



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Klinika Pediatrii i Endokrynologii

Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Beata Pyrzak

Warszawa, 24-06-2019,

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

pt. „ANALIZA STĘŻEŃ WYBRANYCH INTERLEUKIN

PRO I PRZECIWZAPALNYCH ORAZ ADIPOMIOKINY IRYZYNY W SUROWICY  
U DZIECI W WIEKU PRZEDPOKWITANIOWYM Z SOMATOTROPINOWĄ NIEDOCZYNNOSCIA  
PRZYSADKI PRZED I W TRAKCIE LECZENIA HORMONEM WZROSTU”

Lekarz Anny Malinowskiej

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja obejmuje badania nad rolą wybranych interleukin pro i przeciwzapalnych oraz adipomiokiny iryzyny u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki leczonych hormonem wzrostu. Powszechnie wiadomo, że hormonu wzrostu promuje proces wzrastania u dzieci i wpływa na przemiany metaboliczne lipidów, białek i węglowodanów oraz na mineralizację kośćca. Istotnie także wpływa na regulację oraz czynność systemu immunologicznego. Udowodniono, że niedobór hormonu wzrostu powoduje zaburzenia proporcji tłuszczowej do beztłuszczowej masy ciała na korzyść tej pierwszej co może wpływać niekorzystnie na rozwój powikłań naczyniowych i zwiększonego ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych w przyszłości. W niektórych badaniach naukowych podkreśla się, że u osób dorosłych z niedoborem hormonu wzrostu występują niekorzystne zaburzenia lipidowe oraz nieprawidłowe poziomy cytokin. Niewiele jest badań dotyczących oceny stężenia cytokin pro i przeciwzapalnych u dzieci i młodzieży z Somatotropinową Niedoczynnością Przysadki. Nadal nie jest znany wpływ hormonu wzrostu na ich aktywność metaboliczną.

Dlatego przeprowadzone badanie przez lek Annę Malinowską zasługuje na uznanie jako próba oryginalnego rozwiązania problemu naukowego.

### **Informacje o recenzowanej Pracy Doktorskiej**

Rozprawa doktorska liczy 180 stron i ma typowy układ pracy naukowej; składa się z 10 rozdziałów poprzedzonych *Wykazem stosowanych skrótów*.

W rozdziale 1. *Wstęp* Doktorantka prezentuje aktualny stan wiedzy dotyczący budowy, regulacji wydzielania i mechanizmu działania hormonu wzrostu. W dalszej części omawia budowę i funkcję tkanki tłuszczowej oraz panel cytokin produkowanych przez tkankę tłuszczową w tym: czynnik martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ), interleukinę-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukinę-2 (IL-2), interleukinę-4 (IL-4), interleukinę-6 (IL-6), interleukinę-10 (IL-10), oraz adipomiokinę iryzynę. Doktorantka przytacza aktualną wiedzę na temat ich działania i wpływu terapii hormonem wzrostu na ich stężenia w dotychczas opublikowanych badaniach, których jest niewiele, a wyniki tych badań nie są jednoznaczne, co podkreśla znaczenie podjętej tematyki. Na podkreślenie zasługuje także fakt, przystępnego prezentowania danych z literatury, sprawnego przechodzenia do omówienia kolejnych zagadnień, ważnych w aspekcie podjętego tematu pracy doktorskiej.

W rozdziale 2 *Założenia i cele pracy* Doktorantka podsumowując dane z piśmiennictwa uważa, że skoro nie wiadomo jak u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu ulegają zmianom stężenia wybranych cytokin i iryzyny w odniesieniu do zmieniającego się pod wpływem leczenia hormonem wzrostu składu masy ciała, stężenia lipidów i parametrów gospodarki węglowodanowej, należałoby te aspekty przebadać.

