



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Kraków 4.09.2023

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

**Lekarz medycyny Agnieszki Polkowskiej**

**pt. „Ocena stężenia wybranych adipocytokin i peptydów jelitowych  
w przebiegu cukrzycy typu 1 u dzieci”,**

**wykonanej w Klinice Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii  
z Pododdziałem Kardiologii**

**Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku**

**Promotor: Prof. dr hab. n. med. Artur Bossowski**

Cukrzyca jest chorobą społeczną dotykającą w niektórych społeczeństwach ponad 10% populacji. Zgodnie z definicją Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) cukrzyca jest grupą chorób metabolicznych charakteryzujących się hiperglikemią. U dzieci i młodzieży najczęściej występuje cukrzyca typu 1 (T1D), w której przyczyną hiperglikemii jest brak insuliny na skutek autodestrukcji komórek beta wysp trzustkowych ją wydzielających. W ostatnich dekadach obserwuje się znaczny wzrost zapadalności na T1D w populacjach pediatrycznych, jednakże nadal etiopatogeneza tej choroby nie została jednoznacznie wyjaśniona. Podkreśla się udział czynników zarówno egzogennych jak i endogennych w inicjowaniu procesu autoimmunizacyjnego uszkodzenia wysp trzustkowych. Pośród

czynników endogennych mających wpływ na gospodarkę węglowodanową w ostatnich latach wymieniane są hormony wydzielane przez tkankę kostną, tłuszczową, jak również te produkowane w przewodzie pokarmowym.

Podjęcie przez lek. med. Agnieszką Polkowską tematu oceny stężeń wybranych adipocytokin i peptydów żołądkowych w przebiegu cukrzycy typu 1 u pacjentów pediatrycznych, celem analizy ich zmienności w przebiegu choroby, jest jak najbardziej uzasadnione dla szerszego poznania ich potencjalnego udziału w jej etiopatogenezie. Aktualna wiedza na temat funkcji adipocytokin i peptydów jelitowych w regulacji gospodarki węglowodanowej pozwala typować je jako niezbędny element regulujący procesy spożywania pokarmów, a poprzez to mający wpływ na stan odżywienia i przebieg wzrastania w okresie rozwojowym.

Przedstawiona do recenzji praca liczy 157 stron tekstu, zilustrowanego 33 rycinami oraz 24 tabelami. Podzielona jest na czternaście rozdziałów, na które składa się: obszerny wstęp w wieloczołowym rozdziale drugim oparty na przeglądzie literatury, sprecyzowanie celów badawczych w rozdziale trzecim, charakterystyka grupy badanej i stosowanych metod badawczych w rozdziale czwartym i piątym, prezentacja wyników w rozbudowanym rozdziale szóstym, dyskusja w rozdziale siódmym oraz wnioski w rozdziale ósmym. Całość rozprawy uzupełnia streszczenie pracy w języku polskim przedstawione w rozdziale dziewiątym oraz streszczenie w języku angielskim zamieszczone w rozdziale dziesiątym, spisy tabel i rycin przedstawione w kolejnych dwóch rozdziałach. Lista 303 pozycji piśmiennictwa stanowi rozdział trzynasty. Wykaz stosowanych skrótów przedstawionych w rozdziale pierwszym poprzedza całość pracy, podczas gdy zamyka ją załącznik w rozdziale czternastym będący kserokopią zgody lokalnej komisji bioetycznej na badania objęte pracą.

We wstępie liczącym 23 strony, Doktorantka bardzo szczegółowo w ośmiu podrozdziałach przedstawiła aktualne dane dotyczące definicji cukrzycy, jej klasyfikacji, przedstawiła najnowsze dane na temat etiopatogenezy i epidemiologii cukrzycy typu 1. Ponadto przedstawiła cele leczenia cukrzycy typu 1. W podrozdziale siódmym zaprezentowała powikłania cukrzycy, a w ostatnim, ósmym podrozdziale wstępu zaprezentowała aktualne dane na temat analizowanych w pracy adipokin i peptydów jelitowych, tj. greliny, obestatyny, apeliny i omentyny. Wstęp zaprezentowany jest przejrzysty, napisany piękną polszczyzną i podaje najbardziej aktualne fakty dotyczące omawianych zagadnień. Cenną częścią wstępu jest jego ostatni podrozdział przedstawiający oceniane adipokiny i peptydy jelitowe oraz prezentujący aktualną wiedzę na temat możliwego ich udziału w etiopatogenezie cukrzycy typu 1 i jej powikłań. Choć w mojej opinii wstęp jest zbyt obszerny, świadczy o dobrym

