

prof. dr hab. n. med. Małgorzata Myśliwiec
Katedra i Klinika Pediatrii, Diabetologii i Endokrynologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Dębinki 7
80-952 Gdańsk
tel. 058 349 28 98, 602 661 590

Gdańsk, dnia 20.02. 2015 r.

Recenzja

pracy na stopień doktora nauk medycznych

lek. med. Julity Nocoń-Bohusz

p.t. „Ocena stężenia markerów stanu zapalnego w okresie poposiłkowym u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1”

Przedstawiona mi do oceny praca obejmuje: 161 stron tekstu, 298 pozycji cytowanego piśmiennictwa.

Układ pracy jest klasyczny i obejmuje: Wstęp (str. 10-38), Założenia i cele pracy (str. 39), Materiały i metody badań (str. 40-46), Wyniki (str. 47-98), Dyskusję (str. 99-120), Podsumowanie (str. 121-123), Spostrzeżenia (str. 124), Wnioski (str. 125). W pracy zawarto również: Spis treści, Spis rycin, wykresów i tabel, Indeks skrótów oraz Streszczenie w języku polskim i angielskim.

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

Cel pracy był realizowany w oparciu o określenie stężeń wybranych markerów procesu miażdżycowego (hsCRP, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TNFR1, sRAGE) i parametrów gospodarki lipidowej (TCH, LDL, HDL, TGA) u dzieci z cukrzycą typu 1 oraz porównanie wyników tych badań z wynikami badań dzieci zdrowych grupy kontrolnej.

Oryginalną częścią postawionego celu pracy była ocena wpływu glikemii nocnej, uzyskanej metodą CGM oraz glikemii porannej na stężenie markerów procesu miażdżycowego u pacjentów z cukrzycą typu 1.

Obszerny wstęp prezentuje współczesną wiedzę na temat klasyfikacji, epidemiologii etiopatogenezy i leczenia cukrzycy. **Doktorantka we wstępie w sposób szczególnie wnikliwy przedstawiła dotychczasową wiedzę na temat zaburzeń mechanizmów immunologicznych w rozwoju cukrzycy typu 1 opierając się na starannie dobranym piśmiennictwie.**

Lek. med. Julita Nocoń-Bohusz słusznie podkreśliła we wstępie pracy, że zaburzenia równowagi pomiędzy subpopulacjami limfocytów pomocniczych Th1 i Th2 na korzyść Th1, produkujących cytokiny prozapalne odgrywają kluczową rolę w procesie autoimmunologicznej reakcji skierowanej przeciwko komórkom β trzustki. Szczegółowo opisała na podstawie aktualnego piśmiennictwa poszczególne markery stanu zapalnego: białko C-reaktywne, TNF- α , TNFRI, IL-1 β , IL-6, IL-10 oraz produkty glikacji białek.

Doktorantka słusznie podkreśliła, że najczęstszą przyczyną zgonów u chorych na cukrzycę są powikłania przewlekłe, a szczególnie zmiany o charakterze makroangiopatii, a głównym czynnikiem patogennym w rozwoju powikłań naczyniowych jest hiperglikemia, która poprzez mechanizmy metaboliczne oraz hemodynamiczne uszkadza śródbłonek naczyń. W ostatnich latach szczególne znaczenie przypisuje się hiperglikemii poposiłkowej, która może mieć znacznie większe znaczenie w rozwoju powikłań naczyniowych niż nieprawidłowy poziom glikemii na czczo, szczególnie w pierwszych latach choroby, niezależnie od normalizacji glikemii w kolejnych latach jej trwania. Doktorantka słusznie tłumaczy to zjawisko istnieniem tzw. „pamięci metabolicznej”, w której po nawet krótkim okresie hiperglikemii, szczególnie poposiłkowej, dochodzi do zmian ekspresji genów/białek decydujących o powstaniu odległych powikłań naczyniowych. **Pragnę podkreślić, że zgodnie z tą teorią „pamięci immunologicznej” nieprawidłowe wartości glikemii przed rozpoznaniem cukrzycy oraz w pierwszych latach jej trwania, są przyczyną trwałych uszkodzeń w komórkach, szczególnie w mitochondriach, które nie ustępują pomimo prawidłowej kontroli metabolicznej cukrzycy w kolejnych latach jej trwania, z tego powodu podjęte przez lek. med. Julitę Nocoń-Bohusz badania mające na celu określenie, w jakim stopniu stan wyrównania metabolicznego oraz wartości glikemii poposiłkowej wpływają na stężenie markerów procesu miażdżycowego u dzieci z cukrzycą typu 1 w okresie poposiłkowym są w pełni uzasadnione.**

Badaniami objęto 71 pacjentów (35 dziewcząt oraz 36 chłopców) w wieku od 7 do 17 lat leczonych w Poradni i Klinice Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2010-2012. Dzieci chore na cukrzycę typu 1 były leczone metodą intensywnej insulinoterapii za pomocą osobistej pompy insulinowej lub wielokrotnych wstrzyknięć insuliny wstrzykiwaczami –penami.

