

Warszawa. 21.05.2021

**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lekarza
Marleny Chmielnickiej**

W przedstawionej mi do recenzji rozprawie doktorskiej lek. Marleny Chmielnickiej pt.: „Ryzyko zaburzeń metabolicznych i zakrzepowych w przebiegu kortykosteroidoterapii u chorych na pęcherzycę” postawiono sobie za ocenę ryzyka działań niepożądanych długotrwałej kortykosteroidoterapii u chorych na pęcherzycę. Pęcherzyca jest autoimmunologiczną chorobą pęcherzową błon śluzowych i/lub skóry, związaną z obecnością patogennych autoprzeciwciał skierowanych przeciwko różnym cząsteczkom adhezyjnym desmosomów. Obraz i przebieg kliniczny poszczególnych odmian pęcherzycy zależy od rodzaju antygeny rozpoznawanego przez autoprzeciwciała oraz stopnia zaawansowania procesu chorobowego. Wyróżniamy dwie główne odmiany pęcherzycy: zwykłą (PV, pemphigus vulgaris) i liściastą (PF, pemphigus foliaceus). Autoprzeciwciała odgrywają istotną rolę w patogenezie pęcherzycy. Są one przyczyną utraty łączności pomiędzy komórkami opisanej jako zjawisko akantolizy. Z tego powodu hamowanie aktywności limfocytów B, a co za tym idzie hamowanie produkcji patogennych przeciwciał ma główne znaczenie w leczeniu choroby. W większości przypadków lekiem pierwszego wyboru w terapii pęcherzycy są glikokortykosteroidy. Powinny one być stosowane w skojarzeniu z lekami immunosupresyjnymi w przypadkach ciężkiej pęcherzycy i/lub w przypadkach zwiększonego ryzyka wystąpienia działań niepożądanych związanych z przewlekłą glikokortykosteroidoterapią. Niewiele jest danych dotyczących oceny działań niepożądanych przewlekłej terapii w tej grupie chorych. Z powodu ich występowania pęcherzyca stanowi istotny interdyscyplinarny problem medyczny. Wybór przez lek. Marlenę



Chmielnicką tematu pracy uważam zatem za szczególnie trafny i zgodny z oczekiwaniami. Świadczy to w mojej ocenie o umiejętności Doktorantki planowania badań naukowych.

Rozprawa ma klasyczny podział na rozdziały – wstęp, założenia i cel pracy, materiały i metody, wyniki, omówienie oraz wnioski zgodnie z wymogami formalnymi zawartymi w Ustawie o Stopniach i Tytułach naukowych. Zawiera łącznie 158 stron tekstu, 53 ryciny i 47 tabel. W pracy znajdują się odniesienia do 137 pozycji piśmiennictwa.

Wstęp zawiera opis patogenezы, obrazu klinicznego, diagnostyki i leczenia pęcherzycы. Zawiera również szczegółowe informacje dotyczące mechanizmu działania glikokortykosteroidów, patomechanizmu i diagnostyki osteoporozy oraz wpływu 25-hydroksycholekalcyferolu - 25(OH)D₃ na proces mineralizacji kośćca. W rozdziale znajduje się także opis wpływ glikokortykosteroidów na przemianę tłuszczową i węglowodanową oraz układ hemostazy. Uzupełnienie rozdziału pierwszego stanowią ryciny przedstawiające obraz kliniczny pęcherzycы zwykłej, jej obraz histopatologiczny i obrazy wyników pośrednich i bezpośrednich badań immunofluorescencyjnych. Rozdział pierwszy zawiera zatem istotną wiedzę stanowiącą podstawę teoretyczną podjętych badań.

Rozdział drugi zawiera prawidłowo sformułowany cel pracy, którym była ocena ryzyka wystąpienia niepożądanych działań długotrwałej kortykosteroidoterapii u chorych na pęcherzycę. Realizując cel pracy lek. Marlena Chmielewska postanowiła wykonać:

1. Określenie stopnia zaburzeń procesu mineralizacji kośćca na podstawie oznaczeń wybranych parametrów: badania densytometrycznego, markerów przebudowy kości (sRANKL, OPG, osteokalcyna) oraz 25(OH)D₃.
2. Ocenę prawdopodobieństwa występowania zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej.
3. Ocenę ryzyka rozwoju powikłań zakrzepowo-zatorowych.

