

Prof. dr hab. med. Elżbieta Czekwianianc

Łódź 19.11.2020

Ul. Świąteczna 8

91-490 - Łódź

tel. 501 750 855

email: elzbieta.czekwianianc@iczmp.edu.pl

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. Elwiry Kołodziejczyk

Retrospektywna ocena wartości diagnostycznej MRCP w porównaniu do ECPW u dzieci z przewlekłym zapaleniem trzustki

Promotor dr hab. n. med. Grzegorz Oracz, prof. ICZD.

Przedstawiona mi do recenzji dysertacja dotyczy przewlekłego zapalenia trzustki, choroby rzadko występującej u dzieci, ale niezmiernie ważnej, trudnej zarówno pod względem diagnostycznym jak i terapeutycznym. Postępowanie diagnostyczne i terapia niektórych postaci przewlekłego zapalenia trzustki (PZT) u dzieci wymaga użycia wielu nowoczesnych technik i narzędzi. Zapalenie trzustki u dzieci jest coraz częściej rozpoznawaną chorobą, co może wynikać zarówno z rzeczywistego wzrostu zachorowalności, jak też ze zwiększonej rozpoznawalności przez specjalistów z gastroenterologii dziecięcej. Ze względu na znaczne obniżenie jakości życia pacjentów (przewlekły ból, częste zaostrzenia i związane z tym hospitalizacje, absencja w szkole, niedożywienie) i ich rodziców (częste zwolnienia lekarskie, stres), jak też wysokie koszty opieki medycznej dzieci z PZT, jest to choroba o dużym znaczeniu klinicznym, społecznym jak i ekonomicznym.

Nawracające epizody zaostrzeń zapalenia trzustki i PZT u dzieci są traktowane jako ciągły proces prowadzący od pierwszych epizodów ostrego zapalenia trzustki, poprzez kolejne zaostrzenia, do przewlekłego zapalenia trzustki. Istotą PZT jest postępujący stan zapalny ze zwłóknieniem miększu trzustki u osób z genetycznymi, środowiskowymi i / lub innymi

czynnikami ryzyka. Wraz z czasem trwania choroby oraz kolejnymi epizodami zaostrzeń może dojść do upośledzenia funkcji wewnątrz- i zewnątrzwydzielniczej trzustki.

W pracy doktorskiej lekarz Elwira Kołodziejczyk podjęła się oceny i porównania skuteczności 2 technik – typowo diagnostycznej i nieinwazyjnej cholepankreatografii w rezonansie magnetycznym (MRCP) i endoskopowej cholepankreatografii wstecznej (ECPW) uznanej za złoty standard w PZT, która jest metodą inwazyjną i u osób dorosłych jest zalecana wyłącznie dla celów terapeutycznych.

Zebrany ogromny materiał w Klinice Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii IP CZD w Warszawie, z której wywodzi się doktorantka, a mianowicie grupa ponad 400 chorych dzieci z przewlekłym zapaleniem trzustki (największy jednośrodkowy zbiór chorych pediatrycznych w Europie), u których przeprowadzono ponad 200 badań MR/MRCP oraz 700 zabiegów ECPW w pełni uzasadnia wybór tematu tej rozprawy.

Recenzowana rozprawa lekarz Elwiry Kołodziejczyk liczy 97 stron, a łącznie z bibliografią oraz stosownymi spisami 116 stron. Jest to zatem opracowanie odpowiednie co do objętości, w stosunku do wagi poruszanych problemów. W pozytywnej opinii recenzentki o ocenie rozprawy przesądzą przede wszystkim - struktura i zawartość merytoryczna, prowadzony wywód oraz strona formalna poszczególnych rozdziałów. Praca ma typowy układ. W skład 12 rozdziałów wchodzi: streszczenie w języku polskim i angielskim, słowa kluczowe, wstęp, założenia i cel pracy, pacjenci i metody badań, wyniki, dyskusja, po której w kolejnym rozdziale autorka przedstawiła ograniczenia pracy, następnie wnioski, zestawienie tabel i rycin oraz wykaz piśmiennictwa.