przygotowaniu Doktorantki do pracy badawczej oraz o znajomości podjętej tematyki. Sugerowałabym jedynie niewielkie poprawki tekstu wstępu. Proponowałabym mniej jednoznaczne przedstawianie udziału zakażeń w patogenezie T1D przedstawione w podrozdziale II.3.1. Wskazane byłoby usunięcie informacji o przeciwciałach przeciwiinsulinowych przeciw egzogennej insulinie celem potwierdzenia autoimmunizacyjnego podłoża T1D. Właśnie z powodu możliwości wygenerowania tych przeciwciał po włączeniu insuliny do leczenia, już po piątej dobie jej stosowania, nie mogą być one markerem dla rozpoznania T1D. Zdanie rozpoczynające podrozdział II.4 jest zbyt dużym skrótem myślowym i znacznie lepiej brzmiałoby podając, że jednym z priorytetów ochrony zdrowia jest profilaktyka i właściwa terapia cukrzycy. W rozdziale tym proponuje podać odsetek chorych z cukrzycą w krajach arabskich, które wymienione są w pierwszej kolejności, przed kolejnymi krajami, dla których podane jest rozpowszechnienie choroby w procentach.

W kolejnej części rozprawy Autorka sformułowała jasno założenia i cele pracy, którymi była ocena stężeń greliny, obestatyny, omentyny-1 i apeliny w grupie dzieci z cukrzycą typu 1 oraz w grupie kontrolnej dzieci zdrowych, w dalszej kolejności analiza korelacji tych stężeń z czasem trwania cukrzycy oraz analiza ich korelacji z klinicznymi i biochemicznymi wykładnikami metabolicznego wyrównania choroby.

Następnie Doktorantka opisała badaną grupę pacjentów oraz metody zastosowane w pracy wraz z analizą statystyczną. Zgodnie z kryteriami wyłączenia do grupy badanej, tj. występowania chorób towarzyszących wątroby, układu moczowego, oddechowego oraz innych chorób o podłożu autoimmunizacyjnym, badanie przeprowadzono w grupie 46 pacjentów z cukrzycą typu 1 w wieku średnim 13,4 lat oraz w grupie 34 zdrowych dzieci w średnim wieku 13,4 lat. Z obu grup wykluczono dzieci otyłe z BMI powyżej 95 centyla oraz dzieci z zaburzeniami odżywiania. Badanie było przeprowadzone prawie dekadę temu tj. w 2014 roku i z tego roku pochodzi załączona zgoda Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Szkoda, że badanie nie było kontynuowane, ponieważ grupy badane nie są liczne, tym bardziej, że Autorka wprowadziła jeszcze podział grupy pacjentów z cukrzycą na cztery podgrupy uwzględniając czas trwania choroby. Podgrupy te różnią się znamienne pod względem wieku. Najmłodszy są pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, u których rozpoznaniu choroby towarzyszyła cukrzycowa kwasica ketonowa. Badania będące przedmiotem doktoratu prowadzono w tej podgrupie już po wyprowadzeniu z kwasicy ketonowej. Ciekawe byłoby porównanie tych badań do badań pacjentów z nowo rozpoznaną T1D, której przy rozpoznaniu nie towarzyszyła cukrzycowa kwasica ketonowa. Autorka

zilustrowała precyzyjnie przydział do podgrup przy pomocy diagramu, który jednakże jest powtórzeniem danych prezentowanych w tekście.

