

Dr hab. n. med. Dariusz Kajdaniuk
Zakład Patofizjologii
Katedra Patofizjologii i Endokrynologii
Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Zabrze, 04.11.2019 r.

Ocena

rozprawy doktorskiej lekarz Jowity Halupczok-Żyła

pt. Ocena układu osteoprotegeryna/ligand receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa B i stężenia sklerostyny oraz ich związku z zagrożeniem wystąpienia złamań u pacjentów z akromegalią

Rozprawa doktorska przedłożona przez lekarz Jowitę Halupczok-Żyła pochodzi z Katedry i Kliniki Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, placówki znanej i cenionej nie tylko z powodu wysokiego profesjonalizmu w zakresie leczenia chorób gruczołów dokrewnych, ale również z powodu prowadzenia szeroko zakrojonych wielokierunkowych badań dotyczących różnych aspektów endokrynologii.

Akromegalia jest rzadką chorobą spowodowaną nadmiernym wydzielaniem hormonu wzrostu (GH), zwykle przez guz przysadki. Rozpoznanie jest najczęściej stawiane z opóźnieniem, w związku z czym często dochodzi do rozwoju różnych powikłań choroby będących przyczyną zwiększonego zagrożenia przedwczesnym zgonem. Oznaczenie stężenia insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) i GH we krwi zaliczane są do podstawowej diagnostyki biochemicznej. Diagnostyka szczegółowa obejmuje ocenę czynności większości osi hormonalnych, a także ocenę ukierunkowaną na powikłania akromegalii, w tym te obejmujące układ ruchu – kości, stawy i mięśnie. Leczeniem z wyboru jest wybiórcze usunięcie gruczolaka przysadki z dostępu przez zatokę klinową, u większości pacjentów po przygotowaniu farmakologicznym. U chorych, u których leczenie neurochirurgiczne było nieskuteczne, należy stosować przewlekłe leczenie, w pierwszej kolejności analogami somatostatyny pierwszej generacji. W leczeniu drugiego rzutu należy rozważyć pasyreotyd, pegwisomant, kabergolinę lub ich kombinacje. W każdym przypadku chorych należy objąć obserwacją przez całe życie w celu monitorowania i aktywnego leczenia następstw akromegalii. Powyższe zalecenia Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego, opublikowano w 2019 roku w Endokrynologii Polskiej.

W ostatnich latach intensywnie zgłębianym kierunkiem badawczym jest patofizjologia osteoporozy wtórnej, a odkrywanie jej patomechanizmów uwarunkowanych przecież różnorodną etiologią jest sporym wyzwaniem dla badaczy. Akromegalia jest jedną z chorób ogólnoustrojowych, charakteryzujących się zwiększonym obrotem kostnym i może stanowić jedną z przyczyn wtórnej osteoporozy. U pacjentów z akromegalią obserwuje się zwiększone ryzyko złamań kręgow, nawet w przypadku prawidłowych wartości BMD. Doktorantka założyła tezę o udziale układu osteoprotegeryna/ligand receptora aktywującego czynnik jądrowy κ B (RANK-L) i sklerostyny (SCL) w regulacji procesów związanych z przebudową tkanki kostnej u pacjentów z akromegalią. SCL jest przede wszystkim inhibitorem kościotworzenia, a system OPG/RANK-L uczestniczy w regulacji resorpcji tkanki kostnej. RANK-L stymuluje resorpcję tkanki kostnej, natomiast OPG, będąc

rozpuszczalnym receptorem dla RANK-L, hamuje ten proces. W powyższym kontekście, temat dysertacji doktorskiej lekarz Jowity Halupczok-Żyła dotyczy zagadnienia aktualnego, wręcz nowatorskiego i ambitnego. Autorka jako pierwsza zajęła się zbadaniem związku pomiędzy stężeniem SCL z BMD i ryzykiem złamań u pacjentów z akromegalią. Analizowane zależności pomiędzy składowymi układu OPG/RANK-L, a osią GH/IGF-1 opisywano dotychczas jedynie w nielicznych pracach, a Autorka podjęła próbę ich weryfikacji w kontekście patofizjologicznym i powiązania z aspektem klinicznym i praktycznym.

