

Katedra Auksologii Klinicznej i Pielęgniarstwa Pediatricznego,

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

ul. Szpitalna 27-33

Recenzja

pracy doktorskiej lek. med. Moniki Anny Seifert pt.: „Ocena roli szlaku RANKL/RANK/OPG u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki zakwalifikowanych do terapii rekombinowanym hormonem wzrostu”.

Praca została wykonana w Katedrze i Klinice Endokrynologii i Diabetologii i Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, pod kierunkiem Pani Prof. dr hab. med. Anny Noczyńskiej.

Praca obejmuje 121 stron tekstu, 30 tabel, 4 ryciny, 41 wykresów oraz 191 pozycji literatury, zamieszczone w kolejności cytowań. Układ pracy jest typowy, zgodny z ogólnie przyjętymi zasadami; na końcu zamieszczone jest streszczenie polskie i angielskie.

W pracy doktorskiej autorka podjęła się oceny roli szlaku RANKL/RANK/OPG u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki w trakcie leczenia rekombinowanym hormonem wzrostu.

W czasie całego życia, a zwłaszcza w okresach szybkiego wzrastania, tkanka kostna ulega przebudowie. Istotą tego tak zwanego „remodelingu” jest resorpcja kości przy udziale osteoklastów przy jednoczesnej syntezie osteoidu przez osteoblasty. W warunkach fizjologicznych, oba te procesy pozostają w określonej równowadze. Zakłócenie tego stanu, z przewagą jednego z mechanizmów prowadzi do patologii. W regulacji tych działań bierze udział wiele czynników, a ich wzajemne zależności stanowią ciągle jeszcze temat badań. Odkrycie w 1997 roku osteoprotegryny (OPG) rzuciło nowe światło na ten problem. OPG stoi na straży właściwego dojrzewania i funkcjonowania osteoklastów. Jest ona białkiem należącym do rodziny czynników martwicy nowotworów. Produkowana jest nie tylko przez kości, ale także przez serce i naczynia, płuca, nerki, jelita i układ odpornościowy. Ponadto OPG może blokować powstawanie nowych osteoklastów w obecności 1,25-hydroksy-witaminy D3,

parathormonu, prostaglandyny PGE₂, interleukiny IL-11. Poprzez wiązanie czynnika TRAIL indukuje apoptozę komórek. Kontrola nad dojrzewaniem i różnicowaniem osteoklastów sprawowana jest za pomocą receptora aktywującego określony czynnik jądrowy a nazwanego RANK oraz jego liganda RANKL. W odpowiedzi na taką aktywację, dojrzewający osteoklast ulega zmianom strukturalnym i metabolicznym, prowadzącym do uzyskania funkcji resorpcyjnych. Osteoprotegryna stanowi rozpuszczalny receptor, którego zwiążanie z RANKL blokuje wiązanie RANK, co blokuje dalsze dojrzewanie osteoklastów i wyłącza ich funkcje. Tak więc, zwiążanie RANKL z RANK powoduje nasilenie resorpcji kości a połączenie RANKL z OPG hamuje ten proces. Z tego powodu, stężenie RANKL może stanowić informację o nasileniu procesów resorpcji kostnej a stężenie OPG o jej ograniczeniu.

Oś hormon wzrostu (GH) – insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) odpowiada przede wszystkim za procesy wzrostowe organizmu. Głównym czynnikiem zaangażowanym w te działania jest insulinopodobny czynnik wzrostu-1. Jego nazwa zwiążana jest z 50 % homologią budowy strukturalnej z insuliną. Wykazuje on działanie mitotyczne, wskutek czego stymuluje podziały komórkowe, prowadząc w konsekwencji do procesów wydłużania kości i wzrostu tkanek. Działanie to sprawia, że nazywany jest niekiedy „rzeczywistym hormonem wzrostu”. Produkcja IGF-1 jest kontrolowana przez hormon wzrostu ale podlega także silnej zależności od stopnia odżywiania organizmu a także od wpływu całego szeregu czynników jak choćby czynniki zapalne.