Grupę kontrolną stanowiło 20 dzieci (9 dziewcząt i 11 chłopców) w wieku od 6,5 lat do 16 lat, u których nie stwierdzono zaburzeń gospodarki węglowodanowej, oraz innych chorób przewlekłych i infekcyjnych. Na wykonanie projektu badawczego uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu.

Rodzaj i ilość wykonanych analiz badawczych była imponująca.

U dzieci dokonano:

1. badania fizykalnego z oceną stopnia dojrzewania płciowego wg Tanera, pomiarów ciśnienia krwi, masy i wysokości ciała z określeniem wskaźnika BMI,
2. analizy badań biochemicznych oceniających wyrównanie metaboliczne cukrzycy (HbA1c), funkcję wątroby, stan gospodarki lipidowej, albuminurię, glikemię na czczo, stężenie TSH, fT4, fT3 oraz przeciwciał przeciw peroksydazie tarczycowej, przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgA i IgG

Istotną wartością pracy było pobranie krwi u każdego pacjenta na czczo w 0' w 1, 2 oraz 4 godzinie po posiłku standardowego (Nutridrink) celem oznaczenia: hsCRP, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , TNFR1, sRAGE. Warunkiem rozpoczęcia badań było stężenie glukozy na czczo mieszczące się w zakresie 80-120 mg% oraz brak hipoglikemii w godzinach nocnych. Badania 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.

Dodatkową wartością pracy było wykonanie u pacjentów badania poziomów glukozy metodą ciągłego monitorowania CGMS przy użyciu elektrody współpracującej z aparatem „Guardian” lub odpowiednim modelem osobistej pompy insulinowej firmy Medtronic.

Zaprogramowane w ten sposób założenia pracy lek. med. Julity Nocoń-Bohusz wniosły szereg istotnych spostrzeżeń, ważnych przede wszystkim z punktu widzenia klinicznego.

Spośród licznych uzyskanych wyników badań na uwagę zasługuje spostrzeżenie Doktorantki dotyczące wzrostu stężenia glukozy oraz IL-6 oznaczone pomiędzy badaniem na czczo – 0 a 1 godziną po posiłku, natomiast obniżenia stężenia pozostałych markerów stanu zapalnego oraz braku istnienia zależności pomiędzy stężeniem IL-6 a stężeniem HbA1c u pacjentów z cukrzycą typu 1. Analizując wyniki badań można przypuszczać, że największy wpływ na stężenie IL-6 ma poposiłkowa różnica stężeń glikemii, a nie wyrównanie metaboliczne choroby, mierzone stężeniem HbA1c. Podobnie Doktorantka nie wykazała korelacji pomiędzy stężeniem TNF- α a stopniem wyrównania metabolicznego cukrzycy, natomiast interesujący jest wykazany fakt wyższego stężenia receptora TNFR1 u dzieci z

cukrzycą w badaniu na czczo-0' jak również w 1. 2 i 4 godzinie po posiłku bez względu na stopień wyrównania metabolicznego w porównaniu do wyników badań grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki badań potwierdzają udział TNFRI w patomechanizmie powikłań naczyniowych w przebiegu cukrzycy typu 1. **Ponadto wykazany wzrost stężenia TNFRI być może w przyszłości będzie można uznać za czuły marker rokowniczy rozwoju powikłań naczyniowych u chorych na cukrzycę typu 1.** Słusznie Doktorantka podkreśla, że istnieje potrzeba kolejnych badań nad rolą TNFRI w patogenezie powikłań naczyniowych z uwagi na jeszcze nieliczne doniesienia dotyczące stężeń tego receptora u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1.