Opracowanie i zrealizowanie przez Doktorantkę tak skonstruowanego programu badawczego z zakresu endokrynologii świadczy o Jej sprecyzowanych zainteresowaniach i posiadanych umiejętnościach naukowych i klinicznych.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska liczy 118 stron i została podzielona na klasyczne rozdziały stosowane w tego typu opracowaniach.

Rozpoczyna ją strona tytułowa. Tytuł w jasny sposób oddaje ogólny cel jaki postawiła sobie Autorka dysertacji.

Po stronie tytułowej następują podziękowania dla Promotora - Profesora Marka Bolanowskiego, Promotora pomocniczego – Doktor Aleksandry Jawiarczyk-Przybyłowskiej, i Bliskich Doktorantce osób.

Spis treści (3 strony) jest czytelny i stanowi odzwierciedlenie podziału rozprawy na rozdziały.

Przejrzysty Wykaz Używanych Skrótów i Akronimów zajmuje 1 stronę, a Spis Tabel i Rycin zajmuje 2 strony.

Wstęp obejmuje 17 stron, zawiera też 1 tabelę, w której przedstawiono objawy kliniczne i powikłania akromegalii. Wstęp rozpoczyna ogólny komentarz Autorki na temat akromegalii w kontekście aktualnych trendów naukowych w medycynie teoretycznej i klinicznej. Część ogólna pojawia się potem jeszcze w kilku odsłonach (podrozdziały o diagnostyce, leczeniu i rokowaniu), za każdym razem na bardzo wysokim edukacyjnym poziomie, co nie dziwi, choćby z uwagi na osobę Promotora – eksperta w tej dziedzinie. W części szczegółowej wpieryw omówiono wpływ akromegalii na układ kostny. Z tego dobrze przemyślanego fragmentu tekstu wynika dla mnie jedno z uzasadnień dysertacji. Wskaźniki BMD i TBS (choć nowatorski) nie wystarczają jednak do oceny jakości kośćca u chorych na akromegalię. Badania biochemiczne stanowią tu więc istotne klinicznie dopełnienie tej oceny. Autorka przytacza też dane z ostatnich badań epidemiologicznych, w których wykazano wydłużenie życia chorych na akromegalię z jednoczesnym wzrostem częstości zgonów z powodu nowotworów. Rozbieżność ta jest najpewniej pozorna, i może wynikać z faktu, że u ludzi długo żyjących jedną z częstszych przyczyn zgonów są nowotwory. Lektura Wstępu skłania do wielu przemyśleń patofizjologicznych. W kontekście tematu rozprawy, dla mnie najciekawszym fragmentem Wstępu był ten o sklerostynie w jej szerokim znaczeniu endokrynologicznym. SCL poza hamowaniem kościotworzenia odgrywa również rolę w procesie resorpcji kości. Mniejsza aktywność markerów kościotworzenia jest zrozumiałym wynikiem działania SCL. U zdrowych kobiet w wieku zarówno przed, jak i pomenopauzalnym SCL wykazuje odwrotną zależność w stosunku do estradiolu, niezależnie od wieku. Można więc wnioskować, że SCL ma znaczenie w osteoporozie pomenopauzalnej związanej z niedoborem estrogenów. Interesujące, że glikokortykoidy (GCS) zwiększają syntezę sklerostyny – czy to jest nowy mechanizm osteoklastogenezy wywoływanej przez egzogenne GCS? GKS pobudzają ponadto syntezę RANK-L oraz hamują produkcję OPG w osteoblastach, co może częściowo tłumaczyć ich indukujący wpływ na resorpcję kości. Takiego zjawiska nie da się jednak odnieść do hiperkortyzolemii endogennej. Autorka słusznie według mnie tłumaczy ten aspekt pozornej (?) rozbieżności wskazując na możliwość pojawienia się mechanizmów regulacyjnych w hiperkortyzolemii endogennej. Autorka wskazuje więcej ciekawych obszarów klinicznych. Wyższe stężenie SCL we krwi występuje u pacjentów ze szpiczakiem plazmocytowym

