

KATEDRA I KLINIKA PEDIATRII, DIABETOLOGII I ENDOKRYNOLOGII

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Małgorzata Myśliwiec

ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk
fax. 058/ 349/ 28 48
tel. 058/ 349 28 98

mail: pdiabend@gumed.edu.pl

Gdańsk, dnia 12.10.2023 r.

Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

lek. Agnieszki Polkowskiej

**p.t. „Ocena stężenia wybranych adipocytokin i peptydów żołądkowych w
przebiegu cukrzycy typu 1 u dzieci”**

Przedstawiona do oceny praca obejmuje: 157 stron tekstu, 303 pozycje cytowanego piśmiennictwa. Układ pracy jest klasyczny i obejmuje: Wstęp (str. 14-41), Cel pracy (str. 41), Materiały i metody badań (str. 42-51), Wyniki (str. 52-94), Dyskusję (str. 95-116), Wnioski (str. 117). W pracy zawarto również: Spis treści, Spis rycin, tabel, zdjęć, Indeks skrótów, Aneksy oraz Streszczenie w języku polskim i angielskim (str. 118-125).

Cel pracy został przedstawiony jasno i precyzyjnie. Lek. Agnieszka Polkowska podjęła próbę określenia stężenia ghreliny, obestatyny, omentyny-1, apeliny w surowicy krwi u dzieci z cukrzycą typu 1 w odniesieniu do dzieci zdrowych.

Istotną częścią postawionego celu pracy było odpowiedzenie na pytanie czy istnieje korelacja między stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy typu 1, jej przebiegiem klinicznym, czasem trwania choroby a stężeniem peptydów żołądkowych i adipocytokin w surowicy krwi pacjentów.

Obszerny wstęp prezentuje w oparciu o aktualne piśmiennictwo współczesną wiedzę na temat epidemiologii, etiopatogenezy, diagnostyki oraz klasyfikacji cukrzycy. Doktorantka podkreśla dynamiczny wzrost zapadalności na cukrzycę typu 1 u dzieci i młodzieży na świecie i w Polsce, szczególnie w grupie dzieci najmłodszych poniżej 7 roku życia.

Ponadto Doktorantka opisuje cele terapeutyczne cukrzycy typu 1 w populacji pediatrycznej na podstawie wytycznych Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2021 roku oraz ISPAD 2015 roku. Przy publikacji wyników proponuję uwzględnienie wytycznych najnowszych obu towarzystw naukowych z 2022 roku. W dalszej części wstępu Doktorantka opisuje późne powikłania cukrzycy, w tym cukrzycową chorobę oczu, nefropatię, neuropatię cukrzycową, choroby układu sercowo-naczyniowego oraz udział adipocytokin i peptydów żołądkowych w ich rozwoju.

Dużą część wstępu lek. Agnieszka Polkowska poświęca opisowi działania para- i endokrynnemu ghreliny podkreślając, że jest ona m.in. wydzielana również przez komórki w obrębie wysp trzustkowych dając perspektywę regulacji glukozy, które być może w przyszłości mogą stać się komórkami prekursorowymi do pozyskiwania komórek β trzustki do przeszczepów chorym na cukrzycę. Kolejnym peptydem żołądkowym, który był przedmiotem zainteresowania lek. Agnieszki Polkowskiej w pracy doktorskiej to obestatyna, mająca wpływ w regulacji masy ciała i dająca efekty przeciwstawne do działania ghreliny, takie jak spadek łaknienia i redukcję masy ciała. W dalszej części wstępu Doktorantka szczegółowo opisuje inne cytokiny, takie jak apelinę oraz omentynę mające wpływ na gospodarkę węglowodanową, insulinooporność podkreślając ich rolę w rozwoju otyłości oraz chorób z nią związanych. Lek. Agnieszka Polkowska słusznie podkreśla, że bliższe poznanie ich roli w modulowaniu metabolizmu glukozy i insulinooporności mogą one stać się w przyszłości potencjalnymi markerami progresji zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych oraz biomarkerami funkcji śródbłonna naczyniowego u osób z nieprawidłową tolerancją glukozy i cukrzycą.

Pomimo prowadzonych licznych badań przez innych autorów nadal nie został w pełni wyjaśniony udział hiperglikemii, otyłości, insulinooporności nadciśnienia, dyslipidemii współistniejących z cukrzycą z autoimmunizacji oraz innych markerów w rozwoju choroby i jej powikłań. Dlatego uważam, że podjęte przez lek. Agnieszkę Polkowską badania poszukujące jak najwcześniejszych markerów ryzyka uszkodzenia narządów w przebiegu cukrzycy typu 1 są w pełni uzasadnione i mogą mieć daleko idące implikacje kliniczne.

