



dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska
Zakład Dietetyki i Żywienia Klinicznego
Wydział Nauk o Zdrowiu
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
15-054 Białystok
Ul. Mieszka I-go 4B

Białystok, dn. 19.01.2016

Recenzja pracy doktorskiej

Lek. Magdaleny Titz-Bober nt. „Porównanie metabolizmu kości otyłych mężczyzn i kobiet w wieku >54 lat”

Otyłość jest chorobą epidemiczną poprzedniego i obecnego stulecia. Światowa Organizacja Zdrowia szacuje, że w 2014 roku otyłość występowała u 600 mln ludzi powyżej 18 roku życia (39% populacji dorosłej). W Europie Środkowej otyłość można rozpoznać u 18% mężczyzn i 20,7% kobiet (w Polsce odpowiednio 18,3% i 20,9%). Według raportu Głównego Urzędu Statystycznego w 2009 roku wśród osób dorosłych populacji polskiej 44,6% kobiet i 61,4% mężczyzn miało nadmierną masę ciała (BMI powyżej 25 kg/m²), natomiast 15,2% kobiet i 16,6% mężczyzn było otyłych. Odsetek ten zwłaszcza wśród osób dorosłych stale rośnie, pociągając za sobą wzrost liczby powikłań, do których zalicza się np. cukrzycę typu 2, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię, dnę moczanową, chorobę zwyrodnieniową stawów oraz inne choroby cywilizacyjne, będące istotnym problemem XXI wieku. Kolejną jednostką chorobową, która dotyczy ludzi dorosłych jest osteoporoza. Jej częstość występowania jest zdecydowanie większa u kobiet, zwłaszcza w okresie okołomenopauzalnym (ok. 25%), ale dotyczy również mężczyzn w podeszłym wieku. Osteoporoza wtórna występuje z częstością zależną od przyczyny ją powodującej (najczęstsza jest jatrogena wskutek przewlekłe przyjmowanych glikokortykosteroidów). Zarówno

otyłości jak i osteoporozie pierwotnej sprzyjają podobne czynniki ryzyka, czyli niewłaściwa dieta oraz zbyt niska aktywność fizyczna zawodowa i pozazawodowa. Nieprawdą jest, że człowiek otyły (nadmiernie odżywiony) nie posiada niedoborów żywieniowych. Nawet u osób z otyłością olbrzymią stwierdzone są niedobory wapnia, magnezu, grupy witamin B, witaminy D a u niektórych żelaza. Stwierdzone u otyłych osób obniżone stężenia w surowicy krwi wapnia i witaminy D mogą niekorzystnie wpływać na metabolizm kostny. Do innych czynników osteoporozy pierwotnej związanych z odżywianiem i stylem życia należą: mała lub nadmierna podaż fosforu, niedobory białkowe i dieta bogatobiałkowa, palenie tytoniu, alkoholizm, nadmierne spożywanie kawy i siedzący tryb życia. Sam wpływ otyłości na metabolizm kości nie został jednoznacznie określony, co również zostało podkreślone w przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej. Niemniej jednak choroby współistniejące z otyłością tj.: choroba tłuszczeniowa wątroby, przewlekła niewydolność nerek czy zaburzenia gospodarki węglowodanowej mogą mieć wpływ na zmniejszoną gęstość mineralną kości.

Lek. Magdalena Titz-Bober podjęła się oceny metabolizmu kości otyłych mężczyzn i kobiet w wieku >54 lat. Ponieważ temat metabolizmu kości u mężczyzn jest rzadko podejmowany przez badaczy, tym bardziej gratuluję Promotorowi i Doktorantce wyboru tak ciekawego tematu.

Praca ma typowy układ dla pracy doktorskiej, składa się z siedmiu rozdziałów, streszczenia w języku polskim i angielskim oraz wykazu tabel i rycin. Przedstawiona jest na 77 stronach, posiada 8 tabel i 5 rycin oraz wykaz skrótów użytych w pracy.