Stanowi to uzasadnienie do przyjętych założeń i celów pracy. Do założeń pracy zalicza:

1. Niedobór GH u dzieci w wieku przedpokwitaniowym, będący efektem SNP rozpoznanej zgodnie z kryteriami Programu Lekowego NFZ, wpływa na stężenie w surowicy interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny jak również na skład masy ciała oraz parametry gospodarki lipidowej i węglowodanowej.
2. Leczenie hormonem wzrostu dzieci w wieku przedpokwitaniowym z SNP wpływa na stężenie w surowicy interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny.
3. Leczenie hormonem wzrostu dzieci w wieku przedpokwitaniowym z SNP wpływa na szybkość wzrastania, parametry gospodarki lipidowej i węglowodanowej oraz na

skład masy ciała i pozostaje w związku ze zmieniającym się pod wpływem leczenia stężeniem w surowicy interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny.

4. Zmieniające się pod wpływem leczenia hormonem wzrostu stężenie interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny może być markerem metabolicznego i/lub immunologicznego działania hormonu wzrostu.

Do celów pracy zalicza:

1. Ocena stężenia interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny w surowicy u dzieci w wieku przedpokwitaniowym z SNP rozpoznaną zgodnie z kryteriami Programu Lekowego NFZ przed rozpoczęciem i po 6 miesiącach terapii ludzkim rekombinowanym hormonem wzrostu.
2. Ocena związku stężenia interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  i iryzyny z obserwowaną w wyniku leczenia poprawą szybkości wzrastania, zmianą składu masy ciała i wybranymi parametrami antropometrycznymi oraz gospodarki węglowodanowej i lipidowej.
3. Badanie wpływu leczenia hormonem wzrostu na gospodarkę węglowodanową i lipidową i związek tych zmian ze zmianami stężenia interleukin, TNF- $\alpha$  i iryzyny.
4. Ocena otrzymanych wyników pod względem ich potencjalnej wartości diagnostycznej i prognostycznej w leczeniu dzieci z SNP hormonem wzrostu.

W rozdziale 3 *Pacjenci* Doktorantka opisuje badaną grupę dzieci.

Do badania włączono 55 dzieci w tym: 30 dzieci niskorosłych z idiopatyczną somatotropinową niedoczynnością przysadki zakwalifikowanych do leczenia rhGH zgodnie z kryteriami Programu Lekowego NFZ: grupa leczonych GH (grupa SNP), oraz 25 dzieci zdrowych bez zaburzeń wzrastania dobranych podobnie pod względem płci i wieku do grupy badanej (grupa kontrolna). Badanie miało charakter porównawczy i prospektywny. Zostało przeprowadzone w latach 2015 – 2016. Wszyscy pacjenci byli lub nadal pozostają pod opieką Oddziału i Poradni Endokrynologii w Klinice Endokrynologii i Diabetologii Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie. Projekt uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej przy IPCZD w 2014 roku (uchwała nr 163/KBE/2014 z dn. 30.09.2014).

Badania były finansowane ze środków projektu badawczego na działalność statutową Wydziału Lekarskiego i Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach realizowanego w latach 2015 – 2016 (nr BS 615535).

Rodzice dzieci zostali poinformowani o celu badania i podpisali dokument „Świadomej zgody Rodziców na przeprowadzenie badań”.

Kryteriami włączenia pacjentów do grupy SNP były:

- ✓ dzieci z niedoborem wzrostu z powodu idiopatycznej somatotropinowej niedoczynności przysadki rozpoznanej zgodnie z kryteriami Programu Lekowego NFZ
- ✓ prawidłowa urodzeniowa masa ciała to jest >2500 g dla urodzonych o czasie (ukończony 37 tydzień ciąży)
- ✓ dzieci w wieku  $\geq 4$  lat i  $\leq 12$  lat
- ✓ dzieci w przedpokwitaniowym stadium rozwoju
- ✓ dzieci z prawidłową masą ciała (10 – 90 centyl) zgodnie z siatkami centylowymi BMI opracowanymi przez IMiD w Warszawie.
- ✓ podpisany przez rodziców/opiekunów prawnych dokument świadomej zgody na wykonywanie badań

Kryteriami włączenia pacjentów do grupy kontrolnej były:

