

Szczecin 10.03.2023

Prof. dr hab. n. med. Grażyna Czaja-Bulsa  
Katedra i Zakład Chorób Dzieci i Pielęgniarstwa Pediatrycznego  
Wydział Nauk o Zdrowiu  
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego  
71-210 Szczecin, ul. Żołnierska 48  
Tel. 091- 48 00 951; tel/fax. 091 48 00 952

**Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych  
lekarza medycyny Agnieszki Mianowskiej  
z Kliniki Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii  
Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie**

**pt.: Ocena zaburzeń gospodarki węglowodanowej w zapaleniach trzustki u  
dzieci w materiale IPCZD**

Zapalenia trzustki u dzieci należą do chorób rzadkich, ich częstość występowania ocenia się na 3,6-13,3 przypadków na 100 000 dzieci. Przebiegają pod jedną z trzech postaci: ostre zapalenie trzustki (OZT), ostre nawracające zapalenie trzustki (ONZT) i przewlekłe zapalenie trzustki (PZT). Przeważa OZT, PZT występuje znacznie rzadziej - w 2015 r w Polsce zapadalność wynosiła 1,1/100 tys.

U pacjentów z zapaleniem trzustki, w czasie lub po chorobie, występują zaburzenia gospodarki węglowodanowej, najczęściej nieprawidłowa tolerancja węglowodanów, rzadko cukrzyca.

Niewielka ilość publikacji dotycząca tego zagadnienia skłoniła Doktorantkę do zajęcia się tym tematem.

Temat przez nią podjęty pt.: „Ocena zaburzeń gospodarki węglowodanowej w zapaleniach trzustki u dzieci w materiale IPCZD” dotyczy zatem bardzo ważnego zagadnienia, wymagającego szczegółowego opracowania. W opinii recenzenta przedstawiona praca w istotny sposób poszerza wiedzę o zaburzeniach gospodarki węglowodanowej w zapaleniach trzustki w grupie pacjentów pediatrycznych.

Układ pracy jest zgodny z powszechnie przyjętymi zasadami redagowania prac naukowych. Praca liczy 93 strony wydruku komputerowego, zawiera 24 ryciny, 42 tabele oraz 76 pozycji piśmiennictwa, w większości obcojęzycznego, zamieszczonego zgodnie z kolejnością cytowań. Została

podzielona na 8 klasycznych rozdziałów, w tym zestawienie używanych skrótów, spis tabel i wykresów, a także streszczenie w języku polskim i angielskim.

"Wstęp" liczy 14 stron. Został podzielony na 3 podrozdziały, w których Autorka prezentuje wiedzę teoretyczną na temat etiologii, patogenezы i obrazu klinicznego OZT oraz PZT. Opisuje również klasyfikację cukrzycy, zasady rozpoznawania stanów cukrzycowych i cukrzycy. Podaje także cechy charakteryzujące cukrzycę u dzieci z OZT i PZT.

W rozdziale drugim, zatytułowanym „Cel pracy” Doktorantka prawidłowo sformułowała 6 szczegółowych celów badawczych:

1. Ocena zaburzeń homeostazy węglowodanowej, głównie występowania cukrzycy w OZT oraz PZT u dzieci hospitalizowanych oraz w obserwacji ambulatoryjnej
2. Ocena częstości występowania innych zaburzeń metabolicznych w przebiegu zapaleń trzustki (obejmujących cukrzycową kwasicę ketonową oraz zaburzenia lipidowe)
3. Ocena różnic w etiologii (w tym genetycznej), przebiegu klinicznym, stosowanym leczeniu w OZT oraz PZT (w tym ECPW i zabiegi endoskopowe) i zaburzeniach gospodarki węglowodanowej w grupie dzieci młodszych (< 5 roku życia) oraz starszych
4. Ocena wpływu dziecięcej otyłości na ciężkość przebiegu zapaleń trzustki oraz zaburzeń homeostazy węglowodanowej oraz cukrzycy
5. Ocena funkcji endokrynnej trzustki we wczesnym okresie po przebyciu pierwszego epizodu OZT, przed wystąpieniem jawnej cukrzycy
6. Ocena, czy u dzieci z niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki zmiany w węglowodanowej homeostazie mogą występować wcześniej, przed wystąpieniem jawnej cukrzycy.