Interesujący, zawarty na 33 stronach **wstęp (rozdział 5)** może stanowić kompendium wiedzy o trzustce, przyczynach i przebiegu PZT u dzieci. Z ogromną przyjemnością czyta się rozdział o historii odkrycia narządu, budowy i funkcji, co świadczy o zainteresowaniach i zdolnościach humanistycznych lekarki, tak potrzebnych cechach w dzisiejszym świecie. Autorka przedstawia wystarczająco szczegółowo embriogenezę, budowę anatomiczną i patomorfologiczną oraz funkcję trzustki, przechodząc do epidemiologii i patogenyzy PZT u dzieci. Następnie szeroko i nowocześnie doktorantka omawia przyczyny PZT u dzieci, które różnią się istotnie od przyczyn przewlekłego zapalenia trzustki u dorosłych. Największy udział w inicjacji PZT populacji wieku rozwojowego mają mutacje genetyczne, wady anatomiczne przewodu trzustkowego oraz choroby dróg żółciowych. Mimo postępu w diagnostyce molekularnej i obrazowej nadal około 30 % stanowi tzw. idiopatyczne zapalenie przewlekłe tego narządu w przedstawianych w publikacjach badaniach.

Według obowiązujących wytycznych European Pancreatic Club (EPC) PZT u dzieci jest to postępujący proces zapalny, który prowadzi do destrukcji mięszu trzustki i ma negatywny wpływ na czynność tego narządu. Do rozpoznania PZT musi być spełnione kryterium charakterystycznych zmian w obrazie morfologicznym i histologicznym trzustki, którym towarzyszy różnego stopnia upośledzenie czynności trzustki (wewnątrz- lub zewnątrzwydzielniczej). Patofizjologiczny mechanizm zapalenia trzustki polega na zaburzeniu równowagi między autoaktywacją i inaktywacją trypsyny. W warunkach prawidłowych trypsyna powstająca w procesie autoaktywacji trypsynogenu wewnątrz komórek pęcherzykowych jest hamowana przede wszystkim przez inhibitor proteazy trypsynogenu *SPINK1*, w drugim rzędzie przez mezotrypsynę lub samą trypsynę. Te mechanizmy zabezpieczają trzustkę przed samostrawieniem. Histopatologicznie w zaawansowanym stadium PZT obserwuje się utratę aktywnego mięszu i komórek gruczołowych, naciek komórek jednojądrzastych oraz włóknienie. Obraz patomorfologiczny jest podobny, niezależnie od czynnika etiologicznego i nie pozwala na jego identyfikację.

Do tej pory zidentyfikowano kilka mutacji genów odpowiadających za czynniki upośledzających zabezpieczenie trzustki przed zapaleniem, między innymi: mutacje inhibitora proteazy trypsynogenu *SPINK1* (serine protease inhibitor, Kazal type 1), mutacje genu trypsynogenu *PRSSI* (cationic trypsinogen/serine protease 1), mutacje genu *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), mutacje genu *CTRC* (chymotrypsin C), mutacje genu *CPA1* (carboxypeptidase A1), mutacje genu *CEL* (carboxyl ester lipase).

Innymi czynnikami często przyczyniającymi się do PZT u dzieci są wady anatomiczne przewodu trzustkowego, a mianowicie trzustka dwudzielna (pancreas divisum, PD), pętla przewodu trzustkowego (ansa pancreatica), długi wspólny przewód trzustkowo-żółciowy (APBU – anomalous pancreatobiliary union). Kolejnymi uwarunkowaniami etiopatogenetycznymi PZT u dzieci mogą być patologie dróg żółciowych, jak kamica przewodowa, torbiele dróg żółciowych stwardniające zapalenie dróg żółciowych (PSC – primary sclerosing cholangitis) oraz dysfunkcja zwieracza Oddiego (SOD – sphincter Oddi dysfunction). Pewną formą PZT, chociaż dość specyficzną może być autoimmunologiczne zapalenie trzustki izolowane czy towarzyszące innym chorobom. Do czynników toksyczno-metabolicznych PZT u dzieci, które łącznie odpowiadają za 11-14% zachorowań należą: hiperlipidemia, hiperkalcemia, przewlekła niewydolność nerek, palenie papierosów, alkohol, leki (najczęściej przeciwpadaczkowe) oraz inne kazuistyczne przyczyny jak kwasica metylomalonowa, kwasica propionowa, niektóre zaburzenia cyklu mocznikowego czy cytopatie mitochondrialne. Wśród nich zdecydowanie najczęstsze są zaburzenia lipidowe.

