

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Małgorzaty Ochocińskiej pt:
POSZUKIWANIE POTENCJALNYCH BIOMARKERÓW PRZEBIEGU
CUKRZYCY TYPU 1 U DZIECI.**

Rozprawa oparta jest o trzy opublikowane artykuły, jeden o charakterze pogładowym, przedstawiający aktualne możliwości diagnostyczne rozpoznania cukrzycy typu 1, który wprowadza w zasadniczy temat rozprawy i dwa artykuły oryginalne opublikowane w czasopiśmie o łącznym IF=11,670 i punktacji MEiN 320 pkt. We wszystkich trzech artykułach doktorantka jest pierwszym autorem oraz, co bardzo istotne, autorem do korespondencji. Badania zostały wykonane w ramach zadania służącego rozwojowi młodych naukowców. Wszystkie trzy artykuły stanowiące rozprawę doktorską są powiązane tematycznie a indywidualny wkład Doktorantki, zgodnie z oświadczeniami współautorów, wynosi odpowiednio 90, 50 i 70% co jest w pełni wystarczające aby uznać, iż mgr Anna Ochocińska wykazała umiejętność prowadzenia badań naukowych.

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej opartej o recenzowane i już wcześniej opublikowane artykuły stanowi pewnego rodzaju wyzwanie dla kolejnego recenzenta. Przedstawiona do oceny rozprawa liczy 71 stron, zawiera kopię zgody Komisji Bioetycznej, oświadczenia współautorów i ma układ w miarę typowy. Zwykle bowiem streszczenia i kopie opublikowanych artykułów umieszcza się na końcu pracy po rozdziale piśmiennictwo. W niniejszej rozprawie piśmiennictwo obejmuje 92 pozycje, polskie i anglojęzyczne, w tym 28 (30%) z ostatnich 5-ciu lat, właściwie dobrane do treści pracy.

Głównym celem rozprawy doktorskiej było poszukiwanie potencjalnych wczesnych biomarkerów zaburzeń metabolizmu w cukrzycy typu 1 (T1D) u dzieci. Podjęta przez Doktorantkę tematyka badań jest bardzo ważna gdyż cukrzyca typu 1go jest najczęściej występującą chorobą przewlekłą w populacji dzieci, a nieprawidłowa regulacja metabolizmu glukozy jest przyczyną wielu powikłań narządowych, także obejmujących metabolizm tkanki kostnej.

Jak podaje Doktorantka aktualnie nie ma możliwości „diagnozowania wczesnych stadiów rozwoju późnych powikłań T1D poprzedzających pojawienie się trwałych zmian widocznych w badaniach obrazowych i badaniu klinicznym”. Badania w tym kierunku mają istotne znaczenie w szczególności biorąc pod uwagę fakt, że rozpoznanie choroby w oparciu o oznaczanie przeciwciał nie zawsze jest możliwe gdyż opisano występowanie grupy

pacjentów seronegatywnych w chwili rozpoznania cukrzycy. Taka sytuacja występuje również w przypadku rozpoznania innych chorób na podłożu z autoimmunizacji, jak chociażby reumatoidalnego zapalenia stawów.

Z definicji, biomarkery dostarczają informacji na temat procesów fizjologicznych czy patologicznych zachodzących w organizmie. Jednakże aby zastosowanie nowych biomarkerów mogło przyczynić się do poprawy diagnostyki i jakości opieki nad pacjentami, a w tym celu mogło być skomercjonalizowane, muszą one być dokładnie przebadane i cechować się wiarygodnością diagnostyczną. Pierwsza praca oryginalna dotycząca I-FABP, opublikowana w czasopiśmie *Nutrients* jest doskonałym przykładem takich badań. Wykazano w niej, w oparciu o właściwie zastosowane metody statystyczne, to jest analizę ROC, iż jelitowe białko wiążące kwasy tłuszczowe, mimo istotnie wyższego stężenia u pacjentów z cukrzycą typu 1-go i pacjentów z T1D ze współistniejącą celiakią w porównaniu do dzieci zdrowych, nie ma wartości diagnostycznej umożliwiającej różnicowanie tych grup pacjentów [AUC=0.557(0.485-0.628)]. Podobnie jest w przypadku sercowego białka wiążącego kwasy tłuszczowe H-FABP, które od wielu lat uważa się za potencjalny wczesny biomarker uszkodzenia mięśnia sercowego, nagłej zastoinowej niewydolności serca i zatorowości płucnej a mimo to nie jest on na tyle wiarygodnym markerem aby znalazł zastosowanie w rutynowej diagnostyce ostrych zespołów wieńcowych.

Celem drugiej pracy oryginalnej opublikowanej w *J Clin Med* była ocena stężenia ośmiu wybranych „substancji” obecnych we krwi związanych z procesem patogenezy i przebiegiem cukrzycy typu 1 oraz ustalenie zależności między ich stężeniem a czasem trwania choroby. Wybór oznaczanych w tym celu analitów został dobrze umotywowany we wstępie pracy. Większość wybranych do oceny analitów to białka lub polipeptydy, jedynym wyjątkiem jest czynnik aktywujący płytki PAF, który jest fosfolipidem. Nie doszukałam się jednak w tekście rozprawy uzasadnienia dla określania tych analitów jako „substancje czynne” zamiast np. biologicznie aktywne.