Hormon wzrostu oraz insulinopodobny czynnik wzrostu-1 wpływają na równowagę pomiędzy OPG i RANKL, przez co kontrolują przebudowę kostną w trakcie procesów wzrostowych. Uważa się, że u pacjentów z deficytem hormonu wzrostu i wynikającymi z tego niskimi stężeniami IGF-1 może dochodzić do wzrostu stężenia OPG, co w dalszej konsekwencji prowadzi do osteoporozy w wieku dorosłym. Proces ten jest jednak słabo poznany, a badania dotyczą głównie problemu występowania osteoporozy u dorosłych. Wymaga wyjaśnienia, czy terapia rekombinowanym hormonem wzrostu wpływająca korzystnie na procesy wzrostowe, zapobiega także powstawaniu zmian osteoporotycznych. W ten właśnie kierunek badań wpisuje się praca Doktorantki. Dlatego też wyniki tych badań stanowią bardzo ciekawy przyczynek naukowy ale także wydają się mieć duże znaczenie praktyczne i kliniczne, stanowiąc jeszcze jeden argument za kontynuacją leczenia chorych z somatotropinową niedoczynnością przysadki, oczywiście odpowiednio mniejszymi dawkami, także w okresie dorosłego życia. Zagadnienie to pojawiło się w piśmiennictwie dopiero w ciągu ostatnich kilku lat i u dzieci i młodzieży takich badań praktycznie prowadzono bardzo mało a poczynione obserwacje są często rozbieżne.

Pani lek. med. Monika Anna Seifert w swojej pracy doktorskiej postanowiła dokonać analizy wpływu zachowania stężeń poszczególnych czynników biorących udział w procesach wzrostowych jak na przykład IGF-1 i IGFBP-3, które mogą stanowić doskonałe markery zachodzących zmian wzrostowych w odniesieniu do zmian auksologicznych i porównać je z

jednocześnie zachodzącymi zmianami kostnymi, wyrażonymi przez stężenia czynników szlaku RANKL/RANK/OPG oraz innymi markerami kostnymi.

Układ całości pracy doktorskiej lek. med. Moniki Seifert jest zgodny z powszechnie przyjętymi dla tego typu prac zasadami. Wstęp został napisany starannie i wyczerpująco. Opisano w nim wszystkie najważniejsze aspekty związane z tkanką kostną, wpływem szlaku RANKL/RANK/OPG na procesy wzrostowe i tworzenie struktury kostnej a także najważniejsze możliwe oddziaływania różnych procesów patologicznych na przebudowę kości. W dalszej części wstępu opisano przebieg procesów wzrostowych oraz czynniki odpowiedzialne za ich kontrolę. Następnie opisano także przyczyny niedoboru wzrostu oraz obszerniej scharakteryzowano zagadnienie niedoboru hormonu wzrostu zwracając szczególną uwagę na ich diagnostykę i terapię.

Z obowiązku recenzenta muszę jednak zwrócić uwagę na pewne drobne błędy i niepoprawne sformułowania. Na przykład określenie niedoboru hormonu wzrostu jako objawu, nie jest do końca zbyt szczęśliwe. Objawem niedoboru GH jest bowiem niskorosłość. W opisie miejsc syntezy greliny podano tylko przysadkę, podwzgórze i żołądek – obecnie wiadomo, że tych miejsc jest znacznie więcej. W opisie ryc. 3.4. część informacji podanych jest po polsku a część po angielsku – wymaga to modyfikacji przed publikacją pracy. W opisie mechanizmów działania Hormonu wzrostu znalazła się informacja, że przy transdukcji sygnału wzrostowego przez GH na jego receptor (GHR) dochodzi do dimeryzacji ,tj. połączenia dwóch cząsteczek GH z jednym receptorem. W rzeczywistości to jedna cząsteczka GH dimeryzuje dwa receptory. Niezbyt poprawnym sformułowaniem jest także nazwanie rodzinnego niedoboru wzrostu jako zaburzenia genetycznego. Pomimo tych drobnych uwag, uważam, że tak ujęty wstęp stanowi dobre wprowadzenie do tematu badań.