W podrozdziale diagnostyka i rozpoznawanie PZT u dzieci autorka wymienia i krótko charakteryzuje metodykę obrazową, czynnościową pośrednią i bezpośrednią, mającą zastosowanie w chorobach zapalnych trzustki, nierzadko prowadzących do zewnątrz a czasem wewnątrzwydzielniczej. W kolejnym podrozdziale wstępu lekarka Elwira Kołodziejczyk omawia bardzo szczegółowo metody MRCP i ECPW, których porównanie u dzieci z PZT jest pierwszorzędowym celem pracy. Cholangiopankreatografia rezonansu magnetycznego jest nieinwazyjną metodą obrazowania dróg żółciowych oraz trzustki, nie wymaga podaży kontrastu ani promieniowania jonizującego, jest tańsza i pozbawiona powikłań w przeciwieństwie do ECPW, zaś endoskopowa cholangiopankreatografia wsteczna (ECPW) jest wartościową inwazyjną metodą diagnostyczno-terapeutyczną w chorobach dróg żółciowych oraz trzustkowych w populacji pediatrycznej, obciążona jednak promieniowaniem jonizującym oraz możliwymi rozmaitymi powikłaniami. Przebieg i zasady rozpoznania klinicznego oraz leczenie zapalenia trzustki u dzieci stanowi treść ostatniego podrozdziału wstępu.

Pierwszorzędowy cel pracy (rozdział szósty) retrospektywna analiza wartości diagnostycznej MRCP w rozpoznawaniu przewlekłego zapalenia trzustki w odniesieniu do ECPW jako „złotego standardu” stanowi bardzo obiecujący problem, którego rozwiązanie może przyczynić się do podejmowania odpowiednich decyzji diagnostyczno-terapeutycznych w oparciu o to badanie. Istotne z punktu widzenia klinicznego są dodatkowe punkty końcowe (cele) badania, czyli analiza wartości diagnostycznej MRCP w ocenie stopnia zaawansowania PZT u dzieci, ocena skuteczności MRCP w wykrywaniu poszczególnych cech PZT u dzieci – poszerzenia przewodu trzustkowego, zwężeń przewodu trzustkowego, nieregularności PT, poszerzeń drugorzędowych oraz złożeń w PT i ocena skuteczności MRCP w identyfikacji *pancreas divisum* (trzustki dwudzielnej) oraz innych wad anatomicznych jako potencjalnych przyczyn PZT u dzieci. Cele zostały sprecyzowane jasno i w przekonujący sposób.

Materiał i metody (rozdział 7) zawiera charakterystykę ogólną i kliniczną pacjentów. Łącznie doktorantka przebadła i przeanalizowała dokumentację 83 pacjentów, 36 chłopców i 47 dziewczynek z przewlekłym zapaleniem trzustki i ostrymi epizodami nawracającego zapalenia trzustki (ONZT) hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii w latach 2001- 2019, u których wykonano w krótkim odstępie po 90 badań obrazowych – MRCP i ECPW. Wiek w momencie badania MRCP wyniósł od 3,2 do 17,6 lat (mediana wieku 11,5 lat). Wśród nich było 78 dzieci z PZT i 5 z ONZT. Doktorantka precyzyjnie określiła kryteria włączenia i wyłączenia z badania. Rozpoznanie PZT lub ONZT stawiano zgodnie z kryteriami Homma i wsp. do 2013 r., a w latach 2013-2019 zgodnie z kryteriami INSPPIRE.