We wstępie Doktorantka opisuje wpływ otyłości, zespołu metabolicznego i tkanki tłuszczowej na metabolizm kości, charakteryzuje rolę i znaczenie hormonów kalcytropowych w metabolizmie kości (parathormon, kalcytonina oraz aktywne metabolity witaminy D) oraz omawia białko FGF-23 (białko należące do rodziny czynników wzrostu fibroblastów) i jego działanie fosfaturyczne w bliższych cewkach kłębuszka nerkowego i wpływ na witaminę D₃ oraz powiązania między FGF-23 a otyłością. Poza tym charakteryzuje kalkulator FRAX (Fracture Risk Assessment Tool) jako narzędzie służące do oszacowania 10-letniego bezwzględnego ryzyka głównego złamania osteoporotycznego – objawowe złamanie kręgosłupa, złamanie proksymalnego odcinka kości udowej, złamanie kości ramiennej, kości przedramienia – u osób dotychczas nieleczonych), uwzględniający kliniczne czynniki ryzyka złamania osteoporotycznego i związek z zespołem metabolicznym. Doktorantka omawia również wybrane wskaźniki obrotu kostnego oraz metody oceny metabolicznej aktywności kości (markery kościotworzenia – frakcja kostna fosfatazy alkalicznej, N-końcowy propeptyd

prokolagenu typu I – P1NP i osteokalcyna oraz markery koścoresorpcji – C i N-końcowe usieciowane telopeptydy łańcucha α kolagenu typu I – CTX₁ i NTX₁). Inne markery koścotworzenia to fosfataza zasadowa (ALP) i C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PICP), natomiast do głównych markerów resorpcji kości należałoby jeszcze zaliczyć aktywność fosfatazy kwaśnej odpornej na hamowanie winianem – izoformy 5b (TRACP-5b) w surowicy oraz produkty degradacji kolagenu macierzy kostnej oznaczane w moczu - w tym fragmenty sieciujące kolagen – pirydynolina i deoksypirydynolina oraz telopeptydy łańcucha kolagenu typu I – w tym C-końcowy (CTX) w przeliczeniu na $\mu\text{g}/\text{mmol}$ kreatyniny i N-końcowy (NTX) w przeliczeniu na nmol BCE (*bone collagen equivalents*). Wstęp kończy się omówieniem różnic i podobieństw w przebiegu osteoporozy u kobiet i mężczyzn.

Wstęp jest bardzo dobrym wprowadzeniem do celu pracy. Pokazuje, że temat osteoporozy u mężczyzn jest znacznie mniej poznany niż u kobiet oraz jest wiele sprzecznych doniesień co do związku otyłości u osób dorosłych z występowaniem u nich zmian osteoporotycznych.

Lek. med. Magdalena Titz-Bober postawiła sobie kilka hipotez badawczych:

1. Czy i w jakim stopniu wskaźniki obrotu kostnego u otyłych mężczyzn różnią się od tych wskaźników u otyłych kobiet.
2. Jaki jest profil stężeń hormonów kalcytropowych oraz czynników fosfaturycznych u otyłych mężczyzn w porównaniu do otyłych kobiet.
3. Jakie jest ryzyko złamań u otyłych mężczyzn w porównaniu do otyłych kobiet.
4. Jaki jest wpływ zespołu metabolicznego na metabolizm kości otyłych mężczyzn i kobiet.
5. Czy ryzyko złamania osteoporotycznego u osób z zespołem metabolicznym różni się od tego ryzyka u osób z otyłością prostą.