W rozdziale trzecim opisane zostały materiał i metody badań oraz analiza statystyczna. Badania przeprowadzono u 29 chorych na pęcherzycę (17 kobiet, 12 mężczyzn) w wieku od 23 lat do 75 lat (średnio 57,4 lat), leczonych w latach 1994 - 2009 w Klinice Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego oraz Centrum Diagnostyczno-Lecznicznym Chorób Skóry w Łodzi oraz u 24 zdrowych ochotników dobranych odpowiednio pod względem płci i wieku. Rozpoznanie pęcherzycы ustalono na podstawie obrazu

klinicznego, histopatologicznego oraz bezpośredniego i pośredniego badania immunofluorescencyjnego. U 24 chorych biorących udział w badaniu stwierdzono pęcherzycę zwykłą (PV), natomiast u 5 pęcherzycę liściastą (PF). U wszystkich badanych oceniono stężenie liganda receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa B, osteoprotegeryny, osteokalcyny, 25-hydroksycholekalcyferolu, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów oraz glukozy. T-score oznaczono u 17 spośród 29 chorych oraz 12 osób zdrowych. D-dimery i czas protrombinowy zbadano u 17 chorych oraz 12 osób z grupy kontrolnej. Natomiast czynnik tkankowy oznaczono u 29 chorych na pęcherzycę oraz u 7 zdrowych wolontariuszy. W rozdziale szczegółowo opisano metodę wykonania badań zastosowanych w diagnostyce osteopenii i osteoporozy tzn. badania densytometrycznego i oznaczeń markerów przebudowy kości tj. liganda receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa B (sRANKL) osteoprotegeryny (OPG) i osteokalcyny (OC) w surowicy. Dodatkowo opisano metodę oznaczenia stężenia 25-hydroksycholekalcyferolu – 25(OH)D₃, cholesterolu całkowitego i trójglicerydów, glukozy, D-dimerów i czynnika tkankowego (TF) oraz metodę obliczeń wskaźnika masy ciała (BMI). Metodą terapii z wyboru stosowaną w badanej grupie chorych były kortykosteroidy w dawce początkowej od 100-80 mg/dobę stopniowo obniżane na przestrzeni wielu lat w skojarzeniu z cyklofosfamidem (50-100 mg/dobę). Czas trwania leczenia u wszystkich badanych wynosił od 3 miesięcy do 13 lat (średnio 5,5 lat). Projekt pracy został zaakceptowany przez Komisję Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (RNN/395/09/KB). W analizie statystycznej zastosowano test Manna-Whitneya dla zmiennych nie pochodzących z rozkładu normalnego. Do porównania wartości przeciętnych wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Za znamienne statystycznie uznawano różnice przy poziomie istotności $p < 0,05$. Metodyka badań jest prawidłowo dobrana do postawionych celów pracy.

W rozdziale czwartym przedstawiono wyniki otrzymane w trakcie przeprowadzonych badań. Podzielony jest na dziesięć podrozdziałów, w których przedstawiono wyniki oceny oznaczeń wartości gęstości mineralnej kości (BMD) w skali T-score, markerów przebudowy kośćca, stężeń 25-hydroksycholekalcyferolu, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, glukozy, D-dimerów, czynnika tkankowego, oznaczeń czasu protrombinowego i oznaczeń czasu protrombinowego. Podrozdział dotyczący oceny wyników markerów przebudowy kośćca zawiera wydzielone podrozdziały dotyczące oceny wyników oznaczeń stężeń liganda receptora aktywującego czynnik jądrowy kappa B, osteoprotegeryny i osteokalcyny. W podrozdziałach znajdują się tabele i ryciny przedstawiające analizę statyczną z komentarzem w pełni umożliwiającym ich zrozumienie. Doktorantka w trakcie

