

Katedra Pediatrii

Klinika Diabetologii Dziecięcej

Wydział Nauk Medycznych w Katowicach

Śląski Uniwersytet Medyczny

Ul. Medyków 16, 40-752 Katowice

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lekarza Agnieszki Mianowskiej

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

Pełna ocena pracy trzustki należy do jednych z trudniejszych zadań w medycynie. Trzustka jako narząd zbudowana jest z dwóch części: zewnątrzwydzielniczej pełniącej funkcję gruczołu trawiennego i wewnątrzwydzielniczej z funkcją dokrewną. Zapalenie trzustki u dzieci jest procesem zapalnym tego narządu powstającym pod wpływem licznych i różnorodnych czynników etiopatogenetycznych. Potrzebne jest więc szerokie spojrzenie naukowe na całość pracy trzustki, w tym na wzajemne połączenia w zakresie zaburzeń gospodarki węglowodanowej i obserwowanego jej stanu zapalnego. Szczególnie, że wiedza w tym aspekcie jest niepełna. Stale postępujący rozwój nauk podstawowych, pediatrii m.in. gastroenterologii, genetyki, diabetologii, endokrynologii pozwala na coraz większe zrozumienie toczących się procesów odