



Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. i n.o zdr Beata Pyrżak

Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. „Analiza stężeń sirtuiny 1 u dzieci zdrowych oraz u dzieci z niedoborem wzrostu o różnej etiologii.”

Lekarz Anny Fedorczak

Sirtuina 1 (SIRT1), jedna z rodziny 7 białek które mogą mieć potencjalny wpływ na wzrastanie u dzieci, stała się przedmiotem badań lek. Anny Fedorczak. Białko to jest aktywowane w odpowiedzi na zaburzenia równowagi metabolicznej, które są wywoływane przez deficyt kaloryczny. Wpływa na szereg procesów metabolicznych uważa się, że promuje wydzielanie GH z przysadki, zaś podczas deficytu kalorycznego hamuje obwodowe działanie GH poprzez zmniejszenie ekspresji i wydzielania IGF-1. Celem tej regulacji jest utrzymanie równowagi między stymulowaniem i hamowaniem wzrastania, zachowując energię niezbędną dla kluczowych procesów metabolicznych. Uważam, że zadanie wykazania związku SIRT1 z niedoborem wzrostu o różnej etiologii jakie podjęła się doktorantka Anna Fedorczak jest ambitne i może nas przybliżyć do lepszego zrozumienia procesów fizjologicznych rozwoju dziecka głównie w okresie zwiększonego zapotrzebowania energetycznego jaki występuje w okresie wzrastania.

Dotychczas niewiele jest badań oceniających wpływ sirtuiny 1 na zaburzenia wzrastania u dzieci co dodatkowo świadczy o wyjątkowym charakterze poniższej pracy.

Może mieć to także znaczenie praktyczne przybliżające rolę i jakość spożywanej diety wpływającej na regulację prawidłowego wydzielania tego białka i jego działania a co za tym idzie bardziej efektywnego leczenia dzieci z niedoborem hormonu wzrostu. Uważam, że każda praca doktorska nie tylko uczy doktoranta ale także uczy promotora jak i recenzentów, czego dowodem jest niniejsza dysertacja.

Badania przeprowadzono u dzieci hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii i Chorób Metabolicznych Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi w latach 2021-2023.

Badania zostały zrealizowane dzięki środkom pozyskanym z grantu wewnętrznego Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki nr 15GW/2021, budżetu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa

Wyższego.

Informacje o recenzowanej Pracy Doktorskiej.

Rozprawa doktorska liczy 78 stron składa się z publikacji włączonych do postępowania o nadanie stopnia doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu, wstępu, celów pracy, opisu materiału i metod, przedstawienia wyników badań, dyskusji, wniosków oraz wykazu symboli i oznaczeń, publikacji oświadczeń i potwierdzenia udziału autorów w publikacjach naukowych oraz zgody komisji bioetycznej Instytutu na przeprowadzanie badań.

Układ strukturalny pracy doktorskiej jest nieco odmienny od klasycznych modeli pisania prac w których: nr 1 jest wstęp, następnie cele, materiał i metody wyniki badań i dyskusja a na końcu streszczenia. Układ taki nie wpływa na jakość merytoryczną pracy.

W skład cyklu publikacji będącego podstawą rozprawy doktorskiej wchodzi 3 artykuły o łącznym wskaźniku oddziaływania $IF=14,7$ i punktacji $MNiSW = 340p$. W ww. pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace były opublikowane zgodnie z wymogami i standardami publikacyjnymi w: International Journal of Molecular Sciences, Frontiers in Endocrinology, Biomedicines, oraz przeszły recenzje niezależnych recenzentów.

Proszę o wyjaśnienie czy w pracy doktorskiej nie powinno być zamieszczone potwierdzenie z biblioteki bibliografii doktorantki, oraz jakimi innymi publikacjami współautorstwa może pochwalić się Doktorantka. Czy ma jakieś osiągnięcia organizacyjne?

Cele pracy

1. Przegląd literatury dotyczącej SIRT1 z uwzględnieniem jej udziału w transdukcji sygnału wzrostowego oraz potencjalnym wpływie na proces wzrastania u dzieci
2. Analiza wpływu wybranych parametrów (wiek, płeć, stadium dojrzewania płciowego, wzrost, masa ciała) na stężenie SIRT1 u zdrowych dzieci.
3. Próba oceny zależności stężenia SIRT1 w surowicy od sposobu odżywiania dzieci zdrowych.
4. Porównanie stężenia SIRT1 w surowicy krwi u dzieci zdrowych oraz u dzieci z niskorosłością z grup: z niedoborem hormonu wzrostu (GHD) i z idiopatycznym niedoborem wzrostu (ISS).
5. Porównanie stężenia SIRT1 w surowicy krwi u dzieci zdrowych oraz u dzieci z niskorosłością z grup: z niedoborem hormonu wzrostu (GHD) i z idiopatycznym niedoborem wzrostu (ISS).