przeprowadzonych analiz stwierdziła, że w grupie chorych średnie wartości T-score były niższe w porównaniu z wynikami u osób w grupie kontrolnej o 65%. Wykazana różnica była istotna statystycznie ($p < 0,004$) w całej grupie jak i podzielonej pod względem płci. Osteopenię/osteoporozę zdiagnozowano u 12/17 chorych na pęcherzycę, co stanowi 70,59%. Średnie wartości stężeń sRANKL były istotnie statystycznie wyższe (o 26,88%, $p < 0,001$) w grupie chorych niż u osób w grupie kontrolnej. W trakcie badań wykazano, że u chorych na pęcherzycę stężenie osteoprotegeryny (OPG) było istotnie statystycznie wyższe w porównaniu ze stężeniem u osób w grupie kontrolnej ($p < 0,02$). Średnie stężenie markera kościotworzenia - osteokalcyny w grupie badanej i grupie kontrolnej mieściło się w granicach normy. Poniżej normy stwierdzono je u 7 spośród 29 chorych (4 kobiet, 3 mężczyzn). Jednak w grupie badanej, w odniesieniu do grupy porównawczej, wykazano statystycznie niższe średnie stężenie osteokalcyny ($p < 0,05$). U 82,8% chorych na pęcherzycę stężenie 25(OH)D₃ było niższe od rekomendowanego poziomu. U 5 (17,2%) stwierdzono hipowitaminozę, u 9 (31,1%) niedobór, natomiast u 10 (34,5%) deficyt. W porównaniu z wynikami u osób z grupy kontrolnej stężenie 25(OH)D₃ u chorych było niższe o 52,5% ($p < 0,001$). Doktorantka wykazała, że średnie stężenie cholesterolu całkowitego było istotnie wyższe u osób w grupie chorych niż w grupie kontrolnej (o 20,29%, $p < 0,001$). Podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego (> 200 mg/dl) obserwowano u 72,41% (21/29) pacjentów leczonych przewlekłe kortykosteroidami. Nie wykazano takich różnic oceniając stężenie trójglicerydów. Wartości wskaźnika BMI w grupie chorych była istotnie wyższa w porównaniu do grupy kontrolnej ($p < 0,001$). U 13 osób (44,8%) spośród 29 chorych wykazano nieprawidłową masę ciała, w tym nadwagę u 7 osób (24,1%) oraz otyłość u 6 osób (20,7%). Średnie stężenie glukozy było istotnie wyższe ($p < 0,001$) w grupie chorych w porównaniu do zdrowych osób grupy kontrolnej. Podwyższone stężenie glukozy w osoczu krwi na czczo wykazano u 55,17% pacjentów leczonych glikokortykosteroidami. Średnie stężenie D-dimerów u osób w grupie chorych wynosiło 0,33 μ g/ml i było wyższe niż u osób w grupie kontrolnej (0,18 μ g/ml). Oceniając wartość czasu protrombinowego Doktorantka wykazała, że w grupie chorych w średnia wartość tego parametru była istotnie niższa niż w grupie kontrolnej ($p < 0,001$). Wartości stężeń czynnika tkankowego w grupie chorych wahały się w granicach od 284,23 pg/ml do 1088,40 pg/ml. Średnie stężenie tego parametru w grupie chorych wynosiło 571,56 pg/ml i było wyższe w porównaniu z wynikami uzyskanymi u osób w grupie kontrolnej (517,29 pg/ml) o 54,27 pg/ml, tj. o 9,49%. Wykazana różnica nie była istotna statystycznie ($p > 0,05$).

