

Prof. dr hab. med. Urszula Demkow

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja pracy doktorskiej

Mgr Agnieszki Małgorzaty Ochocińskiej pt: "Poszukiwanie potencjalnych biomarkerów przebiegu cukrzycy typu I u dzieci"

Podstawą oceny był zbiór artykułów stanowiących rozprawę doktorską, złożony z 3 publikacji. Wszystkie publikacje są pracami o autorstwie zespołowym. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem. Dwie prace opublikowane są w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, trzecia w czasopiśmie o zasięgu krajowym. Łączny IF cyklu prac wynosi 11,671.

Praca doktorska dotyczy bardzo aktualnego i ważnego problemu współczesnego społeczeństwa jakim jest cukrzyca typu I u dzieci. Gwałtowny wzrost wskaźnika zapadalności na cukrzycę typu I w populacji dziecięcej, najwyraźniej zaznaczony w grupie dzieci młodszych, stanowi powszechną tendencję. Pomimo ogromnego postępu wiedzy w ostatnich dekadach cukrzyca typu I u dzieci wciąż pozostaje chorobą o nie do końca wyjaśnionej etiologii. Obecnie ogólnie przyjęto pogląd, że cukrzyca rozwija się u osób predysponowanych genetycznie z udziałem niezidentyfikowanych czynników środowiskowych. Nieznane mechanizmy uruchamiają procesy niszczące komórki beta. Wśród czynników środowiskowych mogących wpływać na zwiększenie liczby zachorowań na cukrzycę typu I wymienia się nadwagę, która w okresie pokwitania, kiedy występuje tzw. fizjologiczna insulinooporność dodatkowo jeszcze zmniejsza wrażliwość tkanek na działanie insuliny, co prowadzi do ujawnienia się nietolerancji węglowodanów, a następnie cukrzycy. Wydaje się jednak, że tych czynników środowiskowych prowadzących do zwiększenia liczby zachorowań na cukrzycę typu I może być wiele. W pracy doktorantka poszukiwała nowych potencjalnych wczesnych biomarkerów przydatnych do rozpoznania, oceny aktywności choroby i wystąpienia powikłań cukrzycy typu I u dzieci. Wybrany temat ma istotne implikacje merytoryczne i praktyczne.

Badania prowadzono w Zakładzie Biochemii Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie. Cele pracy są

jasne. Badane czynniki, pomimo znanego udziału w patogenezie różnych zaburzeń, nie zostały dotąd zaakceptowane jako przydatne markery diagnostyczne. Doktorantka zaproponowała przebadanie następujących markerów: amyliny, proamyliny, katastatyny, chromograniny A czynnika wzrostu nerwów, jelitowego białka wiążącego kwasy tłuszczowe, czynnika aktywującego płytki i uromoduliny. Czynniki te nie były wybrane przypadkowo, lecz na podstawie danych z piśmiennictwa wskazujących na ich możliwe powiązania z patogenezą cukrzycy i rozwojem jej powikłań. Badano dzieci chore na cukrzycę typu I hospitalizowane w Klinice Endokrynologii i Diabetologii CZD, bez współistniejących chorób o charakterze zapalnym i bez niedokrwistości, oraz zdrowe dzieci stanowiące grupę kontrolną. Wszystkie badane markery oznaczono metodą immunoenzymatyczną. Badania biochemiczne wykonano za pomocą analizatora Alinity.

W pierwszej publikacji włączonej do cyklu prac pt: „Could I-FABP be an early marker of celiac disease in children with type I Diabetes? Restrospective study from the tertiary reference center” doktorantka oceniła stężenia wybranych markerów zapalenia w surowicy. Zbadano materiał pochodzący od 156 chorych na T1D, 51 chorych równocześnie na cukrzycę i celiakię i 38 chorych na celiakię bez cukrzycy. W tym zbadano 22 chorych na cukrzycę z ujemnymi markerami serologicznymi celiakii w chwili rozpoznania, u których celiakia rozwinęła się w przyszłości. Nie jest jasne czy dzieci chore na celiakię w momencie pobrania krwi do badania były na diecie bezglutenowej, były wyodrębnione podgrupy dzieci chorych na celiakię pozostających na diecie oraz niestosujące diety. Grupę kontrolną stanowiło 55 zdrowych dzieci w odpowiednim wieku. Wykazano, że stężenia badanego markera uszkodzenia nabłonka jelita były znacząco wyższe w grupie dzieci chorych na chorobę autoimmunizacyjną w porównaniu do dzieci zdrowych. Nie stwierdzono różnic pomiędzy podgrupami chorych dzieci. Stężenie markera ulegało obniżeniu do poziomu podobnego jak u zdrowych oraz u dzieci chorych na celiakię po wprowadzeniu diety bezglutenowej. Nie zaobserwowano różnicy w stężeniu markera u chorych na cukrzycę, u których w ciągu roku rozwinęły się objawy celiakii. Wysoki poziom markera świadczącego o wysokiej przepuszczalności jelita autorka wiąże z wczesnym uszkodzeniem jelita w przebiegu cukrzycy, co prawdopodobnie stanowi czynnik ryzyka rozwoju celiakii u tych dzieci. W dyskusji Doktorantka słusznie podkreśliła konieczność monitorowania dzieci chorych na cukrzycę typu I w kierunku wczesnego wykrycia celiakii oraz korzyści z wczesnego wprowadzenia diety bezglutenowej. Warto byłoby pewnie się pokusić o ocenę kontroli cukrzycy u dzieci pozostających na diecie bezglutenowej w porównaniu to pacjentów nie stosujących odpowiedniej diety aby opracować ewentualne rekomendacje kiedy i u jakich chorych na cukrzycę powinna być zalecana dieta bezglutenowa i czy takie postępowanie wpłynie na uszczelnienie bariery jelitowej z korzystnymi konsekwencjami dla zdrowia. Autorka bardzo słusznie dyskutuje ograniczenia pracy, głównie związane z niewielką liczbą chorych włączonych do badania co mogło być przyczyną braku znamienych różnic pomiędzy badanymi podgrupami.