6. Analiza wzajemnych relacji pomiędzy stężeniem SIRT1 w surowicy a stężeniem GH (ocenianym w testach stymulacyjnych), IGF-1 i IGFBP-3 oraz stanem odżywienia wyrażonym wartością BMI w badanej grupie pacjentów.

Material i metody

Grupa dzieci zdrowych stanowiły dzieci przyjmowane do Kliniki Endokrynologii i Chorób Metabolicznych Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Kryterium włączenia były dzieci z prawidłowym wzrostem i masą ciała w wieku 4-16 lat, bez zaburzeń hormonalnych i opiekunowie prawni których wyrazili zgodę na udział w badaniu.

Grupę badaną stanowiła grupa dzieci z idiopatycznym niedoborem wzrostu oraz z niedoborem hormonu wzrostu przyjmowane jak wyżej.

U każdego dziecka przeprowadzono badanie podmiotowe i przedmiotowe, pomiary antropometryczne w tym wysokość, masę ciała SDS wzrostu również u rodziców, obliczono BMI i SDS dla BMI, wyliczono średnią rodzicielską wyliczono prognozowany wzrost docelowy dzieci. W badaniach radiologicznych u dzieci niskorosłych wykonano ocenę wieku kostnego, u dzieci z cechami dysmorfii kariotyp. U każdego dziecka wykonano badania laboratoryjne biochemiczne oraz stężenia IGF1, IGFBP3, SIRT1. U dzieci z niedoborem wzrostu wykonano 2 testy wyrzutowe na GH po klonidynie i po glukagonie. U dzieci z niedoborem wzrostu wykluczono choroby przewlekłe, u dzieci dysmorficznych wykonano kariotypy, wykluczono dzieci z SGA/IUGR. U dzieci przeprowadzona ankieta dietetyczną w której pytano o częstość spożywania przez dzieci poszczególnych rodzajów żywności w poprzednim miesiącu.

Uważam że wzór takiej ankiety powinien być dołączony do doktoratu.

Proszę o wyjaśnienie co było powodem hospitalizacji dzieci zdrowych w szpitalu

Publikacja 1 została opublikowana w International Journal of Molecular Sciences, jest to przegląd literatury dotyczący udziału białka SIRT1 w transdukcji sygnału hormonu wzrostu (GH)/insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) oraz jej wpływu na proces wzrastania.. Omówiono również udział SIRT1 w innych procesach zachodzących wewnątrzkomórkowo uwzględniając jej znaczenie w regulacji metabolizmu, cyklu komórkowego, apoptozy, naprawie DNA czy odpowiedzi na stres oksydacyjny. Uznano, że działania SIRT1 mogą mieć potencjalny wpływ na proces wzrastania u dzieci. Podkreślono, że dotychczas niewiele jest

prac oryginalnych na ten temat co dało podstawę do badań przeprowadzonych przez Doktorantkę.

Publikacja 2 została opublikowana w *Frontiers in Endocrinology*, jest pracą oryginalną, która miała na celu ocenę stężenia SIRT1 w surowicy na czczo u zdrowych dzieci oraz analizę wpływu wieku, płci, dojrzewania, masy ciała, wzrostu oraz diety na jej stężenie. Do badania zostało włączonych 47 zdrowych dzieci z prawidłową masą ciała i wzrostem, nie chorujących przewlekłe oraz niebędących w trakcie ostrej infekcji.

Publikacja 3 została opublikowana w *Biomedicines*, jest również pracą oryginalną w której analizowano zależność pomiędzy stężeniami SIRT1 w surowicy dzieci z niedoborem GH (GHD) a ich stężeniami u dzieci z idiopatycznym niedoborem wzrostu (ISS, bez niedoboru GH) oraz określano możliwy wpływ zmian stężeń SIRT1 w surowicy na wydzielanie GH i IGF-1. Tym razem grupa badana obejmowała 100 dzieci z niedoborem wzrostu: 38 z GHD i 62 z ISS (maksymalne wydzielanie GH w dwóch testach stymulacji <10 i ≥ 10 ng/ml, odpowiednio).

Wyniki badań opracowano statystycznie przy użyciu oprogramowania Statistica. Dobór badań statystycznych był prawidłowy.

