Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

Lek. med. Mileny Jamiołkowskiej-Sztabkowskiej zatytułowanej:

„Ocena rezydualnej funkcji komórek beta wysp trzustkowych oraz jej znaczenia u dzieci i młodzieży chorującej na cukrzycę w różnym czasie trwania choroby"

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Barbara Głowińska-Olszewska

W tradycyjnym rozumieniu naturalnego przebiegu cukrzycy typu 1, choroba ta ma charakter progresywny - wynika z autoimmunologicznej destrukcji komórek beta prowadzącej do ostatecznej insulinopenii i konieczności leczenia substytucyjnego. W początkowej fazie choroby, u niektórych pacjentów obserwuje się okres zmniejszonego zapotrzebowania na insulinę przy dobrym wyrównaniu metabolicznym, zwany okresem remisji. Ten szczególny etap cukrzycy może trwać od kilku tygodni do kilku lat i jest ostatnio niezwykle interesujący dla wielu klinicystów zajmujących się leczeniem cukrzycy. Pojawiły się bowiem doniesienia, jak istotne jest zachowanie nawet resztkowej insulinosekrecji nie tylko w kontekście bieżącego wyrównania metabolicznego, ale także dla rozwoju odległych powikłań. W literaturze naukowej rozważa się udział wielu czynników klinicznych i metabolicznych kształtujących ten proces. Większość z nich jest przez pacjenta „niemodyfikowalna", są to np.: wiek zachorowania na cukrzycę, płeć, stężenie Hba1c, wartość C-peptydu, obecność typowych przeciwciał czy kwasicy metabolicznej przy ujawnieniu cukrzycy. Z praktycznego punktu widzenia szczególnie interesujące mogą jednak być czynniki „modyfikowalne", a wiec zależne od samego pacjenta lub zastosowanego u niego leczenia rozumianego jako: terapia insuliną (z wykorzystaniem nowoczesnych technologii), właściwa dieta oraz regularna aktywność fizyczna.

Powszechnie uznanym biomarkerem endogennego wydzielania insuliny jest C-peptyd. Prowadzone w ostatnim okresie badania naukowe dotyczące szerokiego wykorzystania tego markera w praktyce klinicznej są niezwykle obiecujące, aczkolwiek wiele spraw wciąż pozostaje otwartych. Rozpatrywany w tym kontekście temat podjęty przez doktorantkę wpisuje się znakomicie w potrzeby działań naukowych środowiska diabetologicznego – jest ważny i aktualny. Dodatkowym atutem jest także fakt, że praca powstała w jednym z wiodących ośrodków diabetologicznych w Polsce, znanym z rzetelności i innowacyjności realizowanych badań.

Przedstawione do oceny opracowanie jest realizacją przewodu doktorskiego w tzw. nowym trybie, co oznacza, że jest zbiorem opublikowanych prac Autorki wraz z ich omówieniem. W skład rozprawy wchodzą 3 manuskrypty: 1 praca poglądowa przedstawiająca znaczenie kliniczne C-peptydu jako biomarkera funkcji komórek beta oraz 2 prace oryginalne dotyczące oceny stężenia C-peptydu w różnych aspektach klinicznych w początkowym okresie cukrzycy typu 1, opublikowane w języku angielskim w recenzowanych czasopismach. Łączna punktacja

za cykl 3 publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi **280 pkt MNiSW oraz 10,605 punktów Impact Factor.** Doktorantka jest pierwszym autorem we wszystkich trzech pracach, ze znacznym udziałem w ich powstaniu (odpowiednio: 80, 70 i 62%). Do wszystkich prac dołączono oświadczenia współautorów o udziale w tworzeniu manuskryptów oraz zgody na ich przedłożenie jako część rozprawy doktorskiej lek. med. Mileny Jamiołkowskiej-Sztabkowskiej. Ponadto w ostatniej części opracowania autorka przedstawia dodatkową analizę oceniającą praktyczne znaczenie wydzielania C-peptydu w grupie pacjentów z wieloletnią cukrzycą.