Badaniami objęto 46 dzieci z cukrzycą typu 1 w wieku $13,4 \pm 3,3$ lat, u których postawiono rozpoznanie cukrzycy typu 1 na podstawie kryteriów ISPAD z 2014 hospitalizowanych w Klinice Pediatrii, Endokrynologii, Diabetologii z Pododdziałem Kardiologii oraz będących pod opieką Poradni Diabetologicznej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku w 2014 r. Grupa badana została podzielona

na 4 podgrupy: podgrupa I- pacjenci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, po wyprowadzeniu z kwasicy ketonowej (n=10), podgrupa II- chorujący do 5 lat (n=9), podgrupa III- chorujący 5-10 lat (n=20) oraz podgrupa IV- chorujący dłużej niż 10 lat na cukrzycę typu 1 (n=7). Z badania wykluczono pacjentów, u których na podstawie badania klinicznego oraz wyników badań biochemicznych, bakteriologicznych i immunologicznych rozpoznano towarzyszące choroby wątroby, układu moczowego, układu oddechowego, cukrzycę innego typu oraz inne choroby o podłożu autoimmunologicznym celem uniknięcia wpływu dodatkowych chorób na wyniki badań. Wyniki uzyskane u pacjentów z cukrzycą typu 1 odniesione zostały do grupy kontrolnej. Kontrolną grupę stanowiło 34 zdrowych dzieci w wieku $13,4 \pm 3,0$ lat. W grupie kontrolnej na podstawie wywiadu, badania przedmiotowego, badań biochemicznych (C-peptydu, HbA1c) i immunologicznych wykluczono wyżej wymienione choroby, cukrzycę typu 1 oraz zaburzenia odżywiania. Z badanych grup wykluczono ponadto dzieci z indeksem masy ciała określonym jako BMI wynoszącym powyżej 95 centyla dla wieku i płci, aby uniknąć wpływu BMI na poziom badanych peptydów. Pacjenci z cukrzycą typu 1 leczeni byli insulinami ludzkimi lub analogami insuliny metodą intensywnej insulinoterapii za pomocą penów lub ciągłego podskórnego wlewu insuliny z użyciem osobistej pompy insulinowej.

Szkoda, że pacjenci nie zostali jeszcze podzieleni na 2 grupy, w zależności od sposobu insulinoterapii, tj. metodą podaży insuliny penem lub osobistą pompą insulinową oraz drugi podział na 2 grupy w zależności od poziomu wyrównania metabolicznego choroby mierzonego HbA1c, ewentualnie na 2 grupy w zależności od długości trwania choroby, wówczas grupy byłyby liczniejsze, a uzyskane wyniki miałyby większą moc statystyczną w zakresie badanych markerów. Ale tak jak Doktorantka pisze, że uzyskane przez Nią wyniki pomimo, że w pełni nie wyjaśniły relatywnego udziału hiperglikemii, nadciśnienia, dyslipidemii towarzyszących cukrzycy typu 1 i rozwoju jej powikłań, to Jej praca rzuciła nowe światło na te zagadnienia i przyczyni się do dalszych badań w tym zakresie.

U wszystkich badanych oceniono:

1. Dane antropometryczne: płeć, wiek, wzrost, masa ciała, wskaźnik masy ciała- BMI oraz standaryzowany wskaźnik masy ciała (SDS-BMI).
2. Badania laboratoryjne: odsetek hemoglobiny glikowanej, albuminuria w dobowej zbiórce moczu, gospodarka lipidowa (cholesterol całkowity, HDL- oraz LDL-cholesterol, triglicerydy), TSH, fT4, fT3, ATG, ATPO, kreatynina, (ALT), (AST), immunoglobulina A, TGA-IgA, **stężenie peptydów żołądkowych i adipocytokin w surowicy krwi**.
3. Badania dodatkowe: ciśnienie tętnicze, badanie okulistyczne oftalmoskopowe, badanie neurologiczne, USG tarczycy.

Na realizację badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku (R-I-002/397/2014). W każdym przypadku rodzice bądź opiekunowie pacjenta niepełnoletniego, a w przypadku osób powyżej 16 roku życia również sami pacjenci – wyrazili zgodę na udział w badaniu.

Zaprogramowane w ten sposób badania przez lek. Agnieszkę Polkowską wniosły szereg istotnych spostrzeżeń, ważnych przede wszystkim z punktu widzenia klinicznego. W ocenianej pracy doktorskiej we wszystkich podgrupach dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1, niezależnie od czasu trwania choroby, wykazano niższe stężenia badanych adipocytokin oraz peptydów regulatorowych w porównaniu do grupy kontrolnej, co według Doktorantki może potwierdzać udział badanych peptydów w regulacji poziomu glikemii.