Wyniki badań:

W publikacji nr 2:

Grupę dzieci zdrowych stanowiło 47 dzieci z prawidłowym wzrostem. Średni wiek dzieci wynosił $10,35 \pm 2,6$ lat (, 57,5% stanowili chłopcy. Stężenia SIRT1 w surowicy u zdrowych dzieci mieściły się w zakresie od 0,04 do 0,96 ng/ml. Średnie stężenie SIRT1 u zdrowych dzieci wynosiło $0,29 \pm 0,21$ ng/ml (średnia \pm SD), podczas gdy mediana (Q1 – Q3) wynosiła 0,26 (0,14 – 0,38) ng/ml. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem SIRT1 a: wiekiem dzieci ($r = 0,16$), masą ciała ($r = 0,11$) i SDS masy ciała ($r = -0,05$), wzrostem ($r = 0,13$), SDS wzrostu ($r = -0,01$), BMI ($r = 0,05$), BMI SDS ($r = -0,04$). Nie wykazano również korelacji między stężeniami SIRT1 a: IGF-1 ($r = 0,11$), IGF-1 SDS ($r = 0,08$), IGFBP-3 ($r = 0,12$), IGF-1/IGFBP-3 molar ratio ($r = 0,06$). Stężenia SIRT1 nie różniły się istotnie w podgrupach dzieci, podzielonych ze względu na: płeć, wiek (≥ 10 vs <10 lat), stadium dojrzewania (przedpokwitaniowe vs będące w okresie pokwitania), BMI (BMI SDS ≥ 0 vs <0), wzrost (SDS wzrostu ≥ 0 vs <0) czy stężenie IGF-1 (IGF-1 SDS ≥ 0 vs <0). W badaniu wykazano natomiast, że dzieci, które spożywały co najmniej 4-5 porcji owoców lub warzyw dziennie miały istotnie wyższe poziomy SIRT1 niż dzieci, które spożywały mniej porcji (0-3

dziennie): 0,41 (0,23 – 0,6) ng/ml vs 0,2 (0,1 – 0,34) ng/ml, $p < 0,02$, odpowiednio. Stwierdzono również, że dzieci spożywające więcej owoców i warzyw (co najmniej 2-3 porcje dziennie) miały istotnie niższe wartości IGF-1 SDS [-0,69 (-1,59 – -0,2) ng/ml vs 0,37 (-0,4 – 0,68) ng/ml, $p < 0,006$], a także były szczuplejsze [BMI 16,64 (15 – 18,67) vs 18,24 (16,22 – 21,2), $p < 0,056$ oraz BMI SDS - 0,39 (-0,92 – 0,31) vs 0,3 (-0,34 – 1,6), $p < 0,088$]. Stężenie SIRT1 było również nieznacznie, ale istotnie wyższe w grupie dzieci spożywających produkty mleczne częściej, tj. przy spożyciu co najmniej 2-3 razy dziennie w porównaniu do spożycia 0-1 raz dziennie: 0,34 (0,2 – 0,54) ng/ml vs 0,18 (0,14 – 0,29) ng/ml, $p < 0,018$.

W publikacji nr 3:

Do badania zakwalifikowanych zostało 100 dzieci z niedoborem wzrostu. Niedobór hormonu wzrostu (GHD) rozpoznawano w przypadku stwierdzenia maksymalnego wydzielania GH w obu testach stymulacyjnych poniżej 10 ng/ml. Idiopatyczny niedobór wzrostu (ISS) rozpoznawano w przypadku stwierdzenia maksymalnego wydzielania GH w co najmniej jednym teście stymulacyjnych powyżej 10 ng/ml. W odniesieniu do wyników testów stymulacji GH, pacjenci zostali podzieleni w następujący sposób: u 38 dzieci zdiagnozowano GHD, a u 62 dzieci ISS. Stężenie SIRT1 było istotnie wyższe w obu grupach dzieci niskorosłych (GHD i ISS) niż w grupie dzieci zdrowych (odpowiednio $1,24 \pm 0,86$ ng/ml oraz $0,89 \pm 0,45$ ng/ml vs $0,29 \pm 0,21$ ng/ml, $p < 0,0001$), ale podobnie jak stężenia IGF-1 i IGFBP-3 oraz IGF-1/IGFBP-3 molar ratio, nie różniło się między dwiema grupami dzieci niskorosłych (GHD i ISS). W całej analizowanej grupie stwierdzono istotną ujemną korelację między SIRT1 a każdym z wymienionych parametrów: wzrost ($r = -0,29$, $p < 0,0008$), SDS wzrostu ($r = -0,43$, $p < 0,0001$), IGF-1 ($r = -0,21$, $p < 0,0097$), IGF1/IGFBP-3 molar ratio ($r = -0,18$, $p < 0,0325$), a także z masą ciała ($r = -0,29$, $p < 0,0005$), SDS masy ciała ($r = -0,42$, $p < 0,0001$), BMI ($r = -0,24$, $p < 0,006$) oraz BMI SDS dla HA ($r = -0,26$, $p < 0,0019$). Pacjentów z GHD podzielono dodatkowo na dwie podgrupy: z ciężkim GHD (severe GHD, sGHD) i częściowym GHD (partial GHD, pGHD). Stężenia SIRT1 w surowicy były istotnie wyższe w grupie pacjentów z pGHD niż ISS ($1,51 \pm 0,98$ ng/ml vs. $0,89 \pm 0,45$ ng/ml, $p < 0,0391$). Z kolei dzieci z sGHD, choć stanowiły bardzo małą grupę ($n=16$), to było widoczne, że poziomy SIRT1 były u nich również niższe niż w grupie pGHD ($0,87 \pm 0,49$ ng/ml). Z kolei grupy ISS i pGHD były podobne pod względem BMI SDS ($-0,87 \pm 1,08$ i $-0,59 \pm 1,09$) oraz IGF-1 SDS ($-1,28 \pm 0,84$ i $-1,44 \pm 0,89$) i różniły się istotnie od grupy sGHD (BMI SDS $0,79 \pm 1,09$, $p < 0,002$; IGF-1 SDS $-1,99 \pm 1,04$, $p < 0,0395$).