Rozdział piąty to omówienie. W części tej w sposób rzetelny doktorantka omówiła wyniki badań własnych i porównała z dostępnymi w piśmiennictwie wynikami badań innych autorów. Dane piśmiennictwa wskazują na możliwość postępującej destrukcji tkanki kostnej w trakcie kortykosteroidoterapii u chorych na pęcherzycę. Lek. Marlena Chmielnicka zaznacza, że chorzy na pęcherzycę wymagają leczenia wysokimi dawkami leków immunosupresyjnych, m.in. prednizonu, które są stopniowo obniżane w ciągu wielu lat. Stosowane dawki leków przewyższają rekomendowaną przez ekspertów ACR ilość wskazującą na konieczność objęcia tych chorych diagnostyką, profilaktyką oraz ewentualnym leczeniem osteoporozy. Doktorantka w badaniach własnych stwierdziła obniżenie gęstości mineralnej kości u chorych na pęcherzycę. Wyniki te potwierdzają publikowane dane innych autorów. Lek. Chmielnicka wykazała, że zaburzenia mineralizacji tkanki kostnej, których wykładnikiem są odchylenia parametrów sRANKL, OPG, osteokalcyny, występowały niezależnie od czasu trwania terapii kortykosteroidami. Obserwacja ta może potwierdzać wcześniejsze doniesienia, że ryzyko utraty masy kostnej gwałtownie wzrasta w ciągu pierwszych 3-6 miesięcy terapii, natomiast w kolejnych latach stosowania preparatów steroidowych destrukcja tkanki kostnej jest zdecydowanie wolniejsza. W tym aspekcie interesujące wydają się sugestie dotyczące suplementacji w tej grupie chorych m.in. witaminy D. Doktorantka wskazuje na niekorzystny wpływ kortykosteroidoterapii na gospodarkę tłuszczową i węglowodanową, a w związku z tym zwiększone prawdopodobieństwo rozwoju zaburzeń metabolicznych, jak również powikłań zakrzepowo-zatorowych. Lek. Chmielnicka zaznacza również, że glikokortykosteroidoterapia nadal pozostaje jedną z najskuteczniejszych metod leczenia. Mając powyższe na uwadze, bardzo wartościowe wydają się opinie Doktorantki zawarte w podsumowaniu dyskusji. W części tej lek. Marlena Chmielnicka wskazuje, że wybór postępowania farmakologicznego powinien być ukierunkowany na leczenie przyczynowe i wymaga ścisłej współpracy dermatologa zarówno z lekarzem rodzinnym oraz innymi specjalistami (endokrynologiem, diabetologiem, kardiologiem, chirurgiem naczyniowym). Kluczowe wg Doktorantki wydaje się zwiększenie wiedzy dotyczącej istnienia realnego zagrożenia, związanego z rozwojem objawów niepożądanych w trakcie glikokortykosteroidoterapii. Lek. Chmielnicka wskazuje, że wdrożenie odpowiednich działań prewencyjnych, możemy skutecznie zapobiegać zarówno osteoporozie, miażdżycy i innym chorobom sercowo-naczyniowym, cukrzycy oraz powikłaniom zakrzepowo-zatorowym.

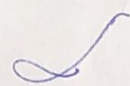
Rozdział szósty zawiera osiem wniosków mających istotną wartość poznawczą oraz znaczenie w praktyce klinicznej tzn.:

1. Badanie densytometryczne, oznaczenie markerów przebudowy kości, tj. sRANKL, OPG, osteokalcyny oraz 25(OH)D₃ są przydatnymi parametrami dla oceny mineralizacji kośćca, a wykazanie zaburzeń tego procesu u chorych na pęcherzycę leczonych przewlekle kortykosteroidami wskazuje na konieczność profilaktycznej suplementacji preparatów witaminy D.
2. Podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, glukozy oraz wskaźnika BMI w trakcie terapii GKS wskazuje na wysokie prawdopodobieństwo rozwoju miażdżycy i chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy oraz zespołu metabolicznego.
3. Brak wzrostu ekspresji czynnika tkankowego i stężenia D-dimerów u chorych na pęcherzycę sugeruje konieczność przeprowadzenia dalszych badań (z uwzględnieniem innych parametrów laboratoryjnych) dla oceny ryzyka wystąpienia powikłań zakrzepowo-zatorowych.
4. U chorych na pęcherzycę wykonywanie badania densytometrycznego oraz oznaczenie stężenia cholesterolu, trójglicerydów, glukozy oraz parametrów koagulologicznych powinno być standardem przed rozpoczęciem terapii glikokortykosteroidami oraz w czasie jej trwania.