Autorka trafnie wyeksponowała wskazania do przeprowadzenia badań obrazowych MRCP i ECPW, a mianowicie charakterystyczne dla PZT objawy (ból brzucha, wymioty, utrata masy ciała), nieprawidłowe wyniki badań laboratoryjnych (podwyższona aktywność amylazy i lipazy w surowicy powyżej 3 x GGN, nieprawidłowy wynik 72-godzinne bilansu tłuszczowego w kale), nieprawidłowe wyniki badania ultrasonograficznego i tomografii komputerowej brzucha (zwężenie, poszerzenie lub nieregularność przewodu trzustkowego, podejrzenie obecności złogów trzustkowych, nieprawidłowy obraz mięszu trzustki lub podejrzenie torbieli trzustki). Badanie MRCP uznawano za diagnostyczne w przypadku braku artefaktów uniemożliwiających ocenę dróg trzustkowych i żółciowych.

Endoskopowa cholangiopankreatografia wsteczna (ECPW) wykonywana była jako procedura diagnostyczno – lecznicza, u dzieci z uwidocznionym innymi metodami obrazowymi (USG i/lub MRCP) poszerzeniem przewodu trzustkowego z jego proksymalnym zwężeniem, w przypadku żółtaczki z podejrzeniem anomalii anatomicznych wysuniętym na podstawie innych badań obrazowych (USG i/lub MRCP), również bez towarzyszącego poszerzenia dróg żółciowych, u chorych z ONZT bez ustalonej innymi metodami diagnostycznymi innej przyczyny. Zabieg ECPW uznawano za diagnostyczne w przypadku skutecznej kaniulacji przewodu trzustkowego.

W przypadku trzech badań MRCP opisano artefakty ruchowe, ale nie uniemożliwiły one oceny dróg trzustkowych – wszystkie 90 badań uznano za diagnostyczne. W przypadku 19 badań ECPW nie uzyskano diagnostycznego pankreatogramu. Do dalszych analiz zakwalifikowano 71 badań z diagnostycznymi obrazami dróg trzustkowych w obu pancreatogramach – MRCP i ECPW. Materiał został bardzo starannie dobrany i przedstawiony. Metodyka badań jest odpowiednia, szczegółowo opisana. Autorka uwzględniła odpowiednie kryteria obrazowej oceny trzustki M-ANNHEIM dla USG, CT, MR/MRCP oraz stopień zaawansowania PZT w ECPW w oparciu o klasyfikację Cambridge. Ponadto przeanalizowała dane kliniczne, antropometryczne oraz czynniki etiologiczne PZT, w tym czynniki genetyczne zbierając odpowiednie zgody od pacjentów i ich opiekunów. Analizę mutacji w genach *PRSSI*, *SPINK1*, *CFTR*, *CTRC* i *CPA1* wykonano za pomocą sekwencjonowania metodą Sangera (badano wybrane eksony wraz z flankującymi regionami niekodującymi) lub za pomocą metody oznaczania polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (ang. restriction fragment length polymorphism, RFLP). Następnie autorka poszukała związków między badanymi parametrami a badaniem MRCP i zabiegiem ECPW.

Zwraca uwagę świetny dobór technik i obliczeń statystycznych do udokumentowania skuteczności badanych technik diagnostycznych u dzieci z PZT.

Wyniki uzyskanych badań (rozdział 8) zostały przedstawione w bardzo szerokim zakresie w sposób właściwy w 16 tabelach oraz na 18 wykresach. Rezultaty analiz autorka podzieliła na odpowiednie podrozdziały stosownie do zamierzonych celów pracy.

Autorka przedstawiła dane dotyczące wieku badanej grupy, masy ciała i wzrostu w momencie wykonania MRCP, stanu odżywienia w momencie wykonania MRCP, czasu trwania choroby, ciężkości przebiegu PZT (liczba zaostrzeń i liczba wykonanych ECPW) oraz zaawansowania choroby (skala Cambridge i klasyfikacja MAANHEIM).