Recenzowana rozprawa doktorska liczy 92 strony i zawiera: 3 oryginalne artykuły opublikowane uprzednio oraz dodatkową analizę własną wraz z omówieniem. Praca rozpoczyna się zaprezentowaniem zestawienia publikacji stanowiących podstawę rozprawy, wykazu zastosowanych skrótów oraz streszczeniem w języku polskim i angielskim. W dalszej kolejności pojawia się bogaty wstęp, szczegółowo opisane cele i założenia pracy, materiał i metodyka oraz obszerne wyniki wraz z tabelami i rycinami. Następnie autorka zamieściła oryginały artykułów, w których szeroko komentuje uzyskane wyniki. Ostatecznie w pracy zaprezentowane zostaje podsumowanie zakończone sformułowaniem interesujących wniosków. Rozprawa kończy się zestawieniem anglojęzycznego oraz polskiego piśmiennictwa, głownie z ostatnich lat (108 pozycji), na które powołuje się autorka.

Wstęp liczący 12 stron, doktorantka rozpoczyna od przedstawienia ogólnych informacji dotyczących epidemiologii cukrzycy oraz zasad rozpoznawania cukrzycy typu 1. W dalszej części skupia się nad zasadniczym tematem rozprawy - w wyczerpujący sposób prezentuje aktualne poglądy na temat funkcji komórek beta trzustki, zwłaszcza w kontekście wydzielania C-peptydu. Bardzo szczegółowo opisuje przebieg procesów destrukcji/regeneracji komórek beta ze szczególnym uwzględnieniem ważnej roli komórek macierzystych: mezenchymalnych (MSC) i hematopoetycznych (HSC) w tych procesach. Następnie zajmuje się zagadnieniem wydzielania C-peptydu: przedstawia możliwości oceny tego markera, potencjalne czynniki wpływające na jego sekrecję oraz praktyczne wykorzystanie tych oznaczeń. W kolejnym podrozdziale wstępu, podkreśla znaczenie holistycznego podejścia do leczenia cukrzycy typu 1, w tym nowoczesnej insulinoterapii, właściwej diety i regularnej aktywności fizycznej. Podsumowaniem wstępu jest omówienie remisji w cukrzycy typu 1 – stanu potencjalnie bardzo pożądanego, zależnego od zachowania zdolności wydzielania insulin i mierzonego wartością C-peptydu. Autorka przedstawia definicję remisji, częstość jej występowania oraz czynniki metaboliczne i indywidualne, które mogą ją kształtować. Zawarte we wstępie informacje, oparte o bogaty przegląd literatury, ujęte w artykule poglądowym pt: „ C-peptide and residual B-cell function in pediatric diabetes – state of art." (Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism: 2021, 27, 123-133), wskazują na doskonałe merytoryczne przygotowanie autorki.

Bardzo dojrzałe i precyzyjne omówienie w/w zagadnień jako spraw istotnych klinicznie i wciąż nie do końca poznanych, pozwala doktorantce na sformułowanie celów swojej dysertacji.

Doktorantka postanowiła: a) porównać pacjentów aktywnych i nieaktywnych fizycznie pod względem wyrównania metabolicznego, dobowego zapotrzebowania na insulinę, wydzielania C-peptydu oraz występowania remisji częściowej po 2 latach od zachorowania; b) przeanalizować mobilizację komórek HSC oraz VSEL do krwi obwodowej w chwili zachorowania na cukrzycę i ustalić ich rolę w utrzymaniu resztkowej funkcji komórek beta oraz wystąpieniu remisji; c) zdefiniować antropometryczne i biochemiczne czynniki wpływające na zachowanie częściowej funkcji komórek beta po wielu latach choroby.

Jasno sformułowane założenia pracy autorka realizuje dobierając w odpowiedni sposób materiał i metodykę pracy. Badaniami objęto dzieci i młodzież <18 r.ż. z cukrzycą typu 1 hospitalizowane w Klinice Pediatrii, Endokrynologii i Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii UDSK w Białymstoku. Badanie było realizowane etapami, w różnych grupach pacjentów - odpowiednio badanie dotyczące aktywności fizycznej w grupie 125 dzieci, badanie dotyczące komórek HSC i VSEL w grupie 59 pacjentów i badanie dotyczące czynników wpływających na zachowanie zdolności wydzielania insuliny po kilku latach w grupie 178 pacjentów. Metodyka przeprowadzonych badań laboratoryjnych została dobrana właściwie i opisana czytelnie. Na podkreślenie zasługuje fakt, że celem przeprowadzenia pierwszej części badania oceniającej wpływ aktywności fizycznej na zachowanie zdolności wydzielania insuliny, autorka stworzyła własny kwestionariusz, który wstępnie został poddany wewnętrznej walidacji. Świadczy to o dużej kreatywności autorki i własnym zaangażowaniu w realizację pracy doktorskiej.

