

Prof. dr hab. med. Monika Rudzińska-Bar  
Katedra Neurologii  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu  
Karkowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego  
w Krakowie

Kraków, 8.08.2019

### **Recenzja**

pracy doktorskiej lek. Marty Piaścik-Gromady

**pt.: „Ocena stężenia osteoprotegeryny w surowicy krwi u pacjentów z chorobą  
Parkinsona”**

Badanie stężenia osteoprotegeryny w surowicy krwi u pacjentów z chorobą Parkinsona (chP) to temat ciekawy z punktu widzenia klinicznego, ale także z punktu widzenia poznawczego. Osteoprotegeryna (OPG) jest glikoproteiną o funkcjach białka ostrej fazy, którego stężenie wzrasta w stanach zapalnych, ponadto wpływa na szlak dojrzewania osteoklastów a jednocześnie hamuje apoptozę komórek śródbłonka, jest uznanym biomarkerem ryzyka pojawienia się i postępu chorób naczyniowych. Osteoprotegeryna jest mediatorem zarówno zaburzeń w metabolizmie kostnym jak i zmian naczyniowych. Autorka za cel pracy wybrała poszukiwanie zależności między parametrami zapalnymi a parametrami metabolizmu kostnego w chP. Proces zapalny jest uważany od lat za jeden z istotnych czynników chorobotwórczych, który mógłby wpłynąć na zapoczątkowanie i postęp chP, dlatego Autorka szukała potwierdzenia roli istnienia tego mediatora zapalnego, w etiopatogenezie i progresji chP. Wybór tematu pracy należy więc uznać za trafny i w głównym nurcie współczesnych badań klinicznych w omawianym zakresie.

Przesłana do recenzji praca doktorska obejmuje 105 strony znormalizowanego druku komputerowego i ma tradycyjny układ. Wstęp jest stosunkowo długi, zajmuje 29 stron. Założenia i cele pracy, to kolejna 1 strona. Rozdziały pt. „Materiał” i „Metody” obejmują 11 stron. Obszerniejszą częścią pracy jest rozdział opisujący wyniki pracy – 17 stron, w tym 13 rycin i 6 tabel obrazujących uzyskane wyniki. Zasadniczy trzon pracy zamyka dyskusja – 9 stron i wnioski - 1strona. Spis piśmiennictwa stanowi 20 stron. Doktorantka zamieściła kilkadziesiąt pozycji publikacji w większości powstałych w ostatnich latach. Piśmiennictwo nie zostało ponumerowane, dlatego jego ilość można jedynie oszacować w przybliżeniu.

Ponadto Doktorantka dołączyła streszczenie w języku polskim i angielskim oraz dodatek zawierający 5 załączników (zgoda Komisji Bioetycznej, informacja dla pacjenta, formularz świadomej zgody pacjenta, ankieta badania oraz ocena stopnia zawansowania choroby wg skali Hoehn i Yakra).

Praca została wykonana w Poradni Neurologicznej i Oddziale Neurologicznym Kliniki Neurologii i Epidemiologii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, gdzie byli rekrutowani pacjenci uczestniczący w badaniu. Badanie było przeprowadzone za zgodą Komisji Bioetyki SUM.

Przedstawiona praca nie budzi żadnych wątpliwości co do oryginalności. Opis metodologii i przedstawione wyniki są odpowiednio dokładne i umożliwiają innym badaczom powtórzenie badania w celu weryfikacji wyników na innym materiale.