Oryginalną częścią niniejszej rozprawy doktorskiej było obok wzrostu stężenia IL-6, sRAGE oraz TNFRI pomiędzy badaniem na czczo - 0' a 1 godziną po posiłku stwierdzenie jednocześnie spadku stężenia pozostałych badanych markerów stanu zapalnego, w tym TNF- α , IL-10 oraz IL-1 β . Doktorantka w ten sposób dowiodła, że hiperglikemia inicjuje w pierwszej godzinie po posiłku zmiany zapalne, które są podtrzymywane w kolejnych godzinach poposiłkowych. **Na podstawie uzyskanych wyników badań lek. med. Julita Nocoń-Bohusz wysunęła bardzo cenny wniosek, że glikemia poposiłkowa oraz zmienność stężeń glukozy w okresie poposiłkowym mogą decydować o tworzeniu „pamięci metabolicznej” oraz przyczyniać się do rozwoju późnych powikłań naczyniowych u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1.** Wniosek ten ma ogromny wymiar praktyczny dla lekarza klinicysty i samych pacjentów, bowiem wskazuje, że bez względu na późniejsze dobre wyrównanie metaboliczne cukrzycy, nawet krótkotrwałe epizody hiperglikemii we wczesnej fazie choroby mogą przyczyniać się do rozwoju powikłań naczyniowych w przebiegu cukrzycy typu 1.

Interesującą częścią rozprawy doktorskiej było przedstawienie przez Doktorantkę cennych informacji o zmienności glikemii w okresie poposiłkowym poprzez zastosowanie u pacjentów metody ciągłego monitorowania glikemii CGMS. W przeprowadzonych badaniach wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy medianą stężeń glukozy w II połowie nocy, a stężeniami glukozy oznaczonymi na czczo w dniu badania. **Ciekawym spostrzeżeniem było zarejestrowanie za pośrednictwem CGMS nocnych glikemii, które nie miały wpływu na stężenie markerów zapalenia, oznaczonych na czczo - 0'.**

Spośród licznych uzyskanych przez Doktorantkę wyników przeprowadzonych badań na uwagę zasługują następujące istotne spostrzeżenia.

1. Parametry gospodarki lipidowej korelowały z wyrównaniem metabolicznym cukrzycy, czasem trwania choroby oraz wskaźnikiem BMI.

2. Stężenie markerów stanu zapalnego u dzieci z cukrzycą typu 1 nie były zależne od wyrównania metabolicznego ani z czasem trwania choroby.
3. Hiperglikemia poposiłkowa jest istotnym czynnikiem pogłębiającym stan zapalny, którego efektem był wzrost stężeń IL-6 oraz spadek sRAGE, TNFRI, TNF- α , IL-10 i IL-1 β .

Końcowe wnioski oceniającego:

1. Praca stanowi prawidłowo napisaną publikację, w której przedstawiono ocenę stężenia markerów stanu zapalnego w okresie poposiłkowym u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1
2. Wyniki z niniejszego badania pozwoliły na wstępne przedstawienie wniosku wskazującego, że u dzieci z cukrzycą typu 1, hiperglikemia, a także zmienność stężeń glukozy w pierwszej godzinie po posiłku mają istotny wpływ na indukowanie przewlekłego stanu zapalnego toczącego się w śródbłonku naczyń.
3. Prezentacja wyników badań własnych, w tym tabele i ryciny stanowią wzorowo przygotowaną dokumentację naukowo-badawczą.
4. Wstęp do pracy i prawidłowo przeprowadzona dyskusja świadczą o dużej wiedzy Doktorantki w zakresie zaburzeń mechanizmów immunologicznych przebiegu cukrzycy typu 1 oraz umiejętności precyzowania spostrzeżeń i wniosków wynikających z przeprowadzonych badań.

Nie mam uwag krytycznych, pragnę tylko zachęcić lek. med. Julitę Nocoń-Bohusz do dalszych badań na znacznie szerszej grupie pacjentów z cukrzycą typu 1. Tak jak Doktorantka sama zauważyła, że istotnym ograniczeniem pracy była mała liczebność badanych grup, a szczególnie utworzonych podgrup. Dlatego obecne uzyskane wyniki badań należy uznać za wstępne, wymagające weryfikacji na większej populacji dzieci.

Ogólna ocena pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. med. Julity Nocoń-Bohusz jest wysoce pozytywna, spełnia ona wszelkie warunki określone przez aktualną Ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych i wnioskuję o dopuszczenie przez Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu lek. med. Julity Nocoń-Bohusz do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz równocześnie **wnioskuję o wyróżnienie pracy „Ocena stężenia markerów stanu**

zapalnego w okresie poposiłkowym u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1”, ponieważ stanowi ona cenny wkład poznawczy i kliniczny w dziedzinie diabetologii.

Wykazane przez Doktorantkę w czasie realizacji pracy doktorskiej prawidłowe myślenie, wysoce profesjonalne wykorzystanie dostępnych badań biochemicznych i immunologicznych dla rozwiązywania postawionych sobie zadań badawczych, oraz poprawność merytoryczna i rzetelność ich wykonania, uzasadniają wniosek o wyróżnienie w/w pracy.

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

[Signature]

prof. dr hab. n. med. Małgorzata Myśliwiec