dr hab. n. med. Agnieszka Szadkowska
Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii
I Katedry Pediatrii
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Łódź, 31.03.2015 roku

Recenzja rozprawy doktorskiej

lekarza medycyny Julity Nocoń-Bohusz p.t. „Ocena stężenia markerów stanu zapalnego w okresie poposiłkowym u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1", wykonanej w Katedrze i Klinice Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem Profesor dr hab. n. med. Anny Noczyńskiej.

W ostatnich dekadach na całym świecie odnotowuje się wzrost częstości występowania cukrzycy typu 1 u dzieci i młodzieży. Wystąpienie i rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy, zwłaszcza mikro- i makroangiopatii są głównymi czynnikami prowadzącymi do pogorszenia jakości i skrócenia długości życia pacjentów. Z tego powodu jednym z głównych celów leczenia chorych na cukrzycę jest prewencja rozwoju naczyniowych powikłań choroby. Wyniki wieku badań wskazują, jak istotne jest jak najlepsze wyrównanie metaboliczne cukrzycy w pierwszych latach jej trwania, czyli w okresie opieki pediatrycznej. Problem wpływu glikemii poposiłkowej uważany jest za bardzo istotny czynnik wpływający na rozwój powikłań. Mechanizmy tego zjawiska nie są w pełni wyjaśnione. Wiadomo również, że na wystąpienia przewlekłych powikłań naczyniowych mają wpływ czynniki zapalne. Z tego powodu jak najbardziej celowe było podjęcie przez Doktorantkę badań dotyczących związku markerów stanu zapalnego z glikemią poposiłkową.

Przedstawiona do recenzji praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich. Napisana jest poprawnym i łatwym w odbiorze językiem. Liczy 161 stron tekstu, zilustrowanego 21 rycinami, 2 wykresami oraz 43 tabelami. Podzielona jest na 13 rozdziałów, na które składa się wstęp oparty o przegląd literatury, sformułowanie celów badawczych, charakterystyka grupy badanej i stosowanych metod badawczych, prezentacja wyników, dyskusja,

podsumowanie, spostrzeżenia oraz wnioski. Całość rozprawy uzupełnia streszczenie pracy oraz lista 298 pozycji piśmiennictwa. Doktorantka wykazała się bardzo szerokim doborem literatury obejmującym zarówno prace anglojęzyczne, jak i rodzime. Większość prac pochodzi z ostatnich kilku lat.

Wstęp liczący 29 strony, Kandydatka podzieliła na sześć podrozdziałów. W pierwszym z nich przedstawiła definicję, epidemiologię, etiopatogenezę oraz zasady leczenia cukrzycy. W kolejnym podrozdziale omówiła powikłania cukrzycy podkreślając, że zmiany o charakterze makroangiopatii są najczęstszą przyczyną zgonów u chorych na cukrzycę. W dwóch następnych częściach Doktorantka opisała miażdżycę jako stan zapalny oraz wybrane markery stanu zapalnego, w tym końcowe produkty glikacji (AGEs i sRAGE). W piątym i szóstym podrozdziale Autorka podkreśliła, że w ostatnich latach szczególne znaczenie przypisuje się hiperglikemii poposiłkowej, która może mieć istotniejsze znaczenie w rozwoju powikłań naczyniowych niż nieprawidłowy poziom glikemii na czczo. Jest to szczególnie ważne w pierwszych latach trwania cukrzycy, niezależnie od normalizacji glikemii w kolejnych latach jej trwania. Właśnie te spostrzeżenia przyczyniły się do powstania hipotezy tzw. „pamięci metabolicznej", wg której uważa się, że utrzymująca się hiperglikemia w pierwszych latach trwania cukrzycy prowadzi do zmian ekspresji genów/białek decydujących o powstaniu odległych powikłań naczyniowych. Tak przedstawiony wstęp pracy uzasadnia podjęcie przez Doktorantkę przedstawionej pracy badawczej.

Cele pracy zostały przedstawione jasno i precyzyjnie. Lek. med. Julita Nocoń-Bohusz podjęła próbę określenia, w jakim stopniu stan wyrównania metabolicznego, wartości glikemii poposiłkowej oraz również nocnej wpływają na stężenie markerów procesu miażdżycowego u dzieci z cukrzycą typu 1 w okresie poposiłkowym.