Bezpośrednio po wstępie zamieszczono cel prowadzonych badań. Został on nie do końca jasno sformułowany. Z tytułu pracy wynika, że prowadzona była ocena roli szlaku RANKL/RANK/OPG u dzieci z SNP leczonych rhGH. Natomiast w celu pracy podano, że prowadzono ocenę wpływu terapii rhGH na ten szlak, wpływu na efektywność leczenia rhGH oraz wpływu terapii na inne parametry metabolizmu kostnego. Takie przedstawienie tematu sugeruje sytuację nieco odwrotną, że badano przede wszystkim wpływ leczenia na funkcję badanego szlaku. Ponadto wydaje się, że nie do końca potrzebne jest podkreślanie w tym miejscu informacji o prowadzeniu badania wpływu terapii rhGH na szlak RANKL/RANK/OPG we krwi obwodowej. Wpływ ten wywierany jest na poziomie komórkowym. Moim zdaniem, przed publikacją, należałoby to nieco przeformułować.

W rozdziale materiał i metody przedstawiono zasady doboru pacjentów do badań. Na pochwałę zasługuje stworzenie jednolitej badanej grupy pacjentów – przeddojrzewaniowej i bez innych chorób towarzyszących, które mogą wpływać na funkcje badanego szlaku. Jedyna moja uwaga dotyczy faktu zamieszczania w tym rozdziale wyników badań poświęconych zmianom wskaźników antropometrycznych podczas kolejnych wizyt. Zmiany te, zachodzące

pomiędzy kolejnymi wizytami stanowią już wyniki badań, powinny zatem znaleźć się w następnym rozdziale.

Wyniki zaprezentowano w sposób bardzo staranny i czytelny. Wzbogacenie rozdziału o wykresy i tabele ułatwiło w znakomity sposób, zrozumienie skomplikowanych zależności pomiędzy analizowanymi parametrami. Dodatkowa szczególna pochwała należy się Doktorantce za dobrze dobrane i umiejętnie zastosowane metody statystyczne, które pozwoliły na precyzyjną ocenę występujących zależności. Jednoczesne analizowanie wzajemnego wpływu wielu badanych parametrów, które dodatkowo zmieniają swoje wartości w przebiegu leczenia rhGH, wymagało od Doktorantki wielkiego skupienia i precyzyjnego postępowania a ich interpretacja - logicznego myślenia. Budzi to szczególne uznanie recenzenta.

W dyskusji Autorka dokonała pełnego przeglądu danych otrzymanych z badań własnych z jednoczesną analizą dostępnego światowego piśmiennictwa. Wykazała między innymi, że stężenie RANKL u dzieci z niedoborem hormonu wzrostu jest niższe niż u zdrowych rówieśników. Po rozpoczęciu terapii rhGH, dochodzi początkowo do dalszego spadku jego stężenia aby po roku osiągnąć wartości zbliżone do występujących u dzieci zdrowych. Trochę brakuje mi w tym miejscu próby wyjaśnienia zachodzących zmian ale jednocześnie rozumiem, że interpretacja tego faktu może być nie do końca jednoznaczna. Jednocześnie w dalszej części dyskusji w pewnym oderwaniu od aktualnie diskutowanych wyników pojawia się próba wyjaśnienia wahań stężenia RANKL zwiększoną przebudową kostną w trakcie terapii rhGH. Potwierdzeniem poprawności wysnuwanych z badań wniosków jest stwierdzenie w dalszej części dyskusji, że stężenie osteokalcyny uważanej za marker obrotu kostnego jest u dzieci z SNP porównywalne z tym jakie występuje u dzieci zdrowych, a po rozpoczęciu terapii rhGH stężenie to zauważalnie wzrasta, co świadczy o poprawie mineralizacji kości. Dodatkowym dowodem na przewagę kościotworzenia w trakcie terapii rekombinowanym hormonem wzrostu jest wzrost stężeń OPG i fosfatazy alkalicznej. Kolejną bardzo ważną obserwacją, poczynioną w trakcie badań, było stwierdzenie wzrostu zapotrzebowania na witaminę D3 w czasie terapii hormonem wzrostu oraz na występującą korelację pomiędzy stężeniem D3 a uzyskiwaną odpowiedzią wzrostową na podawanie rhGH. Zauważenie tej zależności oraz wskazanie konieczności oceny stężenia witaminy D3 u chorych z SNP i suplementacji przed i w trakcie terapii, jest jednym z ważniejszych wniosków wynikających z badań doktorantki. Co najważniejsze wniosek ten ma duże znaczenie praktyczne co powinno znaleźć swój wyraz w tworzeniu dodatkowego standardu w diagnostyce pacjentów z niedoborami wzrostu a także nowego kanonu prowadzenia leczenia.