Doktorantka prawidłowo przeprowadziła badania wśród 40 otyłych kobiet (wiek 55-67) i 40 otyłych mężczyzn (wiek 56-63 lata). Na przeprowadzenie badań otrzymała zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego o numerze NN-013-64/03. Następnie utworzyła dwie grupy badawcze A-pacjentów z otyłością prostą (20 kobiet i 20 mężczyzn) i B- chorych z zespołem metabolicznym (podobnie 20 kobiet i 20 mężczyzn). Kryteria włączenia do badania w poszczególnych grupach są satysfakcjonujące. Jednak chciałabym zapytać Doktorantkę, czy w podgrupie B w kryteriach włączenia do podgrupy badanej z zespołem metabolicznym też uwzględniono niestosowanie leków wpływających na metabolizm kości i brak w wywiadzie przewlekłych chorób zapalnych? Grupę kontrolną stanowiło 15 zdrowych, nieotyłych kobiet oraz 15 zdrowych nieotyłych mężczyzn w

porównywalnym wieku do badanych grup. Jednak moje pytanie brzmi czy kryterium doboru do grupy kontrolnej był tylko wiek i wskaźnik masy ciała BMI? W jaki sposób i skąd były te osoby rekrutowane oraz co stanowiło u nich „wyznacznik zdrowia”? Jako recenzenta zastanawia mnie również to, że w grupie kontrolnej zwłaszcza wśród kobiet mimo prawidłowego BMI stwierdzono u wszystkich bardzo wysoką zawartość tkanki tłuszczowej (średnio u kobiet - 37,4%, najniższa wartość 32,6%, a najwyższa aż 42,1%, natomiast u mężczyzn – średnio 28,1%, najniższa wartość 26,4%, a najwyższa 29,8%). Biorąc pod uwagę zawartość tkanki tłuszczowej w ustroju – były to osoby szczupłe otyłe (zespół MONW), co mogło zafałszowywać wyniki badań. Oczywiście rozumiem, że kryterium doboru do grupy badanej i kontrolnej stanowił stan odżywienia badanych oceniany na podstawie wskaźnika masy ciała (BMI), który niestety jest wskaźnikiem zawodnym. Wydaje mi się, że przy ewentualnym kontynuowaniu tego typu badań (do czego zachęcam) warto byłoby się zastanowić nad innymi kryteriami doboru grupy kontrolnej niż same BMI.

U wszystkich badanych osób wykonano jednorazowo badania antropometryczne (oceniono masę ciała i wzrost, wyznaczono BMI, skład ciała oceniano powszechnie przyjętą metodą bioelektroimpedancji), zmierzono ciśnienie tętnicze oraz pobrano na czczo badania z krwi żyłnej (w surowicy oznaczono stężenie parathormonu, 25(OH)D₃, CTX₁, osteokalcyny, wapnia całkowitego, fosforanów nieorganicznych, FGF-23, glukozy, kreatyniny oraz profilu lipidowego), dodatkowo wyliczono szacunkową wartość filtracji kłębuszkowej eGFR za pomocą formuły CKD-EPI. Całkowite, bezwzględne ryzyko złamania zostało oszacowane wg zaleceń WHO na podstawie kalkulatora FRAX (WHO Fracture Risk Assessment Tool). Zastosowano poprawne metody statystyczne (jednak wyniki przedstawiono bez odchylenia standardowego, chociaż metodologia to przewiduje).

