Warszawa, dn. 7 czerwca 2022 r.

dr hab. Monika Łopuszańska-Dawid, prof. ucz.

Akademia Wychowania Fizycznego Józefa Piłsudskiego w Warszawie
Wydział Wychowania Fizycznego, Katedra Biologii Człowieka
e-mail: monika.lopuszanska(at)awf.edu.pl
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3533-5754

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

pt.: Wyniki leczenia hormonem wzrostu niskorosłych dzieci, urodzonych jako zbyt małe w porównaniu do czasu trwania ciąży (SGA lub IUGR)

Autor rozprawy:	mgr Monika Paluchowska
Promotor:	prof. dr hab. Beata Pyrżak
Promotor pomocniczy:	dr n. med. Anna Majcher

Zasadność podjętego tematu

Dane demograficzne dotyczące populacji polskiej wskazują, iż społeczeństwo polskie jest populacją starzejącą się i jeśli zmiany wartości podstawowych wskaźników demograficznych utrzymają swój trend, do roku 2100 liczebność naszej populacji zmniejszy się z blisko 38 mln dziś do ok. 23 mln, czyli o ok. 40%. W świetle notowanego ujemnego przyrostu naturalnego w Polsce, opóźniania wieku urodzenia pierwszego dziecka, oraz zwiększającej się w populacji częstości problemów zdrowotnych związanych np. z płodnością, skuteczne leczenie i zapobieganie wszelkim zaburzeniom neonatologicznym staje się jednym z kluczowych obszarów działań w zakresie zdrowia publicznego.

Wskazywane w literaturze naukowej zmiany w szeregu parametrów kondycji biologicznej społeczeństwa polskiego, np. w zakresie zwiększania częstości osób z nadmierną masą ciała oraz związanych z nią powikłań zdrowotnych, prowadzą do pogarszania stanu zdrowia oraz jakości biologicznej, w tym również przyszłych rodziców. Niebagatelne znaczenie ma intensyfikacja antyzdrowotnych zmian w stylu życia i zachowaniach zdrowotnych Polaków, tj. zwiększanie częstości zachowań sedentarnych, spożywanie wysoko przetworzonej żywności, czy brak zdolności pokonywania stresu, które to poprzez mechanizmy środowiskowe i epigenetyczne mogą wpływać modyfikująco na ekspresję genów już w okresie prenatalnym. Obserwowane trendy zmian w stylu życia i w stanie biologicznym społeczeństwa

mogą zwiększać prawdopodobieństwo wystąpienia powikłań neonatologicznych, w tym np. hipotrofii wewnątrzmacicznej. Przekazana mi do recenzji praca doktorska Pani mgr Moniki Paluchowskiej doskonale wpisuje się w nurt badań z zakresu nauk o zdrowiu analizujących sposoby niwelowania hipotrofii poprzez leczenie rekombinowanym ludzkim hormonem procesów wzrostowych dzieci urodzonych jako zbyt małe w porównaniu do czasu trwania ciąży i skutków tegoż leczenia w pierwszym roku terapii.

Jak celnie podaje Autorka dysertacji, do szerokiego spektrum czynników ryzyka urodzenia dziecka zbyt małego w porównaniu do czasu trwania ciąży, ocenianych w praktyce klinicznej, należą czynniki matczyne i środowiskowe (demograficzne), tj. nieprawidłowa masa ciała matki, zaawansowany wiek matki, liczba porodów, infekcje w trakcie ciąży, zaburzenia autoimmunologiczne, choroby przewlekłe, czy też pochodzenie etniczne rodziców; a także czynniki płodowe (zespoły genetyczne i wady wrodzone); i łożyskowo-maciczne (nieprawidłowości w budowie tych narządów). W opisanej w ocenianej dysertacji wieloczynnikowej etiologii hipotrofii wskazane zostały czynniki wyraźnie identyfikowane w aktualnej rzeczywistości.