Wstęp pracy został podzielony na pięć części. W pierwszej, Doktorantka opisała podstawowy stan wiedzy na temat epidemiologii, etiopatogenezy, obrazu klinicznego, kryteriów rozpoznania i leczenia chP. Na uwagę zasługuje szczegółowo napisany rozdział dotyczący etiologii i patogenezy z uwzględnieniem wszystkich współczesnych hipotez etiopatogenezy procesu neurodegeneracyjnego w chP. W rozdziale dotyczącym objawów klinicznych i rozpoznaniu autorka wspomniała o objawach pozaruchowych i podtypach chP oraz dokonała przeglądu różnych stosowanych uprzednio kryteriów rozpoznania chP. W kolejnej części wstępu zamieściła także krótki podrozdział poświęcony współistnieniu czynników ryzyka zmian naczyniowych mózgu u chorych z chP oraz podrozdział dotyczący patomechanizmu osteoporozy i jej powikłań w chP. Następnie Doktorantka scharakteryzowała zaburzenia metabolizmu kostnego w chP oraz rolę osteoprotegeryny jako mediatora łączącego zaburzenia naczyniowe oraz patologii kostnej chP, który nie był jeszcze w tej chorobie badany. Dodatkowo przedstawiła wpływ wybranych wskaźników takich jak witamina D, parathormon i frakcje lipidowe na gospodarkę wapniową i rozwój miażdżycy. Wstęp jest długi, ale napisany treściwie, zawiera najważniejsze informacje konieczne do odbioru pracy. Napisany jest merytorycznie poprawnie i dokumentuje odpowiednie przygotowanie Doktorantki do podjęcia tematu pracy. Na uwagę zasługuje ten fragment wstępu, który dotyczy roli osteoprotegeryny w jako czynnika ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, procesach związanych z metabolizmem kości oraz ewentualnie w procesach immunologicznych w chP. Ten temat nie był badany w odniesieniu do chP i wiedza autorki w zakresie mechanizmów działania osteoprotegeryny jest szczególnie ważna.

Cele pracy są sformułowane krótko, ale jasno i rzeczowo. Na ich podstawie można określić ogólny cel pracy, którym było dokonanie oceny stężenia osteoprotegeryny oraz związku między stężeniem OPG a wskaźnikami gospodarki wapniowej i lipidowymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u chorych w początkowym i zaawansowanym okresie chP oraz u pacjentów z ostrym udarem niedokrwiennym mózgu. Obecność grupy kontrolnej pozwoliła doktorantce na porównanie występowania i nasilenia tych zaburzeń nie tylko między grupami badanymi, ale na odniesienie tego do populacji zbliżonej wiekowo. Pewnym mankamentem pracy jest fakt, że cele pracy nie zostały uzupełnione sformułowaniem pytań i hipotez badawczych.

Równie krótko, ale wyczerpująco opisany jest materiał i stosowane metody. Doktorantka jasno zdefiniowała kryteria włączenia do badania oraz kryteria wykluczające z badania. Szczegółowo opisała metody oznaczeń poszczególnych substancji badanych. Badanie przeprowadzono na 95 pacjentach (45 z rozpoznaniem idiopatycznej chP, i na 50 osobach z grupy kontrolnej). Rozpoznanie chP postawiano zgodnie z kryteriami diagnostycznymi *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UKPDSBB)*. Uwzględniając czas zachorowania, grupę chorych z chP podzielono na fazę początkową choroby (do 3-5 lat od zachorowania) i fazę zaawansowaną (>5 lat czasu trwania choroby). Podobnie grupa kontrolna została podzielona na dwie podgrupy. Pierwszą 30 osobową stanowili chorzy z udarem niedokrwiennym mózgu, drugą zaś, 20 osobową, chorzy z innymi schorzeniami neurologicznymi (np. zespoły bólowe głowy lub korzeniowe)

Doktorantka wykazała podwyższenie stężenie osteoprotegeryny w surowicy krwi w porównaniu do laboratoryjnej normy oraz obniżenie stężenia 25 (OH)D poniżej laboratoryjnej normy we wszystkich badanych grupach chorych z chP, oraz obu grupach kontrolnych. U pojedynczych osób w każdej z analizowanych 4 grup odnotowano podwyższone wartości parathormonu i obniżone wartości Ca całkowitego. U znacznie liczniejszej grupie chorych z chP lub udarem mózgu stwierdzano podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego (50%) lub LDL (30%). Badając korelacje między parametrami biochemicznymi doktorantka wykazała w grupie z udarem niedokrwiennym, że wzrostowi parathormonu towarzyszyło obniżenie osteoprotegeryny, a w grupie kontrolnej z innymi chorobami neurologicznymi, że wzrostowi stężenia 25(OH)D towarzyszył wzrost osteoprotegeryny.