Postawione cele Doktorantka realizowała prowadząc badania u 112 pacjentów w wieku od 4 do 18 lat (średni wiek  $7,48 \pm 3,35$  lat; chłopcy stanowili 49% grupy) hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii IP CZD w latach 2019-2021. Szczegółowe informacje o grupie badanej Doktorantka przedstawiła w rozdziale „Materiał i metody”, który liczy 4 strony. Wszystkie badane dzieci miały poniżej 18 lat, chorowały na OZT lub PZT (potwierdzone w badaniach obrazowych i biochemicznych) oraz były obserwowane co najmniej 1 rok od momentu pierwszej hospitalizacji.

Grupa badana została podzielona na dwie podgrupy wiekowe: dzieci młodsze, u których pierwszy epizod zapalenia trzustki wystąpił poniżej 5 roku życia oraz grupę dzieci starszych. Brak charakterystyki wydzielonych podgrup grupy badanej.

Wszystkie dzieci z PZT miały wykonane badania mutacji trzech genów: CFTR, PRSS1 oraz SPINK1. Analiza DNA była wykonana w latach 2002-2010 w Zakładzie Genetyki Medycznej IMiDz w Warszawie, w latach 2011-2012 w Zakładzie Genetyki Genomed S.A. w Warszawie, a w latach 2012-2021 w Zakładzie Genetyki Medgen w Warszawie.

Autorka podaje, że punktem końcowym badania było rozpoznanie cukrzycy lub innych zaburzeń gospodarki węglowodanowej (nieprawidłowa glikemia na czczo, nieprawidłowa tolerancja węglowodanów, hiperinsulinemia). Ta zasada nie została zastosowana w prezentowanej pracy.

U wszystkich pacjentów oznaczono, oprócz podstawowych badań laboratoryjnych, poziom glukozy, glukozurię, poziom HbA1c%, aktywność amylazy i lipazy (0, 24 i 48 godz), poziom TG, stężenie C-peptydu, glukagonu, autoprzeciwciała: przeciwciała przeciwko komórkom wysp trzustkowych (ICA), przeciwko insulinie (IAA), przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (GADA, GAD65) oraz przeciwko fosfatazom tyrozyny (IA-2A). Wykonywano również doustny test tolerancji glukozy (OGTT) z oznaczeniem poziomu insuliny RIA-INS oraz obliczano wskaźnik insulinooporności (HOMA). Pobrano także badania lipidowe krwi, określono bilans wydalania tłuszczu w 3-dniowej zbiórce kału oraz ocenę stężenia elastazy-1 w kale.

U wszystkich badanych z podejrzeniem PZT wykonywano nie tylko USG, a także MRCP jamy brzusznej. ECPW wykonywano: przy poszerzeniu przewodu trzustkowego, w żółtaczce, przy podejrzeniu wady dróg żółciowych lub trzustkowych oraz przy nieznanych przyczynach wywołujących nawrotowe OZT.

Do oceny analizowanych wyników badań Doktorantka zastosowała dobrze dobrane, nowoczesne metody statystyczne. Uzyskane dane poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica for Windows, wersja 5.0. Za poziom istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ . Dane o charakterze zmiennych jakościowych (kategorycznych) zostały opisane przez zestawienie liczby przypadków i ich procentowy udział w grupie. Dane o charakterze zmiennych ilościowych (ciągłych) były charakteryzowane za pomocą następujących parametrów: liczba przypadków, wartość średnia i odchylenie standardowe. Istotność związku pomiędzy cechami kategorycznymi oceniano za pomocą testów  $\chi^2$ , natomiast dane ciągłe porównywano za pomocą testu U Mann-Whitney'a i Kruskal-Wallis'a.

Prezentowany projekt uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej – numer zgody 17/KE/2019. Praca nie zawiera informacji, że do badań pacjentów kwalifikowano po uzyskaniu pisemnej zgody rodzica/opiekuna prawnego dziecka na zbieranie, przetwarzanie i publikowanie danych, a u dzieci powyżej 16 roku życia – również zgody pacjenta na udział w badaniu.

Następny rozdział pracy, obejmujący 39 stron, zatytułowany jest "Wyniki". Doktorantka szczegółowo omawia w nim uzyskane dane przedstawiając je także na 21 rycinach i w 40 tabelach. Rozdział składa się z 10 podrozdziałów. W pierwszym przedstawiona jest szczegółowa charakterystyka grupy badanej. Średni wiek zachorowania na zapalenie trzustki wynosił  $6,53 \pm 2,58$  lat, a średnia ilość epizodów zapaleń trzustki  $4,65 \pm 3,73$ .