W prospektywnym badaniu pt.: „Regular physical activity as a physiological factor contributing to extend partial remission time in children with new onset diabetes mellitus - two years observation" (Pediatric Diabetes 2020; 21, 5, 800-807), doktorantka wykazała, że w grupie 43% pacjentów sklasyfikowanych jako aktywni fizycznie, obserwowano niższy poziom HbA1c, niższe dobowe zapotrzebowanie na insulinę oraz większą częstość występowania częściowej remisji (odpowiednio 44% vs 13%). Co ciekawe stężenie C-peptydu po 2 latach obserwacji było porównywalne w obu grupach, z większą jednak częstością stwierdzono wartości istotnie klinicznie (>0,2 nmol/L wg DCCT) w grupie dzieci aktywnych fizycznie (odpowiednio 79,6% vs 61,4%). Wyniki te są niezwykle cenne, gdyż potwierdzają tezę, iż tak prosty do zastosowania element leczenia, może w istotny sposób wpływać na przebieg remisji cukrzycy, dając tym samym szansę chorym dzieciom na lepsze wyrównanie metaboliczne i uniknięcie powikłań przewlekłych.

W drugiej pracy wchodzącej w cykl prac rozprawy doktorskiej, pt: „ Circulating hematopoietic (HSC) and very-small embryonic like (VSEL) stem cells in newly diagnosed childhood diabetes type 1- novel parameters of beta cel destruction/regeneration balance and possible prognostic factors of future disease course" (Stem Cell Reviews and Reports: 2021, 11 pp) autorka podjęła się odpowiedzi na pytanie, czy spontaniczna regeneracja oraz stymulowane procesy naprawcze komórek beta z wykorzystaniem komórek macierzystych mogą modulować kliniczną remisję cukrzycy typu 1 oraz sekrecję C-peptydu. Doktorantka bardzo dokładnie i drobiazgowo przeanalizowała zachowanie się stężeń komórek HSC i VSEL w

prospektywnej, dwuletniej obserwacji swoich pacjentów z cukrzycą. Odnotowała specyficzne zależności pomiędzy badanymi komórkami a w/w parametrami klinicznymi: niższe stężenia HSC i wyższe stężenia VSEL oraz wyższy wskaźnik VSEL/HSC, korelowały z lepszą sekrecją C-peptydu przy ujawnieniu choroby i częstszym uzyskaniem remisji po 2 latach. Są to nowe markery, interesujące ze względu na fakt potencjalnego znaczenia w prognozowaniu naturalnego przebiegu klinicznego cukrzycy, w tym wpływu na resztkową sekrecję insuliny. Doktorantka wykazała, że przebieg procesów inmmunologicznych w początkowym okresie choroby wciąż nie jest do końca zbadany i warto w tym kierunku projektować dalsze badania naukowe.

Ostatnim elementem badania nad znaczeniem zachowania zdolności sekrecji C-peptydu u pacjentów z długotrwałą cukrzycą, była analiza korelacji tego markera z przebiegiem leczenia. Autorka wykazała, iż ponad 30% pacjentów po 12 miesiącach od ujawnienia choroby zachowuje wydzielanie C-peptydu istotne klinicznie (>0,23 ng/ml). Pacjenci ci (istotnie starsi przy ujawnieniu) uzyskiwali lepsze wyrównanie metaboliczne, doświadczali dłuższej remisji i wymagali niższej dawki dobowej insuliny, ale nie insuliny posiłkowej. Stężenia C-peptydu oznaczane były dwiema metodami – klasyczną i ultraczułą, wyniki były porównywalne, nie zaobserwowano przewagi metody ultraczułej.