W przypadku badań MRCP 79% odbyło się przed ECPW, a u 21% po badaniu endoskopowym. Średni wiek w momencie wykonania MRCP wyniósł $11,39 \pm 3,95$ lat. Średni czas trwania choroby do momentu MRCP to $36,9 \pm 44,2$ miesiąca.

Doktorantka ustalając etiologię w badanej grupie dzieci z PZT stwierdziła: u 61,2% pacjentów obecność mutacji genów predysponujących do PZT, jednocześnie ustaliła u znacznej części pacjentów stwierdzono współwystępowanie 2 lub więcej czynników ryzyka genetycznego PZT. U 32,8% pacjentów potwierdziła wady anatomiczne, u 11,8% choroby dróg żółciowych, u 26,9% dzieci czynniki toksyczno-metaboliczne, zaś idiopatyczne PZT rozpoznano u 13,4%, co należy uznać za znaczący sukces diagnostyczny, bowiem z reguły odsetek idiopatycznych zapaleń trzustki u dzieci wynosi ok 30%. U znacznej części pacjentów współwystępowały 2 lub więcej czynniki etiologiczne choroby.

Większość (84,51%) procedur ECPW miała charakter zabiegowo-terapeutyczny. Najczęściej przeprowadzano sfinkterotomię trzustkową oraz protezowanie przewodu trzustkowego. Rzadziej usuwano złoże z PT, czy wykonywano sfinkterotomię żółciową, czy też protezowanie PŻW, poszerzanie zwężeń PT oraz cystogastrostomię. Powikłania wystąpiły po około 22% zabiegów ECPW - najczęściej jatrogenne ostre zapalenie trzustki (ang. post-ERCP pancreatitis, PEP).

Wg doktorantki czułość i wartość predykcyjna dodatnia MRCP w rozpoznawaniu PZT w odniesieniu do ECPW wyniosły odpowiednio 85,25% i 94,55%, zaś specyficzność i wartość predykcyjna ujemna – odpowiednio 70% i 43,75%.

Zgodność oceny stopnia zaawansowania PZT między MRCP (kryteria MAANHEIM 0-4) i ECPW (skala Cambridge 0-4) wynosi 62%.

Na podstawie analizy statystycznej autorka wykazała, że dzieci, u których wyniki badań MRCP i ECPW są niezgodne, mają istotnie: niższą masę ciała oraz wzrost oraz niższy stopień

zaawansowania PZT niż w przypadku dzieci ze zgodnymi wynikami w obu metodach według kryteriów MAANHEIM w MRCP.

Doktorantka wykazała, że MRCP charakteryzuje się wysoką czułością (90%) i swoistością (90,48%) w obrazowaniu poszerzeń przewodu trzustkowego, zaś niską czułością (44,44%) i wysoką swoistością (98,11%) w wizualizacji zwężeń PT. Podobnie jest mało czuła i wysoce swoista w wykrywaniu złożeń PT, zwłaszcza dużych (duże złoże - czułość - 60%, swoistość - 100%; drobne złoże - czułość - 35,29%, swoistość - 94,44%). Odgałęzienia drugorzędowe okazały się najslabiej widoczną cechą w pankreatografii MR, w badanej grupie dzieci ze wszystkich zmian specyficznych dla PZT (czułość 39,29%, swoistość - 79,07%).

Obrazowanie wszystkich wad anatomicznych trzustki za pomocą MRCP w populacji pediatrycznej, w tym *pancreas divisum* jako najczęstszej z nich, charakteryzuje się niską czułością i wysoką swoistością (łączna czułość i swoistość - odpowiednio 45,83% i 82,98%; czułość i swoistość w rozpoznawaniu trzustki dwudzielnej - odpowiednio 50% i 92,31%).

Dyskusja (rozdział 9) przedstawiona jest na 13 stronach na podstawie bogatego, dobrze dobranego, nowoczesnego piśmiennictwa. W zakresie konfrontacji wyników uzyskanych badań z danymi z piśmiennictwa doktorantka kompetentnie przeprowadziła właściwe analizy.

Całość kończą wnioski zgodne z celem pracy.