W kolejnych podrozdziałach Doktorantka analizuje wpływ wybranych parametrów na grupę badaną. Oprócz parametrów laboratoryjnych analizuje również częstość występowania zewnątrzwydzielniczej niewydolności trzustki, etiologię zapaleń trzustki, obecność zwapnień trzustki w badaniach obrazowych, rodzaj wykonywanych zabiegów operacyjnych oraz występowanie otyłości.

Liczba dzieci z nietolerancją węglowodanów, w teście OGTT, wynosiła 13%. Wśród nich cukrzycę rozpoznano u 2 pacjentów (1,8%). Liczba dzieci z insulinoopornością wynosiła 16%, z tą samą częstością u dzieci bez nietolerancji węglowodanów oraz u dzieci z nietolerancją węglowodanów. Otyłość dotyczyła 37,5% badanej grupy dzieci, z tą samą częstością u dzieci z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej i bez niej oraz z tą samą częstością u dzieci z insulinoopornością i bez niej. Nie stwierdzono różnic w częstości występowania badanych autoprzeciwciał: ICA, IAA oraz anty-IA2.

Stwierdzono, że w grupie dzieci z zaburzeniami węglowodanów liczba zabiegów ECPW była istotnie wyższa:  $3,8 \pm 5,45$  vs  $1,15 \pm 2,2$ ;  $p < 0,05$ , a także istotnie częściej występowała mutacja genu SPINK1: 9/15 vs 6/44;  $p < 0,05$ . Pozostałe parametry nie wykazywały różnic istotnych statystycznie. Występowanie mutacji w genie SPINK1 istotnie zwiększało ryzyko wystąpienia zaburzeń gospodarki węglowodanowej.

Ostatni podrozdział jest zatytułowany „Analiza wieloczynnikowa”, zajmuje 24 strony. Autorka wykazała w nim, że istotnymi zmiennymi mającymi wpływ na częstsze występowanie nietolerancji węglowodanów były: średni czas trwania obserwacji ( $p=0,035$ ), średnia punktacja w Cambridge ( $p=0,03$ ), liczba ECPW ( $p=0,038$ ) oraz ilość epizodów zapaleń trzustki ( $p=0,01$ ). Istotne znaczenie trzech ostatnich parametrów wskazuje, że u dzieci z cięższym przebiegiem zapalenia trzustki częstość występowania nietolerancji węglowodanów była wyższa. W tym miejscu Doktorantka wymienia również wartość BMI ( $p=0,008$ ), jako parametr istotnie wpływający na częstsze występowanie nietolerancji węglowodanów. W dyskusji wartość BMI jest wymieniana jako parametr nie mający wpływu na częstość występowania nietolerancji węglowodanów – informacja ta wymaga wyjaśnienia.

W rozdziale „Wyniki” nie znalazłam oznaczeń glukagonu, przeciwciał GADA, lipidów, wielkości elastazy -1, bilansu wydalania tłuszczu w 3-dniowej zbiórce kału oraz wielkości wskaźnika HOMA. Należy zatem albo usunąć te parametry z rozdziału „Materiał i metody” lub zamieścić je w rozdziale „Wyniki”.

W rozdziale „Wyniki” znalazłam informacje odnoszące się tylko do 1-szego i częściowo do 4-tego celu pracy. Nie ma danych odnoszących się do pozostałych celów pracy.

W rozdziale „Wyniki” większość tabel i rycin nie ma pełnych tytułów, w 14-stu tabelach wartość p jest źle wydrukowana – widoczna jest litera S, a z analizy danych wynika, że powinno być NS. Tekst w rozdziale jest bardzo skromny, dominują tabele i ryciny.

Rozdział 5-ty nosi tytuł „Wnioski”. Autorka sformułowała 5 wniosków.

1. Cukrzyca w grupie dzieci z zapaleniami trzustki występuje rzadko.
2. Przewlekłe zapalenie trzustki może prowadzić do zaburzeń gospodarki węglowodanowej u dzieci. Najczęstszym zaburzeniem jest nieprawidłowa nietolerancja węglowodanów, natomiast cukrzyca występuje rzadziej i w późnym okresie przewlekłego zapalenia trzustki.
3. Dzieci z ostrym nawracającym zapaleniem trzustki lub przewlekłym zapaleniem trzustki powinny mieć wykonywane raz w roku oznaczenie poziomu glukozy na czczo, poziomu hemoglobiny glikolowanej oraz wstępnie badania genetyczne, w tym mutacji genu SPINK1.

