

Prof. Ewa Małeczka-Tendera
Katedra i Klinika Pediatrii i Endokrynologii Dziecięcej
Wydziału Lekarskiego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

Katowice 27.05.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Marty Sumińskiej
pt. **Sekrecja, metabolizm i wydalanie kortykosteroidów u dzieci i młodzieży z otyłością w
relacji do ich cech klinicznych**

Przedstawiona mi do recenzji praca dotyczy niezwykle istotnego problemu zaburzeń steroidogenezy i potencjalnych zaburzeń metabolizmu steroidów u dzieci i młodzieży związanych ze zwiększoną masą ciała, toteż zapoznałam się z nią z dużym zainteresowaniem. Jej podstawą są cztery publikacje zamieszczone w latach 2020 - 2023 w anglojęzycznych czasopismach Int J Clin Science, Frontiers Endocrinol, Nutrients i Steroids, których IF wynosi obecnie od 2,7 do 6,0. Doktorantka jest we wszystkich pracach pierwszym autorem. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r. (§5.2) do pracy zostały dołączone oświadczenia kandydata oraz pozostałych współautorów publikacji określające indywidualny wkład w powstawanie prac stanowiących rozprawę doktorską. Wszystkie publikacje dotyczą pokrewnego tematu, w tym trzy – steroidogenezy u dzieci z otyłością.

Ocena „Wstępu”

W rozprawie oprócz ww. publikacji Doktorantka zamieściła obszerny wstęp zawierający aktualne informacje na temat epidemiologii otyłości u dzieci oraz produkcji i metabolizmu hormonów sterydowych z podkreśleniem ich wpływu na gromadzenie i rozmieszczenie tkanki tłuszczowej. Oparła się na obszernym piśmiennictwie cytując w większości prace pochodzące z ostatnich dziesięciu lat. Co istotne - część cytowanych publikacji dowodziła wzrostu stężenia niektórych hormonów nadnerczowych w otyłości, podczas gdy inne wskazywały na brak związku obu elementów lub wręcz ich odwrotną korelację.

Ocena „Publikacji” będących podstawą Rozprawy Doktorskiej

W publikacjach będących podstawą rozprawy doktorskiej, Autorka postawiła sobie bardzo ambitny cel rozpoznania prawdopodobnych, także subklinicznych, zaburzeń steroidogenezy i ewentualnych zmian metabolizmu steroidów u dzieci i młodzieży, związanych ze zwiększoną

masą ciała, z uwzględnieniem płci oraz stopnia dojrzewania płciowego. Na podkreślenie zasługuje fakt, że metabolity steroidów oznaczano w dobowych zbiorach moczu, których próbki przeanalizowano dzięki ukierunkowanemu GC-MS przy użyciu chromatografu gazowego Shimadzu 2010 Plus sprzężonego ze spektrometrem masowym Shimadzu QP-2010 Ultra w trybie monitorowania wybranych jonów.

Doktorantka założyła słusznie, że uzyskane wyniki pozwolą na ustalenie czy i w jakiej mierze spodziewane zmiany przemian steroidowych są powiązane z nadmierną masą ciała. Informacje te mogłyby stanowić podstawę dla dalszych analiz mających na celu stwierdzenie czy obserwowane zmiany ulegają korekcie po normalizacji masy ciała oraz w jakim stopniu terapia chorych może być korzystna dla równowagi steroidowej w organizmie. Wyniki badań mają zatem znaczenie nie tylko poznawcze, a także mogą mieć wymiar praktyczny.

Ocena pierwszej publikacji

Praca opublikowana w Int J Med Sci w 2020 r. pt. **“Non-classic disorder of adrenal steroidogenesis and clinical dilemmas in 21-hydroxylase deficiency combined with backdoor androgen pathway. Mini-review and case report”** została włączona do cyklu prac przedłożonych dla ubiegania się o stopień doktora, mimo, że nie dotyczy bezpośrednio problematyki otyłości. Prezentuje jednak w sposób klarowny informacje, jakie można uzyskać z analizy profilu wydalania steroidów z moczem. Przedstawiony w publikacji przypadek bardzo dobrze ilustruje złożoność sekrecji i metabolizmu kortykosteroidów w przełożeniu na kliniczną sytuację pacjenta. Praca ta jest niejako wprowadzeniem do interpretacji profilu metabolitów steroidowych w moczu z podkreśleniem tzw. „back-door pathway” biosyntezy androgenów. Śledzenie cyklu przemian ułatwia zamieszczona w pracy przejrzysta rycina.