Podsumowanie pracy i wnioski autorka formułuje w sposób zwięzły i przejrzysty. Są one klarowną odpowiedzią na postawione na wstępie cele rozprawy i wynikają w pełni z przedstawionych wyników i analiz. Doktorantka w oryginalny, unikatowy sposób zaprojektowała wieloetapowe badanie oceny stężenia C-peptydu w różnych okresach rozwoju cukrzycy typu 1. Tym samym pokazała szeroki wachlarz możliwości wyciągania praktycznych wniosków z tych oznaczeń w kontekście korelacji z różnymi parametrami metabolicznymi i klinicznymi. Ogromną zaletą naukową pracy jest fakt, że badanie ma charakter prospektywnej obserwacji stosunkowo dużych grup pacjentów. Wyniki badań opublikowane w recenzowanych, wysoko punktowanych czasopismach, potwierdzają jednoznacznie ich dużą wartość merytoryczną. Natomiast walorem praktycznym tej rozprawy, moim zdaniem przede wszystkim jest rzeczywiste potwierdzenie, że zdrowy styl życia, w tym regularna aktywność fizyczna, ma tak duże znaczenie w sukcesie terapii. To pacjent w dużym stopniu decyduje o skuteczności leczenia cukrzycy w kontekście zachowania resztkowego wydzielania C-peptydu i szansy na lepsze wyrównanie metaboliczne. Praca doktorantki daje klinicystom narzędzie w postaci dowodów naukowych i mobilizuje do bardziej efektywnej pracy.

Z punktu widzenia recenzenta chciałabym podkreślić, że praca została przygotowana pod względem edytorskim bezbłędnie. Autorka w precyzyjny sposób wprowadza czytelnika w temat i prowadzi przez kolejne etapy dysertacji. Praca jest wielowymiarowa i wielowątkowa, co jednak powoduje, że czasem czytelnik może się nieco zagubić w mnogości informacji i analiz, a czasem może mu zabraknąć jakiejś interpretacji. I tak w rozdziale opisującym metodykę, zabrakło w moim odczuciu jasno sprecyzowanego kryterium remisji - we wstępie autorka opisuje, że tych definicji aktualnie można zastosować wiele, nie podaje jednak, którą

definicję wybrała i dlaczego. Częściowo odnalazłam te informacje w oryginalnej publikacji – proszę o uzasadnienie wyboru. Ciekawym wynikiem ostatniej analizy czynników klinicznych /biochemicznych korelujących z zachowaniem resztkowego wydzielania C-peptydu po kilku latach, jest informacja o pozytywnym związku z wysokim stężeniem HbA1c przy ujawnieniu. Autorka nie komentuje tego wyniku – uprzejmie proszę zatem o wyjaśnienie tego zjawiska.

Podsumowanie

Zaprezentowana do oceny rozprawa doktorska wskazuje na duże doświadczenie doktorantki w pracy naukowo-badawczej. Tezy tej oryginalnej pracy zostały dobrze przemyślane, materiał rzetelnie i wnikliwie opracowany, a podsumowanie opisowe i wysunięte wnioski świadczą o wysokich umiejętnościach logicznej i samodzielnej analizy. Pracę przeczytałam z ogromnym zainteresowaniem i prawdziwą przyjemnością nie tylko ze względu na wysoką wartość merytoryczną, ale także sposób formułowania i prezentowania myśli - swobodny, ale z drugiej strony niezwykle precyzyjny styl pisania.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. med. Mileny Jamiołkowskiej-Sztabkowskiej pt „ Ocena rezydualnej funkcji komórek beta wysp trzustkowych oraz jej znaczenia u dzieci i młodzieży chorującej na cukrzycę w różnym czasie trwania choroby " spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych. W związku z tym mam przyjemność przedstawić Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie lek. med. Mileny Jamiołkowskiej-Sztabkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie ze względu na wysoką wartość merytoryczną pracy potwierdzoną publikacjami o wysokim współczynniku oddziaływania (IF 10,650) wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Z poważaniem

Dr hab. n. med. Grażyna Deja Prof. SUM

Grażyna Deja