- ✓ dzieci zdrowe z prawidłową wysokością i masą ciała, zgodnie z siatkami centylowymi BMI (10 – 90 centyl), zakwalifikowano dzieci zgodnie z układem odniesienia opracowanym przez IMiD w Warszawie.
- ✓ prawidłowa urodzeniowa masa ciała, to jest >2500 g dla urodzonych o czasie (ukończony 37 tydzień ciąży)
- ✓ dzieci w wieku  $\geq 4$  lat i  $\leq 12$  lat
- ✓ dzieci w przedpokwitaniowym stadium rozwoju
- ✓ podpisany przez rodziców/opiekunów prawnych dokument świadomej zgody na wykonywanie badań

Grupę kontrolną stanowili pacjenci konsultowani w Poradni Endokrynologicznej IPCZD, u których nie stwierdzono zaburzeń hormonalnych. Wszyscy pacjenci byli badani przez tego samego lekarza. Do kryteriów wyłączenia z grupy SNP i grupy kontrolnej stanowiły dzieci u których występowały: współistniejące zaburzenia hormonalne, otyłość, stosowanie innych leków mających wpływ na otyłość, wielohormonalna niedoczynność przysadki, stany poleczeni onkologicznym, zaburzenia immunologiczne, współistniejące schorzenia autoimmunizacyjne, przewlekłe stany zapalne, wady serca, płuc, brak zgody na udział w badaniu.

Zgodnie z założeniami pracy, grupę pacjentów SNP oraz grupę kontrolną dobrano odpowiednio pod względem wieku, stadium pokwitania, masy ciała oraz wzrostu. Charakterystyka pacjentów z grupy badanej i kontrolnej Doktorantka przedstawiła w tabeli 1. Średni wiek kalendarzowy dzieci w grupie SNP przed rozpoczęciem leczenia (grupa SNP przed leczeniem rhGH) nie różnił się od wieku dzieci w grupie kontrolnej. Średni wiek wzrostowy pacjentów w grupie SNP był istotnie niższy niż średni wiek wzrostowy dzieci w grupie kontrolnej. Wzrost badanych dzieci w grupie SNP był istotnie niższy niż wzrost w grupie kontrolnej. Średnia masa ciała pacjentów była istotnie niższa w porównaniu do masy ciała dzieci z grupy kontrolnej. Nie było istotnych statystycznie różnic między grupą SNP przed rozpoczęciem leczenia rhGH a grupą kontrolną w odniesieniu do masy ciała i BMI wyrażonego w SDS do wieku wzrostowego oraz średniego BMI w odniesieniu do wieku kalendarzowego. Różnice pomiędzy grupami potwierdziły staranność i zasadność doboru grup.

W rozdziale 3 *Metody* Doktorantka przedstawia zakres badań przeprowadzonych w grupie dzieci z SNP i grupie kontrolnej. Dzieci z grupy SNP miały wykonywane badania podmiotowe, przedmiotowe, antropometryczne w tym pomiary fałdów skórno-tłuszczowych wyliczono procentową zawartości masy tłuszczowej i beztłuszczowej MAFA i MAMA, bioimpedancję pomiaru składu masy ciała, badania biochemiczne, hormonalne i immunologiczne. Wszystkie badania biochemiczne wykonano w laboratorium ALAB przy IP-CZD. Badania biochemiczne obejmowały lipidogram, wyliczono wskaźnik TG/HDL, test OGTT z oceną glikemii i insulinemii, wyliczono: wskaźnik insulinemia / glikemia (IRI/G, *Insulin Resistance – Insulin/Glucose*), wskaźnik HOMA-IR, QUICKI, Matsudy, Belfiore, stężenia cytokin, IGF1 i iryzyny. Z powodu braku zakresu prawidłowego dla większości z oznaczanych cytokin i

iryzyny w odniesieniu do populacji pediatrycznej, w pracy przeprowadzono analizy uwzględniając zmiany poziomów badanych cytokin i iryzyny. W grupie SNP analizie poddano zmiany stężenia badanych cytokin i iryzyny oraz przyrosty stężenia ( $\Delta$ ) w porównaniu do wyników uzyskanych przed rozpoczęciem leczenia rhGH oraz zmiany wyników pomiarów antropometrycznych (z uwzględnieniem zmian składu masy ciała), gospodarki węglowodanowej i lipidowej po 6 miesiącach od włączenia leczenia. .