Ocena drugiej publikacji

Praca **“Steroid metabolism in children and adolescents with obesity and insulin resistance: altered SRD5A and 20 α /20 β HSD activity”** opublikowana we Frontiers Endocrinol w 2021 r. dotyczy nie tylko porównania samych stężeń metabolitów steroidowych, ale ocenia aktywność najważniejszych enzymów zaangażowanych w biosyntezę, metabolizm i wydalanie hormonów nadnerczowych u dzieci i młodzieży z otyłością bez insulinooporności (IR) w porównaniu do ich rówieśników z otyłością i insulinoopornością. Do badań włączono 122 otyłych dzieci (70 dziewcząt i 52 chłopców) w wieku 5-18 lat dzieląc je na grupy w zależności od stwierdzonej lub niestwierdzonej insulinooporności. Bazując na proporcji androsteronu do etiocholanolonu (An/Et) wykazano w niej wzrost aktywności 5 α -reduktazy (SRD5A) u chłopców z IR,

natomiast nie potwierdzono tej obserwacji w grupie dziewczynek. Taka zmiana może sugerować nasilenie obwodowej aktywacji androgenów. Zaobserwowano ją w grupie męskiej prawdopodobnie ze względu na fakt stosunkowo małego znaczenia SRD5A w metabolizmie glikokortykosteroidów, a zdecydowanie większego w aktywacji androgenów w tkankach obwodowych. Dodatkowo, w grupie dziewczynek z otyłością i IR stwierdzono spadek aktywności dehydrogenazy 20 α -hydroksysteroidowej (20 α HSD) i dehydrogenazy 20 β -hydroksysteroidowej (20 β HSD). Jednak ze względu na fakt, że oba te enzymy są szeroko rozpowszechnione w narządach słusznie nie wyciągnięto wniosku, że ich aktywność jest wykładnikiem funkcji nadnerczy gdyż są one produkowane również w jajnikach. Insulinooporność w różnym stopniu dotyka poszczególne tkanki, dlatego zwiększona obecność insuliny we krwi może oznaczać odmienne efekty w różnych narządach.

Opisywana praca sygnalizuje potrzebę dalszych badań nakierowanych na ocenę zależności między steroidami a IR, z odpowiednim podziałem na grupy chorych, gdyż trudno jest oddzielić od siebie otyłość i insulinooporność.

Ocena trzeciej publikacji

Wyniki badania **“The impact of obesity on the excretion of steroid metabolites in boys and girls: a comparison with normal-weight children”** zostały opublikowane w wysoko impaktowym czasopiśmie *Nutrients* w 2023 r.

Celem badania przeprowadzonego w grupie 115 otyłych i 76 nieotyłych dzieci była analiza wydalania metabolitów steroidowych z moczem w grupie dzieci z otyłością w porównaniu do dzieci z prawidłową masą ciała. Grupy dodatkowo zostały wydzielone w odniesieniu do płci i etapu dojrzewania. Dotychczas przeprowadzone badania dotyczące biologii steroidów obejmowały znacznie mniej liczne grupy pacjentów, bez rozróżnienia ich wieku i płci. Oznaczano również mniej metabolitów steroidowych, niż jest to obecnie możliwe dzięki metodzie GC-MS przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym. Na podstawie przeprowadzonych analiz udało się wykazać znaczące różnice między dziećmi z prawidłową masą ciała, a ich rówieśnikami z otyłością, szczególnie w wieku przedpokwitaniowym. W tej grupie wiekowej zaobserwowano nasilenie biosyntezy we wszystkich szlakach steroidogenezy nadnerczowej u dzieci z otyłością. Nie wykryto znaczących różnic w wydalaniu kortyzolu i kortyzonu, podczas gdy ekskrecja ich charakterystycznych tetrahydropochodnych różniła się istotnie między grupami. Co więcej, ich dalsze metabolity takie jak α -kortol, a zwłaszcza α -kortolon wydają się być wydalane w większej ilości niż β -kortol lub β -kortolon w grupie młodszych dzieci z otyłością. Ponadto w

tej grupie zaobserwowano zwiększone wydalanie androgenów, pochodzące głównie ze szlaku alternatywnego. Wraz z postępowaniem dojrzewania odnotowano znaczne zmniejszenie różnic pomiędzy nastolatkami z otyłością i prawidłową masą ciała.

Publikacja zwróciła uwagę na istnienie mechanizmu dostosowującego stężenie wolnego kortyzolu w krążeniu do poziomu równowagi zbliżonego u dzieci z otyłością, jak i szczupłych. Mechanizm ten oparty jest prawdopodobnie na zwiększonym metabolizmie kortyzolu i kortyzonu do ich tetrahydropochodnych oraz dalej do α -kortolu i α -kortolonu.

Wysunięto wniosek, że mimo stabilnych stężeń kortyzolu we krwi oraz w moczu, jego powstawanie w nadnerczach wydaje się nasilone u dzieci z nadmierną masą ciała wraz z aktywacją alternatywnego toru powstawania androgenów. Zauważone różnice mogą tłumaczyć wcześniejsze adrenarche obserwowane często u dzieci z otyłością.

Moja jedyna krytyczna uwaga dotyczy odniesienia się do „stabilnych stężeń kortyzolu we krwi...” gdyż poza pierwszą pracą w pozostałych trzech u badanych dzieci nie oznaczano stężenia kortyzolu we krwi.