Doktorantka uzyskane wyniki przedstawiła w sposób czytelny na 18 stronach (charakterystykę chorych z zespołem metabolicznym oraz badanych grup przedstawiono w metodologii badań), w 8 tabelach i 5 rycinach. Wyniki te dotyczą analiz i porównań różnych grup (osób otyłych z grupą kontrolną, kobiet z mężczyznami, osób otyłych bez i z rozpoznanym zespołem metabolicznym). Przy omawianiu wyników wydaje mi się, że nie powinno się opisywać różnic między grupą badaną (osób otyłych i z ZM) oraz kontrolną (z prawidłowym BMI) dotyczących masy ciała, BMI czy zawartości tkanki tłuszczowej, gdyż stanowiło to podstawę podziału na grupy (np. str. 36 i 37). Również stosowanie terapii hipolipemizującej w grupie pacjentów otyłych, czy z zespołem metabolicznym nie powinno być wytłumaczeniem dla obniżonych wartości cholesterolu HDL (str. 33), raczej przy dobrej terapii powinien on ulegać podwyższaniu.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że bezwzględne ryzyko złamania (FRAX) było porównywalne między osobami z grupy badanej (osób otyłych) i kontrolnej (nie różniło się istotnie statystycznie). Ryzyko to było jednak istotnie wyższe u otyłych kobiet niż otyłych mężczyzn (2,3% vs 1,65%) i nieistotnie wyższe u zdrowych kobiet niż zdrowych mężczyzn (2,9% vs 2,0%). Ciekawym spostrzeżeniem jest również to, że FRAX było nieistotnie wyższe u zdrowych mężczyzn niż mężczyzn otyłych (2,0% vs 1,65%). Badając wpływ obecności zespołu metabolicznego na ryzyko złamań stwierdzono, że FRAX był istotnie wyższy u kobiet z ZM niż u kobiet otyłych (3,0% vs 1,65%), ale należy też podkreślić, że kobiety z ZM były istotnie starsze od kobiet otyłych z otyłością prostą, natomiast u mężczyzn z ZM FRAX był niższy niż u mężczyzn z otyłością prostą (1,6% vs 1,7%). Również korelacje zarówno u kobiet jak i u mężczyzn wykazały istotną statystycznie zależność między wiekiem badanych osób a ryzykiem złamania osteoporotycznego (FRAX), przy czym zależność ta silniej była wyrażona u kobiet. Natomiast w grupie mężczyzn stwierdzono ujemną korelację między ryzykiem złamania a masą ciała, BMI, obwodem talii i zawartością procentową tkanki tłuszczowej (u kobiet zaobserwowano słabą ujemną korelację między ryzykiem złamania a BMI). Stąd wynikałoby, że ryzyko złamania szacowane na podstawie kalkulatora FRAX zależy od wieku i jest wyższe u kobiet, natomiast związek z nadmierną ilością tkanki tłuszczowej jest wątpliwy. Ale może to też wynikać z tego, że grupa kontrolna zwłaszcza kobiet miała również nadmierną ilość tkanki tłuszczowej w ustroju.

Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w stężeniach wapnia w surowicy krwi ani w badanych grupach, ani przy uwzględnieniu płci. W analizie regresji wieloczynnikowej stwierdzono, że na zmienność stężenia wapnia w badanej grupie wpływał wiek badanych oraz występowanie zespołu metabolicznego (zwykle wraz z wiekiem obserwuje się zwiększenie stężenia wapnia, występowanie zespołu metabolicznego prowadziło tu do zmniejszenia stężenia wapnia), co mogłoby być jednym z czynników wskazujących na przyczynę zwiększenia ryzyka złamania w tej grupie pacjentów.

Stwierdzano istotnie wyższe stężenie fosforu u mężczyzn z grupy otyłych niż zdrowych (1,56 mmol/l vs 1,07 mmol/l) i nieistotnie wyższe u otyłych kobiet niż kobiet zdrowych (1,21 mmol/l vs 1,14 mmol/l). Jeszcze wyższe stężenia fosforu w surowicy krwi stwierdzono u kobiet i mężczyzn z zespołem metabolicznym, co potwierdzono również w analizie wieloczynnikowej. Poza tym u mężczyzn stwierdzono dodatnią korelację między masą ciała, BMI, obwodem talii i odsetkiem tkanki tłuszczowej a stężeniem fosforu.