łącznie z wyższymi wartościami RANK-L i niższymi osteoprotegeryny (inhibitora RANK-L). Szpiczak plasmocytowy jest klasycznym przykładem hiperkalcemii PTH-niezależnej. Czy taka „gra” endokrynną prowadzi do progresji choroby i nasilenia destrukcji kośćca? Z kolei wysokie stężenie OPG we krwi związane z nadczynnością tarczycy może odzwierciedlać zwiększony obrót kostny. Autorka w zajmujący sposób opisuje relacje pomiędzy badanymi przez siebie parametrami. Przedstawia jasno mechanizmy uczestniczące w metabolizmie kości u pacjentów z akromegalią. Wstęp zawiera więc niezbędne do realizacji celów pracy wprowadzenie i odpowiednie definicje. Wywody i przemyślenia Autorki prezentowane w tym rozdziale są ułożone logicznie i konsekwentnie prowadzą do założeń i celów pracy. Wstęp oceniam bardzo wysoko.

Założenia pracy prowadzą do sformułowania zasadniczych Celów dysertacji (1 strona), a są nimi: 1. Ocena stężenia SCL, OPG i RANK-L w zależności od aktywności akromegalii oraz analiza związku między stężeniem SCL, OPG i RANK-L a stężeniem GH i IGF-1 u osób chorujących na akromegalię; 2. Analiza związku między stężeniem SCL, OPG i RANK-L a BMD w zakresie odcinka lędźwiowego kręgosłupa i szyjki kości udowej oraz 10-letnim prawdopodobieństwem głównego złamania i złamania szyjki kości udowej u pacjentów z akromegalią; 3. Ocena BMD w zakresie odcinka lędźwiowego kręgosłupa i szyjki kości udowej oraz 10-letniego prawdopodobieństwa głównego złamania i złamania szyjki kości udowej w zależności od aktywności akromegalii; 4. Analiza zależności między stężeniem GH i IGF-1 a BMD w zakresie odcinka lędźwiowego kręgosłupa i szyjki kości udowej oraz 10-letnim prawdopodobieństwem głównego złamania i złamania szyjki kości udowej.

Rozdział Materiał i Metody (11 stron) ma typowy układ, zawarto w nim też 5 tabel przedstawiających ogólną charakterystykę badanych grup i sposoby leczenia. Materiał kliniczny był właściwy dla realizacji celów zamierzonej pracy. Autorka bardzo dobrze opisała metodologię badania. Do podgrupy KA (kontrolowana akromegalia) włączono pacjentów z prawidłowym stężeniem IGF-1 we krwi (maksymalnie do 1,3 górnej granicy normy w odniesieniu do płci i wieku) w trakcie farmakoterapii. Do podgrupy WA (wyleczona akromegalia) włączono pacjentów z prawidłowym stężeniem IGF-1 (maksymalnie do 1,3 górnej granicy normy w odniesieniu do płci i wieku) po skutecznej operacji gruczołaka przysadki. Do grupy AA (aktywna akromegalia) włączono pacjentów z podwyższonym stężeniem IGF-1 (powyżej 1,3 górnej granicy normy w odniesieniu do płci i wieku). Zastanawiałem się czy powyższa granica 1,3 to powszechnie przyjęte kryterium wyleczenia lub kontroli choroby (jeśli tak to dobrze byłoby podać piśmiennictwo) czy też przyjęte przez Doktorantkę. Przyjęte kryteria włączenia przekonują mnie. Wydaje mi się, że dobrze byłoby podać kryteria włączenia osób do grupy kontrolnej. Autorka mogłaby wprowadzić do metodologii definicję głównego złamania. W opisowej charakterystyce badanych dostrzegłem cenną informację kliniczną - cukrzycę stwierdzano u 22% chorych z podgrupy AA, 51% z podgrupy KA (jaki lek podawano?), 12% pacjentów z podgrupy WA i u 13% osób grupy kontrolnej. Analizując dane z Tabeli 5 warto podkreślić, że wszyscy pacjenci leczeni pasyreotydem mieli kontrolowaną chorobę, a u co najmniej 3 kolejnych pacjentów rozważana będzie modyfikacja leczenia – określenie celowości zastosowania pasyreotydu. Metody statystyczne użyte w dysertacji zostały dobrane właściwie.