U wszystkich uczestników badania, zarówno w grupie badanej jak i kontrolnej, przeprowadzono pomiary antropometryczne oraz wykonano serię badań laboratoryjnych. W metodologii pracy jasno i szczegółowo określone zostały metody oceny auksologicznej pacjentów, metody oznaczeń biochemicznych oraz metody badania w kierunku powikłań cukrzycy. Autorka jako układów odniesienia w analizie danych używa raz kryteriów ISPAD (ang. *International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes*) np. dla HbA1c, raz kryteriów PTD np. dla lipidów. Dla uporządkowania danych powinno być zastosowane albo tylko jedno z kryteriów, albo w każdym przypadku oba. To drugie rozwiązanie miałoby pełne uzasadnienie, ponieważ badanie prowadzone było w polskiej populacji pediatrycznej, dla której obowiązują zalecenia PTD, jednakże dla celów ogólnodostępnej, anglojęzycznej publikacji wyników w przyszłości należałoby uwzględnić też kryteria międzynarodowe ISPAD.

W analizie statystycznej Autorka użyła odpowiednie testy dla porównania wartości uzyskanych danych pomiędzy grupami, a w ostatnim jej etapie zastosowała krzywe oceny jakości klasyfikatora ROR do określenia poprawności klasyfikacji otrzymanych wyników. Z uwagi na podział na podgrupy wskazane było użycie w analizie statystycznej analizy wariancji, którą Doktorantka zastosowała, choć nie opisała tego w metodologii pracy.

W rozdziałach poświęconym wynikom badań, Doktorantka szczegółowo przedstawiła charakterystykę grupy badanej z podziałem na podgrupy, uwzględniającą wiek badanych, wyniki ich pomiarów antropometrycznych, w podgrupach dzieci z cukrzycą również wyniki HbA1c. Moim zdaniem dla przedstawienia wyników pomiarów antropometrycznych należało posłużyć się jedynie wartościami odchyłeń standardowych dla wzrostu i BMI pacjentów, które w wiarygodny sposób odzwierciedlałyby wartości wzrostu i masy ciała w odniesieniu do norm populacyjnych właściwych dla danej płci i wieku, tym bardziej, że podgrupy dzieci z cukrzycą istotnie różniły się wiekowo. Autorka przedstawiła je również w formie wartości podanych w cm i kg. W grupie dzieci z cukrzycą opisała sposób leczenia choroby z uwzględnieniem dobowej dawki insuliny przeliczonej na kg masy ciała. W charakterystyce obu grup badanych (Tabele 1-3) Doktorantka przedstawiła również średnie wartości kreatyniny, enzymów wątrobowych ALT i AST, ale bez podania ich norm laboratoryjnych oraz informacji na temat istotności ich różnic w poszczególnych grupach. Informacja na temat istotności różnic w zakresie przedstawionych parametrów między grupami i pomiędzy podgrupami podana jest w kolejnych tabelach (Tabele 4-7), a ponadto bardzo dokładnie w tekście rozdziału z wynikami i jeszcze na rycinach (Ryciny 6-13). Jest to trzykrotne powtórzenie tych samych informacji,

zupełnie niepotrzebnie. W kontekście dalszej oceny peptydów jelitowych ciekawa wydaje się istotnie wyższa średnia wartość ALT w grupie dzieci z cukrzycą w porównaniu do ich zdrowych rówieśników. Interesujące też wydają się wyniki istotnie niższych średnich wartości całkowitego cholesterolu, LDL-cholesterolu oraz trójglicerydów u dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą, czyli istotnym klinicznie brakiem insuliny w porównaniu do grupy kontrolnej. Porównanie wyników lipidów między grupami i podgrupami powtórzone jest również trzykrotnie w tekście, w tabelach (Tabele 8 i 9) i na rycinach (Ryciny 14-17). W pracy brak jest laboratoryjnych norm dla lipidów. Doktorantka analizowała również wyniki pomiarów ciśnień, natomiast przedstawiła ich surowe wartości, nie odnosząc ich do odpowiednich populacyjnych siatek centylogowych uwzględniających płeć, wiek i wzrost (Tabela 10, Ryciny 18-19). W Tabelach 14 i 15 przedstawione są szczegółowe wyniki badań hormonów osi tarczycowej i przeciwciał przeciw tarczycowym anty-TPO i anty-Tg w grupach i podgrupach, brakuje jednak norm laboratoryjnych dla poszczególnych parametrów. W podrozdziale VI.1.15 ponownie przedstawione są sposoby insulinoterapii tym razem z podziałem na grupy, powtórzone w tekście, Tabeli 16 i Rycinie 21.