Na podstawie przeprowadzonych badań zostały sformułowane wnioski:

1. Stężenia SIRT1 w surowicy u zdrowych dzieci nie różnią się w zależności od płci, wieku, stadium dojrzewania, parametrów aukuologicznych i poziomów IGF-1.
2. Większa częstość spożywania owoców, warzyw oraz produktów mlecznych wiąże się ze zwiększonym stężeniem SIRT1 w surowicy u dzieci zdrowych.
3. U niskorosłych dzieci, niezależnie od wydzielania GH, stężenie SIRT1 w surowicy jest podwyższone.
4. Istnieje istotna ujemna korelacja pomiędzy SIRT1 a: poziomem IGF-1, stosunkiem molowym IGF-1/IGFBP-3 oraz nasileniem niedoboru wzrostu. SIRT1 może stanowić jeden z mechanizmów, poprzez które wydzielanie IGF-1 jest zmniejszone u niskorosłych dzieci.

Uważam, że wnioski końcowe w oparciu o uzyskane wyniki badań są właściwe i wskazują na dużą odpowiedzialność i rozwagę Doktorantki do przeprowadzania analiz uzyskanych wyników badań.

W cyklu prac Doktorantka zamieściła piśmiennictwo głównie anglojęzyczne które było aktualne i prawidłowo dobrane.

Lekarz Anna Fedorczał samodzielnie zaprojektowała badania do cyklu publikacji. W każdej z prac zarówno wstęp jak i dyskusja wskazują na znakomite merytoryczne przygotowanie Doktorantki do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej. Praca 1 w mojej opinii zasługuje na szczególne uznanie z uwagi na szczegółowy opis mechanizmów wpływu SIRT1 na procesy biologiczne, na oś podwzgórzowo-przysadkową a tym samym na regulację GH-IGF1, na oś JAK2 /STAT5 β , na procesy wzrastania chondrocytów i innych z tym związanych. Dyskusja podsumowująca, oraz w artykule 2 i 3 wskazuje na bardzo dobrą umiejętność przeprowadzania analiz swoich wyników badań w konfrontacji z innymi badaczami. Mocną stroną prac oryginalnych jest wiarygodna liczba pacjentów grupy kontrolnej i badawczej oraz świetny warsztat diagnostyczny.

Uwagi wcześniej zawarte nie mają wpływu na wartość merytoryczną pracy.

WNIOSEK KOŃCOWY

Lek. Anna Fedorczak przedstawiła swoje badania które samodzielnie zaplanowała, wykonała przy użyciu prawidłowych metod badawczych i które zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach przechodząc wielokrotną drogę recenzji. Cykl prac mają spójny temat i wyjaśnienie zadań które sobie postawiła mają logiczny ciąg oraz są oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego. Postawiła sobie cele, które zrealizowała przez rzetelną analizę uzyskanych wyników oraz właściwą ich interpretację.

Przedstawiona mi do **recenzji rozprawa doktorska lek. Anny Fedorczak pt. „ Analiza stężeń sirtuiny 1 u dzieci zdrowych oraz u dzieci z niedoborem wzrostu o różnej etiologii”** spełnia wszystkie warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. **Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce t.j. Dz.U z 2023 r. poz 742 z późn.zm.- jeżeli postępowanie rozpoczęło się po 1.10.2019.** W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” o dopuszczenie lek. Anny Fedorczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Zwracam się również o wyróżnienie ww. pracy z uwagi na jej nowatorski wkład z zakresu badań nad wpływem białka SIRT1 na procesy wzrastania i żywienia u dzieci.

Warszawa, 17.12.2024

Podpis jest prawidłowy

Dokument podpisany przez Beata Pyrzak
Data 2024.12.17 10:42:49 GET

Kierownik Kliniki Endokrynologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

KIEROWNIK
Kliniki Pediatrii i Endokrynologii

prof. dr hab. n. med. Beata Pyrzak