1. MRCP jest wysoce czułą i umiarkowanie swoistą metodą diagnostyki PZT u dzieci (czułość 0,85; swoistość 0,7).
2. Pacjenci z niezgodnością diagnozy PZT pomiędzy ECPW i MRCP cechują się niższą masą ciała, wzrostem i młodszym wiekiem w czasie przeprowadzania MRCP oraz niższym stopniem zaawansowania PZT w obu badaniach (w skali Cambridge oraz wg kryteriów MAANHEIM)
3. Stopień zaawansowania PZT wg kryteriów MAANHEIM określony w MRCP jest najistotniejszą zmienną dyskryminującą pomiędzy grupami pacjentów, którzy mają zgodne wyniki MRCP i ECPW w rozpoznawaniu PZT w porównaniu z dziećmi z niezgodnymi wynikami obu badań. Pacjenci z początkową fazą PZT (1-2 wg kryteriów MAANHEIM w MRCP) mają niższą zgodność rozpoznawania choroby. Zgodność oceny stopnia zaawansowania PZT (0-4) u dzieci między ECPW i MRCP jest umiarkowanie wysoka i wynosi 0,62.
4. Obrazowanie poszczególnych cech PZT w badaniu MRCP u dzieci charakteryzuje się przeciętną czułością i wysoką swoistością (z wyjątkiem poszerzenia dróg trzustkowych, gdzie czułość jest również wysoka). Obrazowanie wszystkich wad anatomicznych trzustki za pomocą MRCP w populacji pediatrycznej charakteryzuje się niską czułością

i wysoką swoistością. Obrazowanie *pancreas divisum* za pomocą MRCP w populacji pediatrycznej charakteryzuje się niską czułością i wysoką swoistością.

Uwagi formalne: brak wyliczonych a pozostawionych pustych polach w nawiasach, bez wartości liczbowej procentów na stronie 64, a także trochę niejednorodnie podany spis piśmiennictwa oraz liczne błędy edytorskie.

Uwagi merytoryczne: Brak danych o innych przewlekłych chorobach u dzieci z PZT np. NCHZJ (może współistniały w niektórych przypadkach, skoro ok. 66% ma dodatkowo autoprzeciwciała) w surowicy. W dalszej części pracy ten wynik nie jest komentowany ani dyskutowany więc może lepiej z niego zrezygnować w ewentualnej przyszłej publikacji. Ponadto we wstępie (str.25) autorka wymienia OZT, NOZT i PZT jako jednorodną grupę chorób traktowanych jako ciągłość procesu chorobowego, podczas gdy OZT – to może być jeden lub nawet więcej epizodów w życiu człowieka, ale zakończonych wyzdrowieniem, bez skłonności do przewlekłego zapalenia i włóknienia narządu. Należy oddzielić OZT od ONZT przechodzące w PZT.

Wspomniane uwagi nie umniejszają wartości tej dysertacji. Rozprawa jest oryginalnym, dobrze zaprojektowanym i skrupulatnie przeprowadzonym badaniem, gdzie zastosowano innowacyjne podejście w pediatrii do oceny wartości dwóch różnych technik badawczych MRCP.

Autorka rozprawy wykazała się dużą wiedzą teoretyczną w zakresie prowadzonego badania, samodzielnie rozwiązała postawione w projekcie zadania badawcze.

Stwierdzam, że powierzona mi do oceny dysertacja lek. med. Elwiry Kołodziejkiej pt. „Retrospektywna ocena wartości diagnostycznej MRCP w porównaniu do ECPW u dzieci z przewlekłym zapaleniem trzustki” w pełni odpowiada wszystkim warunkom stawianym pracom doktorskim. Mam przeto zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Instytutu „Centrum Zdrowia Dziecka” wniosek o dopuszczenie lek. med. do dalszych etapów wystąpienia o nadanie tytułu doktora nauk medycznych.

Ponadto wnoszę o wyróżnienie pracy ze względu na pionierskie opracowanie tematu oraz duże znaczenie praktyczne uzyskanych wyników badań dla praktyki medycznej.

Elwira Kołodziejka