Główna analiza objęła analizę stężeń greliny, omentyny-1, obestatyny i apeliny w grupie badanej i kontrolnej oraz w podgrupach dzieci z cukrzycą uwzględniających czas trwania choroby. Wyniki te zostały przedstawione w Tabelach 18 i 19 wraz z podaniem istotności różnic oraz powtórnie w tekście i na rycinach. Surowicze stężenia peptydów jelitowych: greliny i obestatyny oraz adipocytokin: apeliny i omentyny w surowicy krwi były znacząco niższe u pacjentów z cukrzycą typu 1 w porównaniu do grupy kontrolnej. Ulegały one zmianie w czasie trwania choroby, a najniższe stężenie wszystkich ocenianych peptydów stwierdzono w podgrupie najdłużej chorujących dzieci, jednakże różnice te nie wykazywały istotności statystycznej, być może z uwagi na niewielką liczebność podgrup. Biorąc pod uwagę możliwość opublikowania wyników pracy jako badania pilotażowego należałoby skompensować przedstawione wyniki unikając powtarzania tych samych danych w tekście, rycinach i na wykresach. Doktorantka przeprowadziła ponadto szczegółową analizę korelacji między uzyskanymi stężeniami badanych peptydów żołądkowych i adipocytokin oraz wybranymi parametrami klinicznymi i biochemicznymi. Zaprezentowała istotne statystycznie korelacje między stężeniami adipocytokin i peptydów jelitowych a BMI, które nie mają znaczenia naukowego ani klinicznego, ponieważ jednocześnie nie stwierdzono istotności statystycznej żadnych korelacji między adipocytokinami i peptydami jelitowymi a SDS BMI w poszczególnych podgrupach pacjentów.

W dyskusji Doktorantka szeroko i szczegółowo omówiła wyniki badań własnych porównując je do opublikowanych w piśmiennictwie. Autorka podjęła próbę racjonalnej interpretacji uzyskanych wyników wykazując się umiejętnością krytycznej interpretacji cytowanej literatury. Zaprezentowana przez nią staranność w opracowaniu danych oraz sposób omówienia wyników potwierdzają zdobyte przez nią doświadczenie kliniczne oraz świadczą o umiejętności samodzielnego analizowania problemów naukowych. Dyskusja napisana jest bardzo przejrzysto, dobrym pomysłem było użycie czcionki ukośnej dla wyodrębnienia wyników omawianej pracy w porównaniu do cytowanej literatury. W całości dyskusji brakuje jednak syntetycznego podsumowania analizy wyników. Autorka sugeruje, że niższe stężenie greliny u dzieci z cukrzycą może sugerować mechanizm obronny przed hiperglikemią. Istotnie najwyższe stężenia greliny obserwowano u dzieci z nowo rozpoznaną chorobą i najwyższymi hiperglikemiami, potwierdzonymi najwyższą wartością HbA1c, jednakże były one znacząco niższe niż w grupie kontrolnej, która miała glikemie prawidłowe. W innym miejscu Doktorantka proponuje wytłumaczenie, że wyższe stężenia peptydów regulatorowych u pacjentów tuż po rozpoznaniu cukrzycy w porównaniu do chorujących dłużej, mogą być związane z nasiloną reakcją autoimmunologiczną bądź niedostatecznym procesem ochronnym powstrzymującym rozwój procesu immunologicznego. I tu podobnie pojawia się pytanie jak zinterpretować w tym świetle wyższe istotnie stężenia peptydów regulatorowych u dzieci zdrowych? Bardzo ostrożnie odnosiłabym się w dyskusji do interpretacji różnic w zakresie HbA1c u pacjentów leczonych insuliną przy użyciu penów w porównaniu do tych, którzy leczeni byli z zastosowaniem pomp insulinowych. Różnice te niekoniecznie są dowodem potwierdzającym wyższość tej drugiej metody, ponieważ w kryteriach kwalifikacji do stosowania pompy insulinowej istotne znaczenie ma poziom HbA1c. Zatem grupa pacjentów leczonych z zastosowaniem osobistych pomp insulinowych jest grupą wstępnie wyselekcjonowaną. Moja kolejna uwaga do tej części pracy dotyczy zbyt obszernego omówienia w dyskusji zagadnień, które nie są głównym przedmiotem pracy, na przykład powikłań cukrzycy. Tymczasem zabrakło w dyskusji próby analizy istotnej różnicy wartości ALT w grupie dzieci z cukrzycą w porównaniu do dzieci zdrowych, co może mieć bardzo istotne znaczenie w odniesieniu do roli peptydów jelitowych. W mojej opinii ciekawe byłoby szersze omówienie tematu narastającej otyłości u dzieci z cukrzycą typu 1 wraz z czasem trwania choroby w aspekcie zmniejszających się stężeń prezentowanych peptydów regulacyjnych. Bardzo trafna jest sugestia Autorki, że niskie stężenie greliny u pacjentów z istotnie wyższym SDS BMI może być manifestacją insulinooporności i, że zagadnienie to wymaga dalszych badań.