W kolejnych podrozdziałach rozdziału wprowadzającego Doktorantka szczegółowo przedstawiła i omówiła katalog możliwych skutków zdrowotnych narodzin dziecka z hipotrofią. Autorka wskazała, iż u dzieci urodzonych z zaniżonymi wartościami parametrów antropometrycznych w stosunku do czasu trwania ciąży (SGA) oraz u dzieci z wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania (IUGR), występuje zwiększone ryzyko wystąpienia szeregu natychmiastowych powikłań zdrowotnych, tj. niedobór glukozy, wapnia, niższy poziom wolnych kwasów tłuszczowych i ciał ketonowych, podwyższony poziom insuliny; ale też podwyższone ryzyko konsekwencji długo terminowych: przede wszystkim, niskorosłości czyli niedoboru wysokości ciała, niedoboru masy ciała, małych wymiarów szerokościowych, długościowych i odwodów głowy, zaburzeń układu odpornościowego, układu oddechowego, zaburzeń gospodarki lipidowej i węglowodanowej, chorób układu krążenia w tym choroby niedokrwiennej serca, insulino- i leptynooporności, niedoczynności tarczycy, czy też zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych.

Mimo wskazywanej w literaturze przedmiotu zdolności do kompensacji niedostatecznych urodzeniowych parametrów antropometrycznych poprzez zjawisko poporodowego nadganiania wzrastania (z j. ang. catch up growth), u dzieci z wewnątrzmaciczną hipotrofią może występować nieprawidłowy model wydzielania i reagowania na hormonu wzrostu. W ciągu pierwszych dwóch lat życia ok. 13 % dzieci urodzonych z hipotrofią nie osiąga wysokości ciała przekraczającej -2 SDS, a około 1/5 niskich dorosłych to osoby urodzone jako SGA.

Negatywne konsekwencje niskorosłości obejmują aspekty psychologiczne jak i społeczne, niezależnie od etapu ontogenezy. We współczesnych czasach w społeczeństwach rozwiniętych, duża wysokość ciała uznawana jest za fenotypowy sygnał wysokiej jakości biologicznej, atrybut atrakcyjności fizycznej oraz wysokiej płodności. Osoby wyższe w stosunku do niższych, są bardziej mobilne społecznie i ekonomicznie, łatwiej awansują, mają wyższe

uposażenie, częściej piastują odpowiedzialne stanowiska. Jako antropolog fizyczny pozwolę sobie zauważyć, iż w mojej ocenie przedstawiona do oceny rozprawa oprócz wysoce istotnego znaczenia klinicznego ma również głębokie znaczenie społeczne.

W Polsce leczenie hormonem wzrostu rhGH grupy dzieci urodzonych z SGA/IUGR, w ramach programu lekowego stosuje się od 2015 roku, i liczba badań w tym zakresie wciąż jest niewielka a wyniki wymagają poszerzenia. Doktorantka w swoich badaniach skupiła się na analizie wpływu parametrów urodzeniowych, cech morfologicznych oraz wskaźników biochemicznych na szybkość wzrastania. Praca służyła także ocenie szeroko analizowanej przez Doktorantkę morfologii ciała niskorosłych dzieci oraz zmian, jakie zachodzą w niej w trakcie leczenia rhGH. Podkreślić należy, że Doktorantka postawiła trudne zadanie, gdyż badana grupa nie jest homogeniczna, a kryteria jej analiz nie są wystandaryzowane. W świetle powyższych faktów uzyskanie odpowiedzi na postawione cele pracy wydaje się być wysoce pożądane i oczekiwane.

Ogólna ocena pracy doktorskiej

Praca przedstawiona do oceny obejmuje 123 strony, na których przedstawiono treści ujęte w 6 klasycznie wydzielonych rozdziałów: Wstęp, Założenia i cele pracy, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja i Wnioski. Rozprawa została uzupełniona o Wykaz stosowanych skrótów (załączony na początku pracy), streszczenia w języku polskim i angielskim, Bibliografię, Spisy tabel, rycin i wykresów oraz Oświadczenie Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym nr AKBE/223/2017 z dnia 12 grudnia 2017 r. w postaci załącznika 1.