Istotną częścią niniejszej rozprawy doktorskiej zdaniem recenzenta było wykazanie niższego stężenia badanych peptydów regulatorowych w grupie dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1 w porównaniu do grupy kontrolnej, ale wyższe niż w dalszym czasie trwania choroby. Być może jak Doktorantka podkreśla jest to związane z nasiloną reakcją autoimmunologiczną bądź niedostatecznym procesem ochronnym powstrzymującym rozwój procesu immunologicznego. Spostrzeżenie to może być potwierdzeniem działania modulującego peptydów żołądkowych oraz adipocytokin na proces zapalny, przyczyniający się do rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym. Natomiast według Doktorantki obniżanie się poziomu badanych peptydów w trakcie trwania choroby może przemawiać za znaczącą nierównowagą w zakresie czynników pro- i antyzapalnych na korzyść prozapalnych.

Oryginalną częścią niniejszej rozprawy doktorskiej są wyniki badań, które były odmienne niż w innych przedstawianych w pracy publikacjach. W ocenianej pracy odnotowano niższe stężenia wszystkich badanych peptydów w grupie dzieci z cukrzycą typu 1, w tym również apeliny. Ponadto nie stwierdzono znamiennych korelacji pomiędzy odsetkiem hemoglobiny glikowanej, stężeniem lipidów, kreatyniny, albuminurią, wartościami ciśnienia tętniczego, czasem trwania choroby, dobową dawką insuliny a oznaczanymi peptydami regulatorowymi w całej grupie badanej oraz w żadnej z badanych podgrup. W przedłożonej analizie stwierdzono jedynie istotną statystycznie ujemną korelację między BMI a stężeniem wszystkich badanych adipocytokin, peptydów żołądkowych oraz masą ciała a poziomem obestatyny, ghreliny i apeliny w podgrupie najdłużej chorujących dzieci, a także pomiędzy BMI a stężeniem obestatyny i apeliny w podgrupie dzieci chorujących 5-10 lat.

Wstępnie przeprowadzone badania aczkolwiek sugerują związek poziomów adipocytokin oraz peptydów żołądkowych z czynnikami ryzyka rozwoju późnych powikłań cukrzycy typu 1, jednak nie pozwalają na ustalenie dokładnego mechanizmu ich działania, co powinno być zachętą do podjęcia przez Doktorantkę kontynuacji rozpoczętych badań na większej liczbie pacjentów. Ponadto większość wyników dostępnych publikacji jest niejednoznaczna, kontrowersyjna, a przede wszystkim opierająca się na grupach dorosłych pacjentów z cukrzycą typu 2. Niezbędne są też, co podkreśla Doktorantka badania predyspozycji genetycznych, w tym również polimorfizmu genu peptydów przewodu pokarmowego, np. preproghreliny, który może mieć znaczenie u pacjentów cukrzycą typu 1 i stanowić ochronę lub nasilać rozwój późnych powikłań naczyniowych.

Spośród licznych uzyskanych przez Doktoranta wyników przeprowadzonych badań na uwagę zasługują następujące istotne spostrzeżenia:

1. Stężenie peptydów żołądkowych (Ghreliny, obestatyny) oraz adipocytokin (apeliny, omentyny) w surowicy krwi było niższe u pacjentów z cukrzycą typu 1 w porównaniu z grupą dzieci zdrowych.
2. U dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1 stężenie peptydów regulatorowych mogą ulegać zmianom wraz z czasem trwania choroby.
3. W żadnej badanej grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem peptydów regulatorowych a wartością HbA1c, dawką dobową insuliny, jedynie masa ciała i BMI miały wpływ na ich poziom.

Końcowe wnioski oceniającego:

1. Praca stanowi prawidłowo napisaną publikację.
2. Doktorantka potrafiła powiązać wyniki badań immunologicznych, biochemicznych ze stanem klinicznym pacjentów z cukrzycą typu 1 oraz parametrów antropometrycznych i sprecyzować wnioski wynikające z tych współzależności. Świadczy to o dużym zaangażowaniu osobistym w realizację badań.
3. Prezentacja wyników badań własnych, w tym tabele i ryciny stanowią wzorowo przygotowaną dokumentację naukowo-badawczą.
4. Wstęp do pracy i na wysokim poziomie przeprowadzona dyskusja świadczą o dużej wiedzy Doktorantki w zakresie etiopatogenezy cukrzycy typu 1 i przebiegu jej powikłań.

Moja ocena pracy pt. „Ocena stężenia wybranych adipocytokin i peptydów żołądkowych w przebiegu cukrzycy typu 1 u dzieci” na stopień doktora nauk medycznych lek. Agnieszki Polkowskiej pomimo uwag zawartych w recenzji jest pozytywna, spełnia ona wszelkie warunki określone przez aktualną Ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789.) oraz art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. i wnioskuję o dopuszczenie przez Senat Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku lek. Agnieszki Polkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

K I E R O W N I K
Katedry i Kliniki Pediatrii,
Diabetologii i Endokrynologii
Gdański Uniwersytet Medyczny


prof. dr hab. n. med. Małgorzata Myśliwiec