Stężenia witaminy 25-OH-D3 było nieistotnie niższe u kobiet (otyłych i zdrowych) niż u mężczyzn (otyłych i zdrowych). Również obserwowano nieistotnie niższe stężenia tej

witaminy w grupie otyłych kobiet vs kobiety zdrowe (17,8 ng/ml vs 29,5 ng/ml), podobnie jak u otyłych mężczyzn względem zdrowych (21,2 ng/ml vs 35,5 ng/ml). Stwierdzenie występowania ZM pozwoliło na zaobserwowanie jeszcze niższego stężenia tej witaminy u kobiet z ZM (7,3 ng/ml) względem kobiet z otyłością prostą (34,6 ng/ml) oraz kobiet zdrowych (29,5 ng/ml) – różnice były istotne statystycznie, natomiast u mężczyzn obserwowane różnice nie były istotne statystycznie, chociaż zauważalne (19,5 ng/ml vs 22,2 ng/ml oraz 35,5 ng/ml). Potwierdzono to też w analizie regresji wieloczynnikowej, gdzie stwierdzono, że na zmienność stężenia 25(OH)D₃ w badanej grupie wpływało występowanie zespołu metabolicznego (zmniejszeniem stężenia witaminy D). Dodatkowo w grupie kobiet stwierdzono ujemną korelację między masą ciała i BMI a stężeniem tej witaminy, natomiast w grupie mężczyzn, słaba ujemna korelacja była między BMI a stężeniem witaminy D₃.

Nie obserwowano istotnych różnic w stężeniach iPTH (ng/ml) pomiędzy badanymi grupami oraz płcią, czy występowaniem zespołu metabolicznego. W analizie regresji wieloczynnikowej stwierdzono, że na zmienność stężenia iPTH w badanej grupie wpływał wiek badanych (wraz z wiekiem obserwuje się większe stężenie iPTH).

Stężenie FGF-23 było zdecydowanie niższe u kobiet (obu grup) niż u mężczyzn (obu grup), natomiast różnice istotne statystycznie dotyczyły wyższego stężenia FGF-23 u otyłych mężczyzn względem otyłych kobiet (25,0 ng/ml vs 7,8 ng/ml), a nieistotnie wyższe u zdrowych mężczyzn niż kobiet (21,0 ng/ml vs 6,5 ng/ml). Stężenie FGF-23 było nieistotnie wyższe u kobiet z ZM niż pozostałych kobiet oraz nieistotnie niższe u mężczyzn z ZM niż u pozostałych mężczyzn. W analizie regresji wieloczynnikowej stwierdzono, że na zmienność stężenia FGF23 oraz CTX1 w badanej grupie wpływała płeć męska. U mężczyzn obserwowano większe stężenia powyższych wskaźników.

Stężenie osteokalcyny było istotnie wyższe u zdrowych mężczyzn (grupa kontrolna) niż otyłych (10,2 ng/ml vs 4,0 ng/ml) oraz nieistotnie wyższe u kobiet grupy kontrolnej niż badanej (5,0 ng/ml vs 3,9 ng/ml). Poza tym obserwowano wyższe średnie stężenie osteokalcyny u mężczyzn z ZM niż mężczyzn otyłych bez ZM, natomiast niższe u kobiet z ZM niż kobiet otyłych (brak istotności statystycznej). W grupie kobiet stwierdzono słabą ujemną korelację między procentową zawartością tkanki tłuszczowej w ustroju a stężeniem osteokalcyny, natomiast u mężczyzn stwierdzono słabą ujemną korelację między masą ciała, BMI i % zawartością tkanki tłuszczowej (najsilniej wyrażone w stosunku do % tkanki tłuszczowej). W analizie regresji wieloczynnikowej stwierdzono, że na zmienność stężenia osteokalcyny wpływał wiek badanych, gdzie wraz z wiekiem obserwowano większe stężenia osteokalcyny.

CTX (ng/ml) było wyższe u mężczyzn (obu grup) niż u kobiet (obu grup), przy czym różnice istotne statystycznie dotyczyły tylko otyłych mężczyzn względem otyłych kobiet (0,40 ng/ml vs 0,25 ng/ml). Występowanie ZM nie zmieniało tego parametru w sposób istotny statystycznie w badanych grupach oraz różnicach płciowych.