Wykazanie związku pomiędzy niektórymi ocenianymi markerami a patomechanizmem cukrzycy typu 1 oraz powiązanie biomarkerów takich jak : katestatyna, chromogranina A, czynnik aktywujący płytki i czynnik wzrostu nerwów z czasem trwania choroby stanowi o niezaprzeczalnej wartości tej pracy, którą należy podkreślić.

W artykułach oryginalnych ważne jest podanie ograniczeń i zalet przeprowadzonych badań. W omawianej pracy istotnym ograniczeniem jest, jak słusznie podaje Doktorantka, mała

liczebność grupy kontrolnej zdrowych dzieci. Natomiast zaletą jest długi, kilkuletni okres obserwacji pacjentów, który zgodnie z planem na przyszłość może jeszcze zostać przedłużony.

W mojej opinii w przedstawionej rozprawie brakuje jednakże chociażby krótkiego odniesienia do aktualnych możliwości wprowadzenia oznaczeń nowych markerów do praktyki laboratoryjnej. W przeciwieństwie bowiem do oznaczeń C-peptydu i autoprzeciwciał charakterystycznych dla cukrzycy typu 1, które są dostępne na analizatorach automatycznych żaden z ocenianych czterech markerów związanych, jak wykazano, z czasem trwania choroby, za wyjątkiem chromograniny A, nie jest możliwy do oznaczenia na analizatorze automatycznym, a zatem nie jest dostępny w laboratoriach.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na nieliczne błędy literowe, które pojawiły się w tekście rozprawy (np., na str. 23 i str. 60) oraz na Tabelę 1 zawartą w drugiej pracy oryginalnej przedstawiającą charakterystykę biochemiczną badanych grup. Stężenia białka C-reaktywnego, z pewnością oznaczane metodą o wysokiej czułości, wyrażone są w jednostkach mg/dL, a powinny być wyrażone w mg/L.

W tej tabeli brak jest też danych dotyczących masy ciała dzieci natomiast moją uwagę zwróciły stosunkowo wysokie mediany stężeń witaminy D (27.9 i 29.5 ng/mL), w szczególności w grupie nowo-zdiagnozowanych pacjentów. Wspominam o tym w kontekście powszechnego niedoboru witaminy D w populacji polskich dzieci i dlatego, iż we wcześniejszych badaniach autorów z Centrum Zdrowia Dziecka, opublikowanych w 2013 roku, stężenie witaminy D poniżej 20 ng/mL obserwowano u 80-85% badanych w wieku 5-19 lat. Ponadto w opublikowanych wcześniej badaniach własnych przeprowadzonych u dzieci szkolnych w wieku 9-11 lat stężenia parametrów profilu lipidowego i CRP były bardzo podobne do podanych w pracy przez Doktorantkę ale mediana stężenia witaminy D była znacznie niższa. Jeżeli może mieć to związek ze stosowaną metodą oznaczenia witaminy D komentarz wyjaśniający byłby bardzo przydatny. Powyższa uwaga nie ma bezpośredniego związku z tematyką pracy a zamieszczam ją ze względu na fakt, iż w literaturze opisano istnienie bezpośrednich zależności między stężeniem witaminy D a sekrecją insuliny z trzustki.

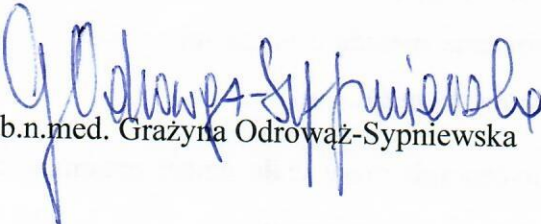
Wracając do oceny rozprawy należy podkreślić, iż bardzo dobrze zredagowane zostały wnioski końcowe pracy i co ważne zawierają one implikacje praktyczne.

Powyżej przedstawione uwagi nie umniejszają wysokiej wartości rozprawy, którą jako całość oceniam bardzo dobrze i zasługującą na wyróżnienie. Wnioski wysunięte w oparciu o

uzyskane wyniki mogą być niezwykle istotne dla praktyki klinicznej wnosząc zupełnie nową jakość tym bardziej, że dotyczą choroby tak często występującej w populacji dzieci.

Reasumując stwierdzam, że mgr Agnieszka Małgorzata Ochocińska postawiła sobie ambitny cel do realizacji, z którego umiejętnie się wywiązała pod każdym względem i przedstawiła do oceny bardzo wartościową pracę spełniającą wszelkie kryteria rozprawy na stopień doktora nauk medycznych. Wnoszę o wyróżnienie ocenianej rozprawy.

Wnoszę zatem do Rady Naukowej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” o dopuszczenie mgr Agnieszki Małgorzaty Ochocińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Prof.dr hab.n.med. Grażyna Odrowąż-Sypniewska

Osielsko, 16 października 2023