Grupę SNP podzielono na podgrupy:

- ✓ na podstawie stopnia niedoboru wysokości ciała z uwzględnieniem średniego wzrostu rodziców (hSDS – mpSDS) wyrażonego medianą SDS wysokości ciała przed rozpoczęciem terapii (grupa SNP < mediany SDS wysokości ciała vs. grupa SNP > mediany SDS wysokości ciała).
- ✓ na podstawie zawartości tkanki tłuszczowej (MAFA) w badaniu antropometrycznym wyrażonej medianą MAFA przed rozpoczęciem leczenia (grupa SNP z MAFA < mediany vs. grupa SNP z MAFA > mediany).
- ✓ na podstawie przyrostu wysokości ciała po 6 miesiącach terapii wyrażonego medianą zmiany SDS wysokości ciała (grupa SNP < mediany  $\Delta$  SDS wysokości ciała vs. grupa SNP > mediany  $\Delta$  SDS wysokości ciała).

U pacjentów z grupy kontrolnej Doktorantka wykonała następujące badania:

- ✓ badanie przedmiotowe z oceną stadium pokwitania wg skali Tannera
- ✓ podstawowe pomiary antropometryczne: wzrost, masa ciała, wyliczono BMI
- ✓ oznaczono w surowicy krwi stężenie interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny

W grupie kontrolnej nie przeprowadzono badań biochemicznych oceniających gospodarkę węglowodanową i lipidową, gdyż pacjenci nie byli odpowiednio przygotowani do tych badań. Wynikało to z faktu, że badania stężenia interleukin: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny u pacjentów z grupy kontrolnej wykonywano przy okazji pobrań krwi do badań kontrolnych. Tu możemy tylko żałować, że nie zostały pobrane podstawowe badania biochemiczne w tym glikemia, insulina i lipidy ponieważ interesujące byłoby zachowanie się

cytokin i iryzyny w aspekcie porównawczym, a dzieci przecież miały pobieraną krew i powinny były być na czczo tak jak dzieci w grupie SNP.

W kolejnym podrozdziale 3.3 Doktorantka opisuje zakres badań statystycznych które wykorzystwała w badaniu, uważam je za zasadne i prawidłowo dobrane.

W kolejnym podrozdziale Doktorantka podsumowuje wyniki badań: W podziale na analizy poszczególnych cytokin stwierdziła że: i odpowiednio:

1. Stężenie interleukin, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny w grupie SNP w porównaniu do grupy kontrolnej:
  - ✓ Nie wykazano istotnych różnic w stężeniu badanych interleukin, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny w grupie SNP przed leczeniem w porównaniu do wyników w grupie kontrolnej.
  - ✓ Nie wykazano istotnych różnic w stężeniu badanych interleukin, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny w grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH w porównaniu do wyników w grupie kontrolnej.
  - ✓ W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia nieistotnie wyższe było stężenie TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6 oraz iryzyny, podczas gdy stężenia IL-1 $\beta$  oraz IL-10 były nieistotnie niższe w porównaniu do wyników w grupie kontrolnej.
2. Stężenie interleukin, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny po 6 miesiącach leczenia rhGH w grupie SNP:
  - ✓ Po 6 miesiącach leczenia rhGH stężenie TNF- $\alpha$  istotnie wzrosło w porównaniu do stężenia w grupie SNP przed leczeniem.
  - ✓ Nie wykazano istotnych zmian w stężeniu pozostałych cytokin oraz iryzyny po 6 miesiącach leczenia rhGH. Stwierdzono, że po 6 miesiącach terapii rhGH stężenie IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 było wyższe, stężenie IL-2 oraz IL-4 było niższe, a stężenie iryzyny takie samo w porównaniu do wyników przed rozpoczęciem leczenia; różnice te były nieistotne statystycznie.
  - ✓ Stężenie interleukin, TNF- $\alpha$  oraz iryzyny po 6 miesiącach terapii rhGH pozostaje w statystycznie istotnym związku z ich wyjściowym stężeniem; im niższe (lub wyższe) było stężenie przed rozpoczęciem terapii tym większy (lub mniejszy) był przyrost stężenia po 6 miesiącach leczenia.
  - ✓ W grupie SNP przed leczeniem i po 6 miesiącach terapii rhGH wykazano istotną, statystycznie dodatnią korelację między stężeniem IL-2 i IL-4 oraz dodatnią między IL-1 $\beta$  i IL-4.