Rozdział Wyniki (40 stron) zawiera 19 tabel i 30 rycin, które wpleciono w tekst opisujący w części ich zawartość. Rozdział ten zawiera dużą ilość obserwacji statystycznych i porównań. Tę część pracy oceniam wysoko – jest logiczna, zrozumiała, a wcześniej dobrze zostały udokumentowane jej podstawy. Analizując rozdział 4.2.1.2. o korelacjach między stężeniem IGF-1 a 10-letnim prawdopodobieństwem głównego złamania i złamania szyjki kości udowej, zastanawiałem się jak Autorka będzie interpretowała ten wynik, tym bardziej, że statystycznie istotna ujemna korelacja pomiędzy w/w parametrami stwierdzona u pacjentów z akromegalią jest najsilniejsza (umiarkowanie silna) w grupie spełniającej kryteria wyleczenia.

Dyskusja obejmuje 17 stron. Obszerna i rzeczowa dyskusja dowodzi szerokiej i rzetelnej wiedzy Doktorantki dotyczącej poruszanych zagadnień, umiejętności wykorzystania aktualnych danych z piśmiennictwa jak również umiejętności krytycznego rozpatrywania argumentów przemawiających za wnioskami. Ułatwieniem w jej czytaniu byłoby przytaczanie w niektórych miejscach tabel i rycin. Spośród wielu fragmentów dyskusji doceniłem komentarz Autorki związany z 10-letnim prawdopodobieństwem wystąpienia głównego złamania i złamania szyjki kości udowej, oszacowanym za pomocą kalkulatora FRAX. Autorka stwierdziła większe 10-letnie prawdopodobieństwo głównego złamania i złamania w zakresie szyjki kości udowej w grupie pacjentów z akromegalią w porównaniu do grupy kontrolnej. Ryzyko złamań było większe również u pacjentów z chorobą kontrolowaną lub spełniającą kryteria wyleczenia. Autorka powiązała te fakty z zaburzeniami struktury i mikroarchitektury kostnej obecnymi nawet po przywróceniu równowagi w zakresie obrotu kostnego. Doktorantka sugeruje też, zastanowienie się nad włączeniem akromegalii do grupy schorzeń w kalkulatorze FRAX gdyż w jego algorytmie znajduje się pozycja uwzględniająca możliwość występowania wtórnej osteoporozy. Dotychczas nie ma takich wytycznych, pewnie ze względu na brak badań wykorzystujących kalkulator FRAX w akromegalii. Z drobnych uwag, proponowałbym używanie w odniesieniu do korelacji raczej określenia ujemna/dodatnia niż zbyt dosłownego tłumaczenia z języka angielskiego odpowiednio negatywna/pozytywna. Na str. 78 ponadto, omyłkowo napisano grupa GH zamiast GK. Doceniłem podrozdział o ograniczeniach rozprawy doktorskiej. W niewielu dysertacjach, ta część przyjmuje formę tak eksponowaną. Omówienie ograniczeń wskazuje, że Doktorantka, krytycznie podchodzi do analizowanego przez siebie tematu. W Dyskusji Autorka doskonale dobierała dowody, które dokumentują Jej przemyślenia, wybrała z piśmiennictwa najciekawsze fakty, choć z uwagi na skomplikowaną patofizjologię zagadnienia było to trudne.