W kolejnym rozdziale zaprezentowała grupę badaną oraz metodykę badań. Badania zostały przeprowadzone w grupie 71 dzieci z cukrzycą typu 1 w wieku 7 - 17 lat leczonych w przyklinicznej Poradni Diabetologicznej. Grupę porównawczą stanowiło 20 zdrowych dzieci w zbliżonym wieku bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej. Na wykonanie projektu badawczego uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

U wszystkich badanych dzieci przeprowadzono badanie fizykalne z oceną stopnia dojrzewania płciowego wg Tanera, pomiary ciśnienia krwi, masy i wysokości ciała z określeniem wskaźnika BMI. Następnie u chorych wykonano rutynowe badania

biochemiczne, immunologiczne i hormonalne zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego, z których w dalszej części pracy analizie poddano wartości lipidogramu i HbA1c. U każdego pacjenta podłączono system ciągłego pomiaru glikemii (CGM) przy pomocy sensorów oraz wykonano test obciążenia standaryzowanym posiłkiem (Nutradrink). U każdego pacjenta pobierano krew na czczo oraz w 1, 2 i 4 godzinie po posiłku celem oznaczenia wybranych parametrów stanu zapalnego: hsCRP, IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α, TNFRI, sRAGE. Autorka słusznie przyjęła, że warunkiem rozpoczęcia badań było stężenie glukozy na czczo mieszczące się w zakresie okołomormoglikemii oraz brak hipoglikemii w godzinach nocnych. Oznaczenia markerów zostały wykonane w Laboratorium Centralnym Samodzielnego Szpitala Klinicznego Nr 1 we Wrocławiu oraz w Laboratorium Katedry i Kliniki Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego UM we Wrocławiu. Przedstawiając test obciążenia standardowym posiłkiem Autorka nie wyjaśnia dokładnie, czy dawka insuliny u dzieci stosujących Peny była taka sama w przeliczeniu na kcal posiłku, jak u dzieci leczonych OPI i różniła się tylko rozkładem dawki, czy dzieci stosujące OPI otrzymały większą dawkę – dodatkowo na WBT w postaci bolusa przedłużonego. Nie podano również czasu, jaki minął pomiędzy podaniem insuliny a spożyciem Nutradrinka. Wyniki badań zostały poddane analizie statystycznej.

Rozdział poświęcony wynikom Autorka rozpoczyna od porównania HbA1c, BMI, lipidogramu, markerów stanu zapalnego pomiędzy grupą badaną dzieci z cukrzycą typu 1 a grupą kontrolną. Biorąc pod uwagę znaczną rozpiętość wieku dzieci w obu grupach badanych wskazane byłoby przestawienie BMI jako wartości standaryzowanej (np. BMI-SDS lub centyle). Szczególnie ma to znaczenia przy analizie podgrup różniących się istotnie statystycznie wiekiem (rozdział 6.3.1.3-5). Wyniki badanych parametrów przedstawione są jako średnie oraz odchylenia standardowe (SD). Wyniki niektórych z nich np. hsCPR, wskazują, że rozkład wyników był prawdopodobnie różny od normalnego i w tych sytuacjach wyniki powinny być raczej przedstawione jako mediana oraz kwartyle, które Autorka obliczała. Doktorantka wykazała, że dzieci z cukrzycą charakteryzowały się wyższymi wartościami sRAGE zarówno przed, jak i po posiłku oraz wyższymi wskaźnikami IL-10 w 2 i 4 godzinie po posiłku w stosunku do grupy dzieci zdrowych.

Następnie Doktorantka przeprowadziła analizę podgrup z uwzględnieniem wartości HbA1c, dzieląc grupę wg wartości HbA1c < 8% (podgrupa 1) i > 8%. (podgrupa 2). Autorka nie wyjaśnia, dlaczego przyjęła ten próg wartości HbA1c. Biorąc pod uwagę, że nie wykazano różnic pomiędzy wydzielonymi podgrupami w zakresie markerów zapalnego (poza

IL-1β w 4 godzinie przy SD wyższym od wartości średnich), może warto przeprowadzić analizę stosując jako próg odcięcia wartości HbA1c określające dobre wyrównanie metaboliczne cukrzycy (np. < 6,5 wg PTD, czy < 7,5% wg ISPAD).

W rozdziale 6.3.3 Doktorantka szczegółowo przeanalizowała zmiany wartości poszczególnych markerów zapalnych po posiłku. Wykazała obniżenie sRAGE, TBFR1, wzrost IL-6 oraz okresowy spadek TNFα , IL-1β, IL-10 po spożytym posiłku. Biorąc pod uwagę rozkład wyników, przejrzystsze byłoby przedstawienie ich na rycinach jako mediany z kwartylami niż wartości średnie z SD.