- ✓ Stwierdzono istotną, dodatnią korelację między stężeniem IL-4 przed leczeniem rhGH a stężeniem IL-1 $\beta$  i IL-2 po 6 miesiącach terapii.
3. Ponadto wykazano, że po 6 miesiącach leczenia rhGH:
- ✓ Istotnie zmniejszył się niedobór wzrostu wyrażony w SDS wysokości ciała.
  - ✓ Istotnie zwiększył się odsetek beztłuszczowej i zmniejszył się odsetek tłuszczowej masy ciała.
  - ✓ Istotnie wzrosło stężenie insuliny na czczo i w 60 min testu OGTT oraz zwiększyła się insulinoporność i zmniejszyła się insulinowrażliwość zbadane przy pomocy wskaźników: IRI/G, HOMA-IR, QUICKI oraz Matsudy.
  - ✓ Znamienne zwiększyło się stężenie cholesterolu całkowitego.
4. Stężenie cytokin i iryzyny oraz ich korelacje z parametrami antropometrycznymi oraz parametrami gospodarki węglowodanowej i lipidowej w grupie SNP i grupie kontrolnej:
- A. TNF- $\alpha$
- W grupie SNP przed leczeniem rhGH:
- Stężenie TNF- $\alpha$  istotnie ujemnie korelowało z wiekiem kalendarzowym, wiekiem wzrostowym, wysokością i masą ciała.
- W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH:
- Stężenie TNF- $\alpha$  istotnie ujemnie korelowało z wiekiem wzrostowym, wysokością i masą ciała oraz z odsetkiem tłuszczowej masy ciała.
  - Stężenie TNF- $\alpha$  istotnie dodatnio korelowało z odsetkiem beztłuszczowej masy ciała.
  - Zaobserwowano istotne zależności: 1) im niższy był odsetek tłuszczowej masy ciała przed leczeniem tym wyższy był przyrost ( $\Delta$ ) TNF- $\alpha$  oraz 2) im wyższy był odsetek beztłuszczowej masy ciała przed leczeniem tym wyższy był przyrost ( $\Delta$ ) TNF- $\alpha$ .
- B. IL-1 $\beta$
- W grupie SNP przed leczeniem rhGH:
- Stężenie IL-1 $\beta$  istotnie dodatnio korelowało z odsetkiem tłuszczowej masy ciała.
- W grupie SNP po 6 miesiącach terapii rhGH:
- Wykazano, że im większy był przyrost BMI SDS w odniesieniu do wieku wzrostowego tym większy był przyrost stężenia IL-1 $\beta$ .
- Po podziale grupy SNP na podgrupy w zależności od stopnia niedoboru wzrostu przed leczeniem rhGH:

- Stężenie IL-1 $\beta$  różnicowało podgrupę dzieci z większym od podgrupy dzieci z mniejszym niedoborem wzrostu.
- Wykazano, że przed rozpoczęciem leczenia stężenie IL-1 $\beta$  i iryzyny było istotnie wyższe w podgrupie pacjentów z większym niedoborem wzrostu, w przeciwieństwie do wartości wskaźnika HOMA-IR, który w grupie dzieci z większym niedoborem wzrostu był nieistotnie niższy z tendencją do istotności ( $p=0,06$ ).

#### C. IL-2

##### W grupie SNP przed leczeniem rhGH:

- Stężenie IL-2 istotnie dodatnio korelowało z poziomem insuliny w 120 min testu OGTT.
- Stężenie IL-2 istotnie ujemnie korelowało z wartością wskaźnika Matsudy.
- Wykazano, że im wyższe było stężenie IL-2 przed leczeniem tym większy był przyrost stężenia IGF-1 po 3 miesiącach terapii rhGH.

##### W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH wykazano, że:

- im większa była wyjściowa masa ciała w odniesieniu do wieku kalendarzowego wyrażona w SDS tym większy był przyrost IL-2.
- im większy był przyrost stężenia IL-2 tym mniejszy był przyrost wskaźnika Matsudy.
- im większy był przyrost stężenia IL-2 tym większy był przyrost stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL cholesterolu.