Rozdział Wstęp, w swej obszernej formie (17 stron), stanowi dobrze przygotowane przez Autorkę teoretyczne wprowadzenie do zagadnień omawianych w dalszej części dysertacji, łącznie z odwołaniem do stosownych definicji, podziałów, charakterystyk klinicznych, opisu czynników ryzyka oraz epidemiologii hipotrofii. W rozdziale wstępnym Doktorantka wnikliwie opisała krótko- i długofalowe konsekwencje małych wymiarów somatycznych w stosunku do wieku ciążowego oraz syntetycznie opisała niskorosłość jako skutek hipotrofii. Ponadto przedstawiła dane na temat leczenia hormonem wzrostu w grupie dzieci z SGA na świecie i w Polsce. Rozdział pierwszy został zakończony opisem roli pomiarów antropometrycznych w ocenie dzieci z SGA. Sposób przedstawiania treści świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do analizowanego zagadnienia, choć Autorka nie ustrzegała się drobnych powtórzeń w kilku miejscach wstępu w przytaczaniu niektórych wyników naukowych.

W rozdziale drugim, Założenia i cele pracy, Doktorantka syntetycznie uzasadniła konieczność przeprowadzenia zaplanowanych przez siebie badań i wskazała 5 celów badawczych, które zamierzała zrealizować podejmując badania. W zakresie celu 2. i 3. sugerowałabym dodać na końcu zdania, „a jeśli tak, to w jakim stopniu?" W mojej ocenie formułowanie pytań z pytajnikiem „czy" sugeruje krótką odpowiedź *tak* lub *nie*. Również cel

5. wydaje się być sformułowany zbyt ogólnie. Autorka przedstawiła trzy hipotezy badawcze do zweryfikowania, nazwane przez nią założeniami. Doktorantka założyła, cyt.: *„... że włączenie terapii rhGH w [...] grupie dzieci już w pierwszym roku leczenia poprawi ich szybkość wzrastania i tym samym pozycję centylową leczonych pacjentów. Można spodziewać się również pozytywnego wpływu leczenia na proporcje ciała w tym na obwodu głowy i wskaźniki stanu odżywienia. W analizie wskaźników biochemicznych możemy przypuszczać, że leczenie rhGH wpłynie też istotnie na zmianę zarówno w gospodarce lipidowej, węglowodanowej jak i na osi GH-IGF-1"*.

W kolejnym rozdziale rozprawy, Materiał i metody, mgr Paluchowska na dziesięciu stronach maszynopisu, precyzyjnie przedstawiła kryteria doboru, sposoby pozyskiwania i opis stosowanej terapii rekombinowanym hormonem wzrostu zarówno grupy badanej (SCA) jak i grupy kontrolnej (SNP), dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki. Materiał badania stanowiły dane wyjściowo 51 (ostatecznie 41) dzieci z SCA stanowiące, zgodnie z opisem Doktorantki, możliwie jednolitą grupę, które rozpoczęły leczenie zgodnie z protokołem kryteriów włączenie leczenia hormonem wzrostu dzieci z SGA. Zastosowano właściwe metody oceny stanu dojrzałości płciowej.

Opis zastosowanych procedur badawczych należy uznać za niemal wzorcowy, takie podejście gwarantuje możliwość powtórzenia badań przez innych badaczy i umożliwi weryfikację uzyskanych wyników przez innych ekspertów. Za szczególnie informatywne uznaję tabele 1. oraz 3. z wykazami wykonywanych badań na poszczególnych etapach leczenia rhGH w grupach badanych i kontrolnej. Natomiast opis wykonanych pomiarów antropometrycznych oraz zawartość tabeli 2. uważam za nieco zbyt powierzchowne. Autorka nie podała kluczowych szczegółów, np. jednostek, dokładności i lokalizacji wykonywanych pomiarów somatycznych (fałd skórno-tłuszczowy ramienny - nad bicepsem, tricepsem?), liczby powtórzeń ich wykonania, czy kierunków pomiarów grubości fałdów skórno-tłuszczowych. Zamieszczone zdjęcia poglądowe na rycinach 3-11 nie rozwiewają mych wątpliwości w zakresie techniki pomiarowej. Ponadto w tabeli 2. zamiast terminu: *„Basis siedzeniowa"* winien być *„Basis sedilis"*. Normy rozwojowe i standardy w mojej ocenie przyjęto prawidłowo, choć nie podano do jakich danych populacyjnych porównywano wysokości ciała rodziców.