4. Dzieci z zapaleniem trzustki, u których stwierdzono mutację w genie SPINK1 powinny być pod ścisłym nadzorem diabetologicznym.
5. Zaburzenia tolerancji węglowodanów występują częściej u dzieci, które miały powtarzane zabiegi ECPW na drogach trzustkowych w porównaniu do dzieci, które nie miały wykonywanych takich zabiegów.

Wszystkie wnioski odnoszą się do pierwszego celu pracy.

Kolejny rozdział pracy nosi tytuł „Dyskusja”, liczy 6 stron. Doktorantka przeprowadziła w nim analizę własnego materiału klinicznego i porównała go z danymi wynikającymi z zebranego piśmiennictwa. Uzyskane wyniki i dane z piśmiennictwa pozwoliły jej stwierdzić, że dzieci z NZT i PZT powinny podlegać stałemu nadzorowi w zakresie endokrynej niewydolności trzustki. Wstępnie u tych pacjentów powinno być wykonane badanie genetyczne w kierunku mutacji w genach PRSS1 i SPINK1, a następnie co najmniej raz w roku powinno być wykonywane oznaczanie poziomu glukozy na czczo, ewentualnie z testem tolerancji glukozy oraz poziomu hemoglobiny glikolowanej. Wcześniejsze rozpoznanie zaburzeń gospodarki węglowodanowej, stanu przedcukrzycowego, a co się z tym wiąże wcześniejsze wprowadzenie profilaktyki i leczenia może pozwolić na późniejsze ujawnienie się lub wręcz uniknięcie cukrzycy wśród dzieci z PZT, szczególnie w grupach zwiększonego ryzyka rozwoju cukrzycy.

Szczególnego nadzoru wymagają pacjenci z obecnością mutacji w genie SPINK1 i obecnością zwapnień trzustki ze względu na potencjalne wyższe ryzyko rozwoju raka trzustki.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską stwierdzam, że Autorka osiągnęła postawione sobie cele. W ocenie recenzenta z postawionego sobie zadania wywiązała się dobrze.

Wśród wymienionych zalet recenzowanej pracy recenzent zauważa drobne usterki w redakcji pracy, które Autor może usunąć przed oddaniem pracy do druku:

- nieprawidłowa numeracja stron w spisie treści,
- na stronie 28 pierwsza linijka jest powtórzona jako 5 i 6,
- strona 77 linia 8: słowo natomiast napisane jest dwukrotnie
- strona 80 publikacja nr.10 nie ma metryczki.

Wszystkie poczynione uwagi nie pomniejszają wartości rozprawy. Wykonana przez Doktorantkę praca dowiodła, że posiada ona odpowiedni zasób wiedzy i potrafi podjąć dyskusję naukową z innymi autorami zbliżonych tematycznie doniesień wykazanych w zebranych piśmiennictwie i cytowanych w pracy.

Uważam, że rozprawa doktorska lekarza medycyny Agnieszki Mianowskiej z Kliniki Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii IPCZD w Warszawie pt.: „Ocena zaburzeń gospodarki węglowodanowej w zapaleniach trzustki u dzieci w materiale IPCZD” odpowiada wymaganiom stawianym pracom doktorskim. Jest oryginalnym rozwiązaniem postawionego problemu naukowego. Wskazuje także na umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę. Autorka zaprezentowała w niej szeroką wiedzę

teoretyczną dotyczącą przedstawianego zagadnienia. Prawidłowo dobrała metody badawcze i metody statystyczne. Dobór cytowanego piśmiennictwa również jest prawidłowy. W podsumowaniu w rozdziale Dyskusja Doktorantka opisuje praktyczne zastosowanie poczynionych obserwacji.

Przedkładam zatem Radzie Naukowej IPCZD w Warszawie wniosek o dopuszczenie lekarza medycyny Agnieszki Mianowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Grażyna Czaja-Bulska

4368934 Prof. dr hab. n. med. Grażyna Czaja-Bulska  
specjalista pediatra  
specjalista alergolog  
specjalista gastroenterolog  
specjalista gastroenterolog dziecięcy