Ocena czwartej publikacji

Praca **“Assessment of steroid enzymes action in children and adolescents with obesity”** została zamieszczona w czasopiśmie Steroids w 2023 r. W przeprowadzonym badaniu opartym na imponującej liczbie otyłych (63 dziewczynkach i 50 chłopcach) i nieotyłych (34 dziewczynkach i 40 chłopcach) dzieci przeanalizowano aktywność wybranych enzymów biorących udział w metabolizmie steroidów. Badanych podzielono dodatkowo na grupy ze względu na płeć i stopień dojrzewania. Dzieci z otyłością wykazały szereg zmian w aktywności enzymów przemian steroidowych w porównaniu z rówieśnikami o prawidłowej masie ciała. U dziewcząt zaobserwowano istotny wzrost aktywności 11β HSD1 i kompleksu 5β -reduktaza+ 3α HSD, natomiast u chłopców poza istotnym wzrostem znaczenia kompleksu 5β -reduktaza+ 3α HSD, stwierdzono również wzrost aktywności 20α HSD. W obu grupach występował spadek efektywności 11β -hydroksylazy. Wnioskowano, iż zmiany w funkcjonowaniu wybranych enzymów mogą być mechanizmem kompensacyjnym ograniczającym ekspozycję kluczowych tkanek docelowych na glikokortykosteroidy, a także zmniejszającym ryzyko długoterminowych powikłań wynikających z nadmiaru tych steroidów w przebiegu otyłości u dzieci i młodzieży.

Wnioski

Przeprowadzone badanie sugeruje wzmożenie steroidogenezy nadnerczowej przy paradoksalnie mniejszej aktywności CYP11B1, zbiegającej się ze zwiększonym obwodowym metabolizmem steroidów, w tym nasilonym nieodwracalnym metabolizmem kortyzolu w wątrobie do jego tetrahydropochodnych i kortoli.

1. Odnotowany wzrost aktywności 11β HSD1 powoduje zwiększenie dostępności kortyzolu co może stanowić lokalny mechanizm adaptacyjny wobec jego szybkiego metabolizowania, albo też jeśli wywołuje np. insulinooporność być przyczyną lub wtórnym efektem otyłości centralnej.
2. U dzieci z otyłością równolegle do wzmożenia wstępnych etapów nadnerczowej steroidogenezy prowadzącej ku kortyzolowi, nasileniu ulega także biosynteza androgenów nadnerczowych obserwowana wraz ze wzrostem aktywności SRD5A (zwłaszcza w przypadku otyłości współistniejącej z insulinoopornością). Wyniki przedstawionego cyklu badań wskazują na liczne powiązania tych dwóch szlaków. Zwiększone wydalanie z moczem androsteronu sugeruje nasilenie u dzieci z otyłością alternatywnego szlaku biosyntezy androgenów, który swój początek bierze od 17α OH-progesteronu, czyli pośredniego metabolitu w drodze wiodącej też do kortyzolu. Z kolei zwiększone wydalanie etiocholanolonu można wiązać z klasycznym szlakiem androgenyzy, jednak w zdecydowanie większym stopniu powstaje on jako metabolit tetrahydrokortyzolu.
3. Znaczne zwiększenie wydalania trzech głównych metabolitów kortykosteronu: tetrahydro-11-dehydrokortykosteron, tetrahydrokortyko-steronu i 5α -tetrahydrokortykosteronu u przedpokwitaniowych dzieci i młodzieży z otyłością potwierdza wzmożenie steroidogenezy nadnerczowej również w szlaku mineralokortykosteroidów.
4. U dzieci i młodzieży z otyłością obserwuje się zmiany w nasileniu steroidogenezy nadnerczowej oraz modyfikację obwodowego metabolizmu steroidów. Zmiany te, najczęściej przebiegające subklinicznie, można interpretować jako mechanizmy adaptacyjne wobec zwiększonej masy ciała, które mają za zadanie utrzymywać steroidową homeostazę organizmu.

Wniosek końcowy

W swojej rozprawie doktorskiej lek. Marta Sumińska postawiła sobie bardzo ambitne i jasno sprecyzowane cele, które zrealizowała przez rzetelną analizę uzyskanych wyników oraz prawidłowo przeprowadzoną ich interpretację, poddając również swoje wyniki konfrontacji z dostępną literaturą fachową w tym zakresie. Na podkreślenie zasługuje głęboka wiedza o niuansach metabolizmu steroidów nadnerczowych oparta na ostatnich publikacjach oraz na fachowej interpretacji profili dobowych tych hormonów ocenianych za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem masowym.

Przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską oceniam bardzo pozytywnie i stwierdzam, że spełnia ona warunki zawarte w Dzienniku Ustaw z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, habilitacyjnych oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. z 2018, poz, 1668). W związku z powyższym zwracam się do Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie lek. Marty Sumińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie z pełnym przekonaniem wnioskuję o wyróżnienie, gdyż wszystkie prace będące podstawą rozprawy zostały opublikowane w czasopiśmie z listy Filadelfijskiej, a ponadto mają wysoką wartość poznawczą.