W kolejnej publikacji o charakterze oryginalnym pt: „Selected serum markers associated with pathogenesis and clinical course of type I diabetes in pediatric patients – the effect of disease duration” przebadano materiał pochodzący od tej samej grupy dzieci chorych na cukrzycę typu I oraz dzieci zdrowych. Chorych na cukrzycę podzielono na 2 podgrupy – ze świeżo rozpoznaną cukrzycą oraz z cukrzycą trwającą ponad 3 lata i dłużej. W badanej grupie wyodrębniono 33 chorych na celiakię z aktywną postacią choroby oraz 16 chorych z postacią nieaktywną. Do grupy kontrolnej włączono 31 zdrowych ochotników. W pracy autorka wykazała, że badane podgrupy (w zależności od czasu trwania cukrzycy) istotnie różnią się w zakresie parametrów biochemicznych. Stężenie HbA1C było najwyższe w grupie chorych ze świeżo rozpoznaną cukrzycą i ulegało stopniowemu obniżeniu wraz z czasem trwania choroby. Generalnie większość badanych nowych markerów była wyższa w grupie chorych na cukrzycę niż w grupie zdrowych. Wraz z czasem trwania choroby stężenia niektórych biomarkerów rosły inne malały lub nie zmieniały się. Dyskusja była podsumowaniem wyników w świetle doniesień innych autorów. W dyskusji brakuje krytycznej analizy obserwowanej kinetyki stężeń badanych biomarkerów, zwłaszcza w odniesieniu do ich potencjalnej roli w patogenezie cukrzycy, celiakii i ich powikłań. Na podstawie wyników pracy trudno jest wskazać biomarker, który mógłby kandydować do roli przydatnego klinicznie parametru. Autorka słusznie podkreśla ograniczenia pracy, na przykład krótki czas obserwacji oraz ograniczenia wiedzy na temat biologicznej roli badanych markerów, i słusznie wskazuje na konieczność kontynuowania badań, które mogłyby wskazać marker/markery przydatne do monitorowania przebiegu choroby.

Ostatnia z cyklu prac pt: „Autoantibodies against islet cell antigens. Current diagnostic possibilities” Jest praca poglądowa przedstawiająca aktualną, nowoczesną wiedzę o roli autoprzeciwciał i ich użyteczności w praktyce klinicznej oraz perspektywy w prognozowaniu i diagnozowaniu cukrzycy.

Pracę kończy 3 wnioski, które są logicznie sformułowane i odzwierciedlają wyniki pracy. Doktorantka sugeruje, że warto poszukiwać przydatnych klinicznie markerów i ich kombinacji jako nowych markerów diagnostycznych lub służących do monitorowania aktywności choroby i prognozowania powikłań. Autorka wskazuje na potencjalną przydatność diagnostyczną takich parametrów. Słusznie zauważa, że niezbędna będzie standaryzacja oznaczeń i wypracowanie wartości referencyjnych.

W podsumowaniu recenzji chciałabym podkreślić znaczenie przedstawianych w pracy zagadnień. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej, celiakia i ich konsekwencje są plagą współczesnej cywilizacji. Wartościowe jest podkreślenie zależności pomiędzy tymi chorobami, które wzajemnie są dla siebie czynnikami ryzyka. Bardzo wartościowe jest również zwrócenie uwagi na fakt, że klinicytom brakuje dokładnych, czułych i swoistych markerów ułatwiających prognozowanie, monitorowanie i modyfikację postępowania z chorym. Prace prowadzone

przez Autorkę próbują odpowiedzieć na te potrzeby. Istotnym ograniczeniem pracy, czego Doktorantka jest w pełni świadoma, jest mała liczebność badanych grup. Jest to powszechna bolączka prac naukowych prowadzonych w Polsce. Brakuje nam dużych, wielośrodkowych badań, których wyniki miałyby istotną moc.

W posumowaniu oceny pracy mgr Agnieszki Małgorzaty Ochocińskiej pragnę podkreślić, iż praca stanowi oryginalny dorobek naukowy Doktorantki. Jest dowodem jej pracowitości, umiejętności planowania i realizowania badań naukowych. Świadczy o zdolności do samodzielnego rozwiązywania postawionych sobie celów badawczych, o umiejętności krytycznej interpretacji wyników badań na tle właściwie wykorzystanego piśmiennictwa naukowego oraz logicznego wnioskowania. Przedstawiona do oceny praca doktorska niewątpliwie zachęca do stawiania dalszych pytań dotyczących opisywanego zagadnienia a wyniki pracy warte są szerokiego rozpowszechnienia w środowisku lekarskim.

Stwierdzam, że praca mgr Agnieszki Małgorzaty Ochocińskiej pt: "Poszukiwanie potencjalnych biomarkerów przebiegu cukrzycy typu I u dzieci" odpowiada kryteriom stawianym rozprawom na stopień doktora nauk medycznych.

Przedstawiam zatem Radzie Naukowej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie wniosek o dopuszczenie mgr Agnieszki Małgorzaty Ochocińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab n. med. Urszula Demkow