#### D. IL-4

##### W grupie SNP przed leczeniem rhGH:

- Stężenie IL-4 istotnie dodatnio korelowało z wiekiem kalendarzowym, wiekiem wzrostowym, wysokością i masą ciała oraz odsetkiem tłuszczowej masy ciała. Stężenie IL-4 istotnie ujemnie korelowało z odsetkiem beztłuszczowej masy ciała.
- Stężenie IL-4 istotnie ujemnie korelowało ze wzrostem wartości wskaźnika Matsudy.
- Stwierdzono, że im wyższe było stężenie IL-4 przed leczeniem tym większy był przyrost stężenia IGF-1 po 3 miesiącach terapii rhGH.

##### W grupie SNP po 6 miesiącach terapii rhGH wykazano, że:

- im niższa była wysokość i masa ciała oraz niższy wiek wzrostowy przed leczeniem tym wyższy był przyrost stężenia IL-4.

- im mniejszy był odsetek tłuszczowej masy ciała przed leczeniem tym wyższy był przyrost stężenia IL-4. Ponadto, im większy był odsetek beztłuszczowej masy ciała przed leczeniem tym wyższy był przyrost stężenia IL-4.
- im niższy był poziom IGF-1 oraz mniejszy przyrost IGF-1 po 3 miesiącach leczenia rhGH tym wyższy był przyrost stężenia IL-4.
- im niższa była insulinemia w 60 min testu OGTT przed rozpoczęciem leczenia rhGH tym wyższy był przyrost stężenia IL-4.
- im wyższa była wartość wskaźnika Matsudy przed leczeniem rhGH tym większy był przyrost stężenia IL-4.
- im mniejszy był przyrost stężenia frakcji HDL cholesterolu tym większy był przyrost stężenia IL-4.

W grupie kontrolnej:

- Stężenie IL-4 istotnie dodatnio korelowało z masą ciała oraz BMI.

Po podziale grupy SNP na podgrupy w zależności od zawartości tkanki tłuszczowej (MAFA) przed leczeniem rhGH:

- Stężenie IL-4 różnicowało podgrupę dzieci z większą od podgrupy dzieci z mniejszą zawartością tkanki tłuszczowej (Tabela XVIII).
- Wykazano, że przed rozpoczęciem leczenia stężenie IL-4 w podgrupie pacjentów z większą zawartością tkanki tłuszczowej było nieistotnie wyższe z tendencją do istotności ( $p=0,06$ ), podobnie jak poziom insuliny w 120 min testu OGTT oraz BMI SDS do wieku wzrostowego, przeciwnie zaś do poziomu glukozy na czczo, który w grupie dzieci z większą zawartością tkanki tłuszczowej był istotnie niższy.

E. IL-6

W grupie SNP przed leczeniem rhGH:

- Stężenie IL-6 istotnie ujemnie korelowało ze stężeniem cholesterolu całkowitego.

W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH stwierdzono, że:

- im większy był przyrost stężenia IL-6 tym większy był przyrost odsetka tłuszczowej masy ciała oraz mniejszy beztłuszczowej masy ciała.
- im większy był wyjściowy odsetek beztłuszczowej masy ciała tym większy był przyrost stężenia IL-6 oraz że, im mniejszy był wyjściowy odsetek tłuszczowej masy ciała tym większy był przyrost stężenia IL-6.

- im większy był przyrost stężenia IL-6 tym większy był przyrost insulinemii na czczo oraz wartości wskaźnika IRI/G, natomiast mniejszy był przyrost wartości wskaźnika QUICKI.

#### F. IL-10

##### W grupie SNP przed leczeniem rhGH:

- Stężenie IL-10 istotnie dodatnio korelowało z odsetkiem beztłuszczowej masy ciała.
- Stężenie IL-10 istotnie dodatnio korelowało ze stężeniem insuliny w 120 min testu OGTT oraz z wartością wskaźnika TG/HDL.
- Stężenie IL-10 istotnie ujemnie korelowało ze stężeniem frakcji HDL cholesterolu.