Proponowane Wnioski w liczbie 7 znajdują oparcie w całości wywodów Doktorantki, a każdy z nich nosi w sobie pierwiastki nowości: 1. Stężenie SCL jest obniżone u chorych na akromegalię, co może wynikać z dysfunkcji osteocytów i zmniejszonej syntezy SCL. Stężenia SCL w akromegalii nie zależą bezpośrednio od nasilenia sekrecji GH i IGF-1 a tym samym aktywności choroby, co przemawia za złożoną patofizjologią zaburzeń funkcji układu kostno-stawowego w tej chorobie; 2. Nie stwierdza się bezpośredniej zależności między stężeniem SCL a BMD, natomiast wzrost stężenia SCL powoduje zwiększenie 10-letniego prawdopodobieństwa głównego złamania i złamania szyjki kości udowej u chorych na akromegalię; 3. Stężenie OPG jest podwyższone w akromegalii, w szczególności u chorych z kontrolowaną farmakologicznie chorobą, co może stanowić mechanizm kompensacyjny w stosunku do utrzymującego się zwiększonego obrotu kostnego. Nie stwierdza się natomiast różnic stężenia RANK-L u chorych z akromegalią i pacjentów z grupy kontrolnej, co może świadczyć, że regulacja procesu osteoklastogenezy w akromegalii odbywa się głównie poprzez kontrolę stężenia OPG; 4. Stężenie OPG w surowicy pacjentów z akromegalią wykazuje negatywny związek ze stężeniem IGF-1, natomiast stężenie RANK-L koreluje z nim dodatnio. Wskazuje to na złożoną rolę IGF-1 w regulacji układu OPG/RANK-L u chorych z akromegalią; 5. Stwierdza się bezpośrednią zależność między stężeniem OPG i RANK-L a BMD. Ponadto przy zwiększonym 10-letnim prawdopodobieństwie głównego złamania i złamania szyjki kości udowej wzrasta stężenie OPG oraz maleje stężenie RANK-L, co przyczynia się do ograniczenia procesu resorpcji kości; 6. Stężenie IGF-1 wykazuje pozytywną zależność z BMD w zakresie odcinka lędźwiowego kręgosłupa i szyjki kości udowej oraz negatywną z 10-letnim prawdopodobieństwem głównego złamania i złamania szyjki kości udowej u chorych z akromegalią, co wskazuje, że anaboliczny wpływ IGF-1 na kości przyczynia się do zmniejszenia ryzyka złamań w akromegalii; 7. 10-letnie prawdopodobieństwo głównego złamania i złamania szyjki kości udowej jest większe u chorych na akromegalię, pomimo podobnych wartości BMD w porównaniu do grupy kontrolnej. Podwyższone ryzyko złamań w akromegalii zapewne może wynikać z zaburzonej mikrostruktury kości, tym samym nieprawidłowej

jakości kości. Do prawie wszystkich wniosków wprowadzono komentarz patofizjologiczny (co mi bardzo odpowiada). Kolejność i numeracja Wniosków koresponduje z taką samą kolejnością Celów, co ułatwiło mi z kolei określenie w jakim stopniu Autorka zrealizowała postawione przed sobą zadania. We wniosku 4 i 6 proponowałbym zmianę określeń „negatywny związek”, „pozytywna/negatywna zależność” na określenie raczej statystyczne tj. odpowiednio na „dodatnia korelacja”, „ujemna korelacja” gdyż ją w istocie tu oceniono, lub określenie bardziej ogólne jak „odwrotna zależność”, choć przyznaję, że w jakimś stopniu akceptuję, dążenie w formułowaniu wniosków do pewnego rodzaju uogólnienia..

Piśmiennictwo, w większości anglojęzyczne, nie pomijając jednak istotnych doniesień polskich składa się z 178 pozycji ułożonych według kolejności alfabetycznej. Dobór piśmiennictwa stoi na bardzo wysokim poziomie. Uzupełnić należy pozycję cytowanego na stronie 81 *Mormando i wsp.* W odniesieniu do pozycji [101] należałoby zaznaczyć, że jest to Supplement A. Powyższy artykuł w języku polskim jest poszerzoną wersją pracy tych samych autorów, która ukazała się w wersji anglojęzycznej w *Endokrynologii Polskiej* 2017; 68 (5): 604-609. Doktorantka cytowała fragment tekstu, który jest w zawarty w wersji pierwotnej więc raczej ta powinna być cytowana. Uwzględnienie w Piśmiennictwie, obok wersji pierwotnej, suplementu jest jednak zasadne jeśli zamiarem Doktorantki było przytoczenie też tych fragmentów tekstu, których nie można znaleźć w numerze podstawowym tego prestiżowego periodyku.