Autorka wykazała istotny związek wartości sRAGE oraz IL-1β z wartościami glikemii poposiłkowymi.

W przeprowadzonej analizie Doktorantka nie odnotowała zależności pomiędzy wartościami HbA1c oraz glikemiami nocnymi a stężeniami markerów zapalnych oznaczonych na czczo - 0′, co jest bardzo istotnym spostrzeżeniem.

W pracy brakuje mi analizy porównującej wyniki uzyskane w grupie stosującej „Peny" i OPI. Miałoby to szczególne znaczenie, biorąc pod uwagę, że obie grupy różniły się otrzymanymi dawkami insuliny przed posiłkiem standaryzowanym (wielkość dawki i rozkład dawki insuliny).

W dyskusji Doktorantka szeroko omówiła wyniki badań własnych odnosząc się do wyników uzyskanych przez innych badaczy. Analiza jest przeprowadzona szczegółowo. Autorka starała się wyjaśnić uzyskane wyniki, wykazując się umiejętnością precyzowania spostrzeżeń i wniosków wynikających z przeprowadzonych badań.

Kandydatka kończy pracę formułując 5 spostrzeżeń oraz 3 wnioski wynikające z przeprowadzonych badan. Najważniejszym wnioskiem wyciągniętym z pracy doktorskiej jest udowodnienie istotnego wpływu hiperglikemii poposiłkowej, szczególnie w 1 godzinie po posiłku, na indukowanie stanu zapalnego. Na wyciągnięcie tego wniosku bardzo istotny wpływ miało wykazanie braku wpływu wartości glikemii nocnych na wartości markerów zapalnych na czczo.

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki mają bardzo istotny aspekt kliniczny. Wiedza o zmianach stężeń markerów może mieć znaczenie przy opracowywaniu wytycznych dotyczących czasu podawania insuliny przed posiłkiem, aby zapobiec tak znacznym wzrostom glikemii prowadzących do wzrostu stężenia markerów zapalnych zwłaszcza

sRAGE, którym to wynikiem tak istotnie różniła się grupa dzieci z cukrzycą od dzieci zdrowych.

W opracowaniu Autorka popełniła kilka drobnych błędów redakcyjnych i stylistycznych.. Przedstawiając wyniki na bardzo estetycznie wykonanych rycinach Doktorantce umykają w opisie osi rzędnych jednostki, w jakich oznaczono stężenia poszczególnych parametrów. Na rycinie warto 15 warto zmienić opis z „glukoza" na „stężenie glukozy". W tekście Doktoranta posługuje się oznaczeniem „r" jako oznaczeniem współczynnika korelacji, natomiast brak tego oznaczenia w tabelach. Dla przejrzystości prezentowania wyników wskazane byłoby posługiwanie się przez Autorkę ujednoliconą formą przedstawiania wskaźnika istotności statystycznej wartości *p* – stosując zawszę tę samą liczbę miejsc po przecinku.

Zaprezentowana przez Doktorantkę profesjonalna znajomość warsztatu badawczego, rzetelność, wnikliwość w opracowaniu materiału, oraz swoboda argumentacji naukowej świadczą o umiejętności samodzielnego rozwiązywania problemów naukowych. Przeprowadzone badania były bardzo praco- i czasochłonne. Badane grupy są liczne. Drobne uwagi krytyczne, w niczym nie wpływają na bardzo dobrą ocenę rozprawy.

W mojej opinii jako recenzenta, omawiana praca spełnia warunki wynikające z odpowiednich przepisów dotyczących wymagań stawianych rozprawom doktorskim. Na tej podstawie mam przyjemność przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o przyjęcie rozprawy lekarz medycyny Julity Nocoń-Bohusz p.t. „Ocena stężenia markerów stanu zapalnego w okresie poposiłkowym u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1" i dopuszczenie Kandydatki do kolejnych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy, która wnosi istotny wkład w poznanie udziału hiperglikemii poposiłkowej w rozwoju powikłań cukrzycy.

dr hab. n. med.
Agnieszka Szadkowska
SPECJALISTA PEDIATRA
SPECJALISTA DIABETOLOG
6004915 tel. kom. 607 145 844

Klinika Pediatrii, Onkologii,
Hematologii i Diabetologii
I Katedry Pediatrii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
91-738 Łódź, ul. Sporna 36/50
tel. 42 61 77 791, fax 42 61 77 798