##### W grupie SNP po 6 miesiącach terapii rhGH:

- Stężenie IL-10 istotnie dodatnio korelowało z masą ciała, BMI oraz odsetkiem beztłuszczowej masy ciała.
- Wykazano, że im większy był przyrost stężenia IL-10 tym większy był przyrost insulinemii na czczo oraz wartości wskaźnika IRI/G.
- Stwierdzono, że im wyższe było wyjściowe stężenie frakcji HDL cholesterolu tym większy był przyrost stężenia IL-10.

#### G. Iryzyna

##### W grupie SNP przed leczeniem rhGH:

- Stężenie iryzyny istotnie ujemnie korelowało z wysokością ciała.

##### W grupie SNP po 6 miesiącach leczenia rhGH stwierdzono, że:

- im większy był przyrost stężenia iryzyny tym większy był przyrost odsetka tłuszczowej masy ciała.
- stężenie iryzyny istotnie dodatnio korelowało ze stężeniem insuliny w 120 min testu OGTT oraz ujemnie z wartością wskaźnika Matsudy.
- im większy był przyrost stężenia iryzyny tym mniejszy był przyrost glikemii na czczo oraz tym większy był przyrost glikemii w 60 min testu OGTT.
- im większy był przyrost stężenia iryzyny tym większy był przyrost stężenia frakcji HDL cholesterolu.

Po podziale grupy SNP na podgrupy w zależności od stopnia niedoboru wysokości ciała przed leczeniem rhGH:

- Stężenie iryzyny różnicowało podgrupę dzieci z większym od podgrupy dzieci z mniejszym niedoborem wzrostu.
- Wykazano, że przed rozpoczęciem leczenia stężenie iryzyny i IL-1 $\beta$  było istotnie wyższe w podgrupie pacjentów z większym niedoborem wzrostu, w przeciwieństwie do wartości wskaźnika HOMA-IR, który w grupie dzieci z większym niedoborem wzrostu był nieistotnie niższy z tendencją do istotności ( $p=0,06$ ) (Tabela XVII).

Wyniki badań Doktoranka prezentuje w formie graficznej, tabelarycznej i opisowej. Mocną stroną manuskryptu jest znakomite przedstawienie wyników badań w XIX tabelach i na 19 rycinach. Tabele i ryciny są wykonane starannie, są przejrzyste i ładne graficznie, co pozwoliło na swobodne odczytywanie uzyskiwanych badań. Na uwagę zasługuje bardzo rzetelne odniesienie się do kolejnych stawianych sobie celów badania oraz odpowiednio zastosowane metody analizy statystycznej.

W rozdziale 5. *Omówienie wyników i dyskusja* Doktoranka omawia wyniki swoich badań i konfrontuje je z wynikami badań innych autorów. Forma dyskusji wskazuje na bardzo dobre i rzetelne przygotowanie merytoryczne Doktorantki do podejmowania polemiki naukowej.

W podjętym temacie badawczym niewiele jest badań dotyczących wpływu hormonu wzrostu na stężenia cytokin i iryzyny na zmiany metaboliczne u dzieci w wieku przedpokwitaniowym dlatego należy szczególnie docenić staranną pracę Doktoranki w analizach z innymi badaniami klinicznymi u dorosłych, nielicznymi u dzieci a nawet z badaniami eksperymentalnymi. Zastanawiająca jest zmienność stężenia iryzyny w zależności od wysokości ciała (przyrostów wysokości w trakcie leczenia hormonem wzrostu) i insulinooporności. W trakcie leczenia kiedy zwiększa się mięśniowa masa ciała, w badaniach Doktorantki poziom iryzyny obniża się, a nasila insulinooporność mierzone wskaźnikiem HOMA. Ujemna zależność między stężeniem iryzyny a insulinoopornością tkanek może sugerować zwiększone uwalnianie tego białka przez tkankę tłuszczową lub mięśniową jako mechanizm kompensacyjny w odpowiedzi na insulinooporność. Z pewnością powyższe spostrzeżenia powinny być poddane dalszej analizie i dalszym badaniom. Nie wszystkie wyniki okazały się takie jak są prezentowane w większości badań naukowych, ale i z tym problemem Doktoranka poradziła sobie bardzo dobrze w trakcie doskonale rozwiniętej i dojrzałej naukowej dyskusji.

