na opanowanie warsztatu naukowego przez Doktoranta. Wyniki pracy uważam za bardzo wartościowe w świetle najnowszego piśmiennictwa światowego, zarówno w aspekcie poznawczym jak i praktycznym. Wnikliwa analiza wyników, krytyczny charakter prowadzonej dyskusji i prawidłowość wyciąganych wniosków upoważniają do stwierdzenia, że Doktorant jest przygotowany do planowania i prowadzenia badań naukowych.

Pozytywnie oceniając przedstawioną mi rozprawę stwierdzam, iż odpowiada ona wymogom stawianym do uzyskania stopnia doktora nauk medycznych i w związku z tym mam zaszczyt wnieść do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 6.05.2019r.



Ewelina Szczepanek-Parulska

Dr hab. n. med.  
Ewelina Szczepanek-Parulska Prof. UMP  
specjalista endokrynologii  
i chorób wewnętrznych  
PWE-750333