Oceniam, że od strony metodologicznej badania zostały prawidłowo zaplanowane, natomiast zastosowanie w rozprawie doktorskiej podstawowych metod analizy statystycznej (np. testu Shapiro-Wilka, t-Studenta, Wilcoxona, korelacji) budzi merytoryczny niedosyt. Wybrane metody statystyczne pozwoliły Doktorantce zrealizować założone cele, niemniej zastosowanie wielowymiarowych, wieloczynnikowych analiz umożliwiłoby uzyskanie na bazie zgromadzonego materiału, wielu ciekawych wyników. Ponadto w podrozdziale 3.3. wskazane byłoby uzupełnienie informacji o metody oceny cech biochemicznych czy też wspomnienia o omawianych później wskaźnikach HOMA-IR i QUICKI. Badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej WUM.

Na kolejnych, zasadniczych stronach rozprawy (**rozdział Wyniki**) Autorka w siedmiu podrozdziałach przeprowadziła analizę uzyskanych wyników. Poczynając od szczegółowych

charakterystyk grupy badanej SGA jak i kontrolnej SNP, poprzez porównanie obu grup, również w zakresie zmian wybranych parametrów antropometrycznych w pierwszym roku leczenia rhGH, aż po analizę zależności zastosowanej dawki HG z szybkością wzrastania i zmianami w parametrach biochemicznych w pierwszym roku leczenia oraz analizę zmian wybranych parametrów biochemicznych i metabolicznych w grupie badanej i kontrolnej przed i po roku leczenia.

Wyniki zostały udokumentowane licznymi zestawieniami tabelarycznymi i rycinami, w których Autorka przedstawiła dowody na m.in. cyt.:

„1) Leczenie rhGH u dzieci z SGA jest efektywne już w pierwszym roku leczenia - 70% pacjentów uzyskało dobry efekt wzrostowy.
2) Stopień deficytu urodzeniowej masy lub długości ciała nie wpływał na efekty wzrastania dzieci z SGA w trakcie leczenia hormonem wzrostu w pierwszym roku terapii.
3) Lepsza wysokość ciała (w SDS) przed leczeniem wpływała pozytywnie na efekty leczenia hormonem wzrostu w pierwszym roku terapii.
4) Dzieci z SGA z wyższą, procentową zawartością tkanki tłuszczowej uzyskały lepsze efekty leczenia hormonem wzrostu w pierwszym roku terapii.
5) Podwyższone stężenie cholesterolu i trójglicerydów u dzieci z SGA przed leczeniem, miało wpływ na szybkość wzrastania w trakcie pierwszego roku leczenia hormonem wzrostu.
6) W trakcie pierwszego roku leczenia hormonem wzrostu u dzieci z SGA nastąpił istotny spadek procentowej zawartości tkanki tłuszczowej. Nie obserwowano istotnych zmian w masie ciała, obwodzie głowy, klatki piersiowej oraz ramienia."

W związku z wielością przeprowadzonych porównań za bardzo dobre rozwiązanie uznaję wprowadzenie podrozdziału 4.7. Podsumowanie wyników, dodatkowo w swej strukturze zawierającej aż cztery sekcje.

W rozdziale 5., Dyskusja, Doktorantka odniosła uzyskane przez siebie wyniki do wyników innych autorów. Rozdział ten wskazuje na duże przygotowanie zarówno merytoryczne jak i praktyczne Autorki do prowadzonych przez nią badań. Na podkreślenie zasługuje fakt umiejętności krytycznej analizy dostępnej literatury naukowej oraz umiejętność określenia mocnych i słabych stron badań własnych. Rozdział Dyskusja w dwóch ostatnich akapitach zakończony został wnioskami z pracy, zarówno o charakterze poznawczym jak i klinicznym. Badania Doktorantki potwierdziły, że leczenie rhGH dzieci z SGA, które nie nadgoniły wzrastania w okresie wczesnodziecięcym jest wskazane, bezpieczne i znacznie poprawia ostateczną wysokość ciała, a także co szczególnie ważne, wniosły nowe informacje na temat rozwoju fizycznego, budowy ciała i zmian w cechach morfologicznych w trakcie pierwszego roku leczenia hormonem wzrostu. Autorka udowodniła, że zarówno masa ciała jak i zawartość tkanki tłuszczowej wyraźnie wpływają na efekty leczenia, co powinno skłonić do większego zainteresowania tymi cechami w trakcie planowania terapii. Wysoce istotne iż, badana przez Doktorantkę grupa dzieci z SGA nadal uczestniczy w programie leczenia rhGH i stanowić będzie podstawę do dalszych badań i oceny w kolejnych latach leczenia.