W swojej rozprawie Doktoranka zamieściła 306 pozycje piśmiennictwa, w tym polskiego i anglojęzycznego. Piśmiennictwo jest aktualne i prawidłowo dobrane

W oparciu o uzyskane wyniki Doktorantka sformułowała wnioski, które wynikały z założonych celów badań:

1. Nie wykazano istotnych różnic w stężeniu w surowicy badanych cytokin: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 oraz iryzyny między grupą SNP przed rozpoczęciem leczenia a grupą kontrolną. Stwierdzono istotnie wyższe stężenie iryzyny i IL-1 $\beta$  u dzieci z większym niedoborem wysokości ciała w grupie SNP przed leczeniem rhGH.
2. Leczenie rhGH przez okres 6 miesięcy nie wpłynęło istotnie na stężenie badanych interleukin przeciwzapalnych (IL-4, IL-10) i prozapalnych (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6), natomiast spowodowało istotny wzrost stężenia TNF- $\alpha$ .
3. Przyrost stężenia ( $\Delta$ ) TNF- $\alpha$  w trakcie leczenia rhGH korelował dodatnio z odsetkiem beztłuszczowej masy ciała a ujemnie z odsetkiem tłuszczowej masy ciała.
4. Stężenie w surowicy badanych cytokin pro- i przeciwzapalnych nie wydaje się być użytecznym biomarkerem do monitorowania wpływu leczenia hormonem wzrostu, jednak wyższe stężenie IL-2 i IL-4 przed leczeniem korelowało dodatnio z przyrostem stężenia ( $\Delta$ ) IGF-1 po 3 miesiącach terapii rhGH.
5. Niedobór GH oraz 6-miesięczne leczenie rhGH nie wpłynęło na stężenie iryzyny u dzieci z SNP w wieku przedpokwitaniowym, natomiast przyrost stężenia ( $\Delta$ ) iryzyny korelował dodatnio z przyrostem tłuszczowej masy ciała.
6. Nie zaobserwowano istotnego wpływu leczenia rhGH i stężenia badanych cytokin na parametry gospodarki węglowodanowej i tłuszczowej. Jedynie przyrost stężenia ( $\Delta$ ) iryzyny korelował ujemnie z przyrostem ( $\Delta$ ) glikemii na czczo oraz dodatnio z przyrostem stężenia ( $\Delta$ ) frakcji HDL cholesterolu.

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.

Do pracy zakradły się nieliczne błędy interpunkcyjne i stylistyczne, które nie mają znaczenia merytorycznego, zostały one wskazane Doktorantce celem ich poprawienia przed przygotowaniem tej dobrze zaplanowanej i przeprowadzonej rozprawy do druku.

#### **Wniosek końcowy**

Lek. Anna Malinowska samodzielnie zaprojektowała badanie. Postawiła sobie cele, które zrealizowała przez rzetelną analizę uzyskanych wyników oraz właściwą ich interpretację pozwalającą na wyciągnięcie, jak sama podkreśla, ostrożnych wniosków.

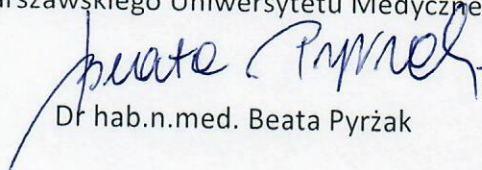
Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Anny Malinowskiej pt.

„Analiza stężeń wybranych interleukin pro i przeciwzapalnych oraz adipomiokiny iryzyny w surowicy u dzieci w wieku przedpokwitaniowym z somatotropinową niedoczynnością przysadki przed i w trakcie leczenia hormonem wzrostu”

spełnia wszystkie warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.Nr 65, poz.595, z późn.zm). W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” o dopuszczenie lek. Anny Malinowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wnioskuje o wyróżnienie pracy z powodu nowatorskiego wkładu badania w wyjaśnienie tych jakże skomplikowanych zagadnień wpływu leczenia hormonem wzrostu na stężenia i aktywność metaboliczną cytokin i iryzyny u dzieci z SNP.

Kierownik Kliniki Pediatrii

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Dr hab.n.med. Beata Pyrzak