Dysertacja zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim (po 3 strony). Wydaje się, że dysertacja powinna zawierać też słowa kluczowe w obu tych językach. W Streszczeniu, we wniosku 4 i 6 proponowałbym podaną wcześniej zmianę określeń „negatywny związek”, „pozytywna/negatywna zależność” odpowiednio na „dodatnia/ujemna korelacja” gdyż ją w istocie tu oceniono. Uwaga ta nie dotyczy rozdziału Summary.

Rozprawę doktorską czytałem z przyjemnością i dość szybko uświadomiłem sobie, że Autorkę cechuje zarówno dbałość o język i edycję tekstu, jak również dbałość o zawartość merytoryczną publikacji. Pod względem edycyjnym dysertacja jest opracowana bardzo starannie, wręcz perfekcyjnie. Zauważone przez mnie drobne błędy literowe i edycyjne są w tak dużych opracowaniach trudne do uniknięcia.

Przechodząc do zbiorczej oceny rozprawy doktorskiej przedłożonej przez lekarz Jowitę Halupczuk-Żyła stwierdzić trzeba, że dysertacja ta dotyczy zagadnienia niezwykle aktualnego, ważnego i interesującego nie tylko ze względów poznawczych, lecz także – może nawet przede wszystkim ze względów praktycznych, klinicznie użytecznych. Autorka zajmuje się w niej akromegalią, jedną z rzadkich chorób ogólnoustrojowych charakteryzujących się zwiększonym obrotem kostnym. Wydaje się więc, że akromegalia jest jedną z przyczyn wtórnej osteoporozy, a zwiększone ryzyko złamań kręgow obserwuje się nawet w przypadku prawidłowych wartości BMD. Odpowiedź na pytanie dlaczego tak się dzieje może tkwi w poznaniu patomechanizmu tego zjawiska i może być zaskakująca z uwagi na znane przecież anaboliczne działanie GH. Doktorantka postawiła tezę o udziale układu osteoprotegeryna/ligand receptora aktywującego czynnik jądrowy κ B (RANK-L) i sklerostyny (SCL) w regulacji procesów związanych z przebudową tkanki kostnej u pacjentów z akromegalią. Wpisała się w więc w najnowsze trendy badawcze. Jej zasługą jest dokonanie badań znacznie rozszerzających nasz pogląd na patofizjologię układu osteoprotegeryna/ligand receptora aktywującego czynnik jądrowy κ B i sklerostyny. Doktorantka określiła ich związek z BMD i zagrożeniem wystąpienia złamań u pacjentów z akromegalią w zależności od aktywności choroby. Oceniana rozprawa wskazuje na bardzo dobrą ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie endokrynologii, a w szczególności neuroendokrynologii i patofizjologii układu ruchu, a także dowodzi umiejętności prowadzenia pracy badawczej w tym zakresie. Zebrany materiał jest wystarczający dla należytego udokumentowania

wniosków a metodyka postępowania badawczego jest dobrana właściwie oraz precyzyjnie opisana. Powyższe spostrzeżenia i uwagi recenzenta w żadnym wypadku nie podważają znaczenia uzyskanych wyników. Autorkę cechuje umiejętność właściwego postawienia aktualnego problemu badawczego oraz poprawnego jego rozwiązania w granicach określonych celem badań, a oceniana rozprawa nosi cechy samodzielnego dorobku naukowo-badawczego.

Zdaniem Recenzenta zakres prowadzonych badań, rzetelność ich wykonania i udokumentowania, ich pracochłonność a nade wszystko kliniczna wartość merytoryczna uzyskanych wyników uzasadniają wystąpienie o wyróżnienie pracy.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm).

Zgłaszam przeto do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, wniosek o dopuszczenie lekarz Jowity Halupczok-Żyła do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Donini Kępczak