Autorka starannie dobrała bardzo obszerną literaturę w czasie przygotowania rozprawy, która obejmuje aż 303 prace zarówno polskie jak i anglojęzyczne, ponad połowa tych prac pochodzi z ostatniego dziesięciolecia.

Autorka kończy pracę formułując trzy wnioski podsumowujące wyniki badań, z których do przyjęcia są tylko dwa pierwsze z powodów merytorycznych omówionych wcześniej. Z uwagi na niewielką liczebność grup praca spełnia kryterium badania pilotażowego do zaplanowania pełnego, interesującego i wartościowego badania mającego na celu poznanie roli ośrodkowego układu nerwowego i układu pokarmowego w regulacji gospodarki węglowodanowej, jak również ich udziału w etiopatogenezie cukrzycy typu 1.

W opracowaniu Doktorantka popełniła drobne błędy stylistyczne i redakcyjne. W całej pracy napisanej poprawną polszczyzną Autorka używa określenia ghrelina, podczas gdy w polskim języku przyjęta jest nazwa grelina. Należy unikać określeń dzieci chore i diabetycy, co zdarzyło się w całej pracy tylko raz w podrozdziale VI.2.1 i w podrozdziale VII.2, proponuję zamienić te sformułowania na: „dzieci z cukrzycą”. W pozycji 63 literatury brakuje podania roku jej wydania. W angielskim streszczeniu pracy przy prezentacji wieku uczestników badania brakuje jednostki (*years*), ponadto w tym miejscu warto nadmienić, iż nie powinno zaczynać się zdania od liczb. Jednakże, poza tymi drobnymi uwagami, w podsumowaniu pragnę podkreślić, że praca zredagowana jest bardzo starannie, czyta się ją z przyjemnością.

Pomimo powyżej przedstawionych uwag, w mojej opinii jako recenzenta, omawiana rozprawa spełnia warunki wynikające z odpowiednich przepisów dotyczących wymagań stawianych rozprawom doktorskim t.j. art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789.) oraz art. 179 ust. 1. Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Na tej podstawie przedkładam Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej lek. med. Agnieszki Polkowskiej pt. „Ocena stężenia wybranych adipocytokin i peptydów jelitowych w przebiegu cukrzycy typu 1 u dzieci” i dopuszczenie Kandydatki do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. ANNA WĘDRYCHOWICZ  
specjalista pediatra  
specjalista endokrynolog  
specjalista diabetolog  
spec. endokrynolog i diabetolog dziecięcy  
17 40 15 15