Podsumowując uzyskane wyniki badań należy stwierdzić, że na wszystkie badane parametry metabolicznej aktywności kości główny wpływ miał wiek i płeć badanych osób oraz występowanie zespołu metabolicznego, natomiast trudnym parametrem do oceny okazały się parametry antropometryczne tj. masa ciała, BMI, czy procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w ustroju. Wydaje się, że do wyjaśnienia tej zależności konieczne jest w przyszłości powiększenie grup badanych osób i odpowiedni dobór grupy kontrolnej oraz zwiększenie jej liczebności (oczywiście rozumiem, że były to ograniczenia opisane również przez autorkę pracy przedstawionej mi do recenzji).

W dyskusji zawartej na 9 stronach Doktorantka umiejętnie konfrontuje własne wyniki z uzyskanymi przez innych badaczy. Cytuje przy tym pozycje literaturowe spośród 122 pozycji zebranego piśmiennictwa (anglojęzycznego, w większości z ostatnich 15 lat). Należy stwierdzić, że Doktorantka wykazała się dużą znajomością opracowanego zagadnienia. Uzyskała dużo wyników i umiejętnie je przeanalizowała, przejrzysto je przedstawiła i omówiła w dyskusji.

Z przeprowadzonych badań Doktorantka wyciągnęła 5 wniosków końcowych, podsumowujących uzyskane wyniki:

1. Otyli mężczyźni w wieku powyżej 54 lat charakteryzują się większą aktywnością obrotu kostnego w porównaniu do otyłych kobiet w tym samym wieku.
2. Otyli mężczyźni charakteryzują się większym stężeniem FGF-23 i zbliżonym profilem hormonów kalcytropowych w porównaniu do otyłych kobiet.
3. Otyli mężczyźni mają mniejsze 10-letnie ryzyko złamania osteoporotycznego w porównaniu do otyłych kobiet.
4. Zespół metaboliczny nie wpływa istotnie na aktywność metabolizmu kości, zarówno u kobiet jak i u mężczyzn. Kobiety z zespołem metabolicznym charakteryzują się jednak mniejszym stężeniem 25-OH- D₃.
5. Kobiety z zespołem metabolicznym mają większe 10-letnie ryzyko złamania osteoporotycznego niż kobiety z otyłością prostą. Zespół metaboliczny nie wpływa na ryzyko złamania osteoporotycznego u mężczyzn.

Wyciągnięte wnioski w pełni uzasadniają postawione cele badania.

Z pozycji Recenzenta uważam, że tematyka badań jaką podjęła się lek. Magdalena Titz-Bober jest bardzo interesująca, posiada elementy poznawcze o znaczeniu klinicznym i praktycznym. Rzeczywiście mało jest prac poświęconych osteoporozie u mężczyzn, a jeszcze mniej porównujących metabolizm kości pomiędzy mężczyznami i kobietami z otyłością prostą oraz zespołem metabolicznym. Praca pokazała również, że istnieje jeszcze wiele niewiadomych co do wzajemnych relacji otyłości trzewnej i tkanki kostnej, co pokazuje kierunek dalszych badań.

Doktorantka nie ustrzegła się drobnych błędów literowych. Niemniej przytoczone uwagi nie obniżają w żadnym stopniu pozytywnych walorów pracy. Podsumowując chciałabym podkreślić trafny wybór tematu i jeszcze raz pogratulować Promotorowi i Doktorantce. Doktorantka posiadała umiejętności zaplanowania i wykonania pracy naukowej, umiejętnie przedyskutowała ją z literaturą i uzasadniła postawione cele wyciągając prawidłowo wnioski.

Uważam, że praca w pełni odpowiada wymogom stawianym tego typu pracom doktorskim. Dlatego też, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o dopuszczenie lek. Magdaleny Titz-Bober do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Dietetyki i Żywności Klinicznej

dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska

dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska

19.01.2016