Oprócz niewątpliwych cennych obserwacji i wniosków wynikających z badań, Doktorantka nie ustrzegła się także pewnych drobnych błędów. Na przykład sformułowanie, że „tylko część pacjentów z SNP leczonych rhGH nadrabia niedobór wysokości” sugeruje małą skuteczność leczenia, podczas gdy, tylko niewielka część leczonych nie wykazuje zadowalającej poprawy. W kolejnym stwierdzeniu, że wśród leczonych rhGH „najgorzej odpowiadają na terapię

pacjenci z dobrą szybkością wzrastania przed leczeniem” oraz z „relatywnie wysokimi stężeniami GH w testach”, zabrakło interpretacji tego faktu, dotyczącego poprawności postawionego rozpoznania, co jest związane z pewną niedoskonałością powszechnie, na świecie, stosowanych metod diagnostycznych. Również podawanie w dyskusji wartości istotności statystycznych wydaje się w tym miejscu niepotrzebne.

Wnioski jakie Doktorantka postawiła na podstawie swoich badań, są moim zdaniem zbyt ostrożne. Na przykład pierwszy wniosek dotyczący zmian stężeń składowych szlaku RANKL/RANK/OPG w trakcie leczenia rhGH jest zbyt ogólnikowy a powinien być bardziej szczegółowy. Jest to bardzo ważna obserwacja. Drugi i trzeci wniosek jest w pełni poprawny ale stanowi tylko potwierdzenie już znanych faktów. Wniosek czwarty jest szczególnie cenny i powinien zostać bardziej uwypuklony.

Podsumowując, uważam że lek. med. Monika Anna Seifert zaprezentowała rozległą wiedzę naukową, co w połączeniu z dojrzałością klinicystki, pozwoliło na przeprowadzenie bardzo interesujących badań. Są one ważne nie tylko z punktu widzenia poznawczego ale także, a może przede wszystkim, z klinicznego. Doktorantka udowodniła, że potrafi przeprowadzić skomplikowane badania i logicznie poprowadzić rozważania naukowe. Wprawnie posłużyła się narzędziami badawczymi i umiejętnie korzystała z piśmiennictwa. Świadczy to o dużym doświadczeniu oraz o ugruntowanej wiedzy.

Poczynione przeze mnie w recenzji drobne uwagi krytyczne nie umniejszają w żadnym stopniu pozytywnej opinii o pracy.

Praca doktorska lek. med. Moniki Anny Seifert pt. „Ocena roli szlaku RANKL/RANK/OPG u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki zakwalifikowanych do terapii rekombinowanym hormonem wzrostu” spełnia kryteria merytoryczne i formalne stawiane przy ubieganiu się o stopień doktora nauk medycznych.

Wnoszę do Pani Dziekan i Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, dn. 1 grudnia 2017 r.

dr hab. med. Andrzej Kędzia, prof. UMP

Dr hab. med. ANDRZEJ KĘDZIA Prof. UMP
SPECJALISTA CHOROBY DZIECI
SPECJALISTA ENDOKRYNOLOGII
SPECJALISTA GINEKOLOGII
Specjalist. Zawodowa 11, tel. 50-70-49-20
5045640