Pozostałe rozdziały zawierają streszczenie w języku polskim i angielskim, piśmiennictwo, spis tabel, spis rycin i wykaz użytych skrótów.

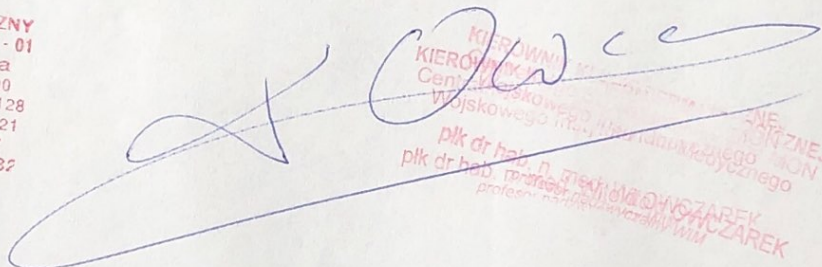
Lekarz Marlena Chmielnicka dyplom lekarza uzyskała w 2003 roku. W listopadzie 2011 roku z wynikiem bardzo dobrym zdała egzamin specjalizacyjny z dermatologii i wenerologii. Doktorantka jestem autorem/współautorem 3 prac oryginalnych, 2 kazuistycznych, 1 pracy poglądowej (55 punktów Min. Nauki, 0.845 Impact Factor) oraz kilku doniesień zjazdowych.

W podsumowaniu należy podkreślić, że wyniki pracy stanowią istotny wkład w uzupełnieniu wiedzy dotyczącej związku długotrwałej kortykosteroidoterapii z rozwojem zaburzeń mineralizacji kośćca, zaburzeń metabolicznych i chorób sercowo-naczyniowych u chorych na pęcherzycę. Dojrzałość naukową Doktorantki można zauważyć w trakcie omawiania wyników uzyskanych badań. W mojej opinii to bardzo wartościowa część dysertacji, w której Doktorantka wskazuje na konieczność wdrożenia odpowiednich działań prewencyjnych, jak również konieczność zwiększenia świadomości występowania opisywanych zaburzeń w tej grupie chorych. W mojej opinii wartość pracy podnosi jej wymiar praktyczny, ponieważ uzyskane wyniki powinny wpłynąć na codzienną praktykę kliniczną



m.in. poprzez wykazaną konieczność profilaktycznej suplementacji witaminy D u leczony kortykosteroidami chorych na pęcherzycę. Charakter nowatorski ma przeprowadzona ocena w populacji polskiej. Dodatkowo, analizując całość pracy należy wziąć pod uwagę fakt, że zebranie w praktyce klinicznej takiej liczby chorych na pęcherzycę stanowi nie lada wyzwanie. Chciałbym również podkreślić ilość pracy wykonanej przez Doktorantkę w trakcie zbierania i opracowywania wyników badań. Zakres całej pracy tzn. zaplanowanie i wykonanie badań, prowadzona dyskusja i opracowane wnioski oraz dorobek naukowy doktorantki jest w mojej ocenie wystarczający dla uzyskania stopnia doktora nauk medycznych. Wnoszę więc do Wysokiej Rady Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Marleny Chmielnickiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na jakość przeprowadzonych badań przekładających się na codzienną praktykę kliniczną składam wnioski o wyróżnienie rozprawy.

WOJSKOWY INSTYTUT MEDYCZNY
CSK MON - Kliniki, Oddziały, Zakłady - 01
Klinika Dermatologiczna
Kod cz. VII - 058 Kod cz. VIII - 4200
04-141 Warszawa 44, ul. Szaserów 128
Regon 015294487, NIP 113-23-93-221
tel. 261 816 241, fax 261 817 187
Kod identyfikacyjny 000000019182
07-R-8-00355-03-08


KIEROWNIK
Gen. Wojskowego Instytutu Medycznego
Wojskowego Instytutu Medycznego
plk dr hab. n. med. WŁODYSŁAW
plk dr hab. prof. n. med. WŁODYSŁAW
prof. n. med. WŁODYSŁAW