Rozdział 6., Wnioski, zawiera wyszczególnione w 6 punktach syntetycznie sformułowane główne wyniki pracy badawczej Doktorantki. Na moją uwagę zwraca fakt braku określenia kierunku zależności w punkcie 5., cyt.: *„Podwyższone stężenie cholesterolu i trójglicerydów u dzieci z SGA przed leczeniem, miało wpływ na szybkość wzrastania w trakcie pierwszego roku leczenia hormonem wzrostu"*. Co prawda z treści samej dysertacji znamy ten kierunek, jednak rozdział Wnioski nakłada konieczność powtórzenia tegoż faktu. Ponadto Autorka nie odniosła się w tym rozdziale do kwestii potencjalnego związku masy ciała dziecka z odpowiedzią wzrostową. I uwaga zasadnicza, choć w tym przypadku techniczna, w mojej opinii przedstawione wnioski są uogólnionymi wynikami a nie wnioskami. W tym miejscu sugerowałabym zamieszczenie wniosków z końca dyskusji.

Doktorantka w swojej dysertacji zacytowała 145 dobrze dobranych i odpowiednio wyselekcjonowanych pozycji literatury, głównie anglojęzycznych, z uznanych czasopism naukowych z ostatnich 20 lat.

Uwagi zdecydowanie mniej istotne oraz o charakterze edytorskim:

1. W przedstawionej dysertacji *Wykresy* winny być nazwane *Rycinami*, a *Ryciny* – *Fotografiami*.
2. Wykresy winny być załączone do pracy w wersji wyedytowanej, wg ujednoliconego szablonu, najlepiej w formie plików *.emf lub *.tiff. Tabele winny być ujednolicone (dotyczy formatowania, czcionek)
3. Pojęcia *wysokość ciała* i *wzrost* nie stanowią synonimów, *wysokość ciała* to prawidłowa nazwa cechy mierzonej antropometrycznie pomiędzy punktami *Basis - vertex*, natomiast *wzrost* to proces.
4. W rozdz. 3.3.3. Autorka pominęła opis zastosowanych testów statystycznych przy p=0,05.
5. W tabelach, np. 5, 7, 8 winny być podane wartości procentowe, jednostki cech.
6. W przypadku braku stwierdzenia różnic istotnych statystycznie nie należy stwierdzać, iż różnice występują (opis tabeli 13.).
7. W pracy pojawiły się błędy edytorskie - braki nawiasów, błędy literowe, braki konsekwencji w pisaniu wielką / małą literą, w obecności lub nie spacji przy znakach mniejszości / większości, kośnikach, przesunięcia wersów, błędy techniczne w spisie literatury, itp.

Przedstawione przeze mnie drobne uwagi edytorskie nie umniejszają w żaden sposób wysokiej wartości naukowej i praktycznej ocenianej rozprawy. Doktorantka przeprowadziła kompleksowe, wieloczynnikowe badanie, uzyskała rzetelne wyniki adekwatne do postawionych celów badawczych, a analizę oparła na dobrym materiale i przeprowadziła przy użyciu dobrze dobranych narzędzi.

Reasumując, rozprawa doktorska przedstawia oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i oryginalny wkład Autorki w dyscyplinę nauk o zdrowiu. Doktorantka wykazała wysoki poziom wiedzy teoretycznej i bardzo dobre opanowanie warsztatu naukowego, co

świadczy o gotowości doktorantki do prowadzenia prac badawczych. Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 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 tym, wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jako antropolog fizyczny z uznaniem podchodzę do wyników badań mgr Moniki Paluchowskiej oraz ocenianej pracy i w związku z istotnym wkładem wniosków dysertacji do nauk o zdrowiu składam wniosek o wyróżnienie rozprawy.

Monika Łopuszańska-Dawid