Podsumowując ogólnie uzyskane przez doktorantkę wyniki można stwierdzić, że analiza wykazała znacząco częstsze (prawie u 70%) występowanie podwyższonego stężenia osteoprotegeryny u chorych z chP szczególnie w postaci zaawansowanej. Wykazała również, że stężenie osteoprotegeryny koreluje dodatnio z czasem trwania chP. Ponadto Doktorantka potwierdziła, że OPG jest biomarkerem chorób naczyniowo-mózgowych wykazując szczególnie wysokie stężenie OPG u chorych z ostrym udarem niedokrwiennym mózgu w porównaniu z innymi grupami badanych chorych (chP i inne choroby neurologiczne). Jedynie w nielicznych analizach badanych parametrów uzyskała istotne różnice dotyczące korelacji OPG i innych parametrów biochemicznych. Stężenie OPG ujemnie korelowało ze stężeniem cholesterolu w grupie chorych z chP i udarem niedokrwiennym mózgu, ale nie stwierdzono zależności między stężeniem OPG a stężeniem 25(OH)D w powyższych grupach. Ważnym elementem uzyskanych wyników jest także wykazanie obniżonego stężenia witaminy 25(OH)D w stosunku do norm we wszystkich badanych grupach pacjentów. Wyniki pracy Doktorantki nie wykazały, że OPG ma znaczenie w pierwotnej patogenezie chP, ale koreluje dodatnio z czasem trwania choroby i ma udział w towarzyszącym zmianach patologicznych w chP. Wśród badanych parametrów brakuje wyników CRP, które było także oznaczone zgodnie z danymi przedstawionymi w rozdziale pt. „Metoda” ale brak danych analizowanych w teście.

Rozdział poświęcony dyskusji jest stosunkowo krótki, ale, podobnie jak wstęp, treściwy. W jednym rozdziale doktorantka podsumowała własne wyniki i skonfrontowała je z dotychczas opublikowanymi. W mojej ocenie odniosła się do wszystkich najważniejszych publikacji w badanym temacie, a sposób ich omówienia świadczy o znajomości treści tych publikacji.

Na podstawie przeprowadzonych badań doktorantka sformułowała 6 wniosków. Stanowią one logiczne podsumowanie uzyskanych wyników. Wnioski są napisane klarownie i pozwalają czytelnikowi na zapoznanie się z najważniejszymi osiągnięciami pracy.

Do ogólnych mankamentów pracy należy zaliczyć brak sformułowanych hipotez i pytań badawczych oraz brak ponumerowania piśmiennictwa. Podobnie podział grupy badanych chorych z chP jedynie pod względem czasu choroby wydaje się nieprecyzyjny. Wiemy, że zdefiniowania czasu początku chP jest bardzo trudne i nieprecyzyjne. Wielokrotnie chorzy nie zauważają subtelnych objawów choroby występujących wiele lat przed wizytą u neurologa i postawieniem rozpoznania. Niektórzy chorzy mają stawianą

diagnozę w zaawansowanym okresie choroby, inni zgłaszają się do neurologa z pojedynczym objawem (np. drżeniem), który nie daje możliwości postawienia rozpoznania wg kryteriów UKPDSBB. Jak sama Autorka zaznacza w „Wstępie” postęp choroby jest szybszy u osób, którzy zachorowują po 75 r.ż. niż u osób o wcześniejszym początku zachorowania. Dlatego podział grupy chorych z chP powinien opierać się także na zaawansowaniu objawów choroby ocenianych skalą *United Parkinson's Disease Rating Scale* (UPDRS). Interesujące byłoby także porównanie stężenia OPG względem nasilenia różnych objawów ruchowych wg UPDRS. Porównują stężenia OPG względem stadiów choroby w skali Hoehn i Yahr. Doktorantka wykazała istotną znamienność statystyczną w teście korelacji Pearsona na poziomie  $R=0,38$ . Ponadto ryciny 7 i 8 są niespójne z тезami z strony 52.

Podsumowując, lekarz Marta Piaścik-Gromada przedstawiła do recenzji oryginalną pracę o charakterze naukowym, która została zrealizowana w oparciu o rzetelny warsztat badawczy obejmujący zarówno ocenę biochemiczną i kliniczną. Pisząc tą pracę Autorka wykazała się znajomością odpowiedniego piśmiennictwa, umiejętnością doboru metod badawczych, prezentacji wyników i wyciągania wniosków z przeprowadzonych badań. Zakres przeprowadzonych badań był obszerny, a ich omówienie wystarczające. Uzyskane wyniki stanowią wkład Doktorantki do wiedzy na temat zaburzeń stężenia w surowicy krwi osteoprotegeryny w chP. Wykazane powyżej wady pracy mają charakter formalny i nie umniejszają w żaden sposób jej merytorycznej wartości.

Z przedstawionych wyżej względów przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie wniosek o dopuszczenie lekarz Marty Piaścik-Gromady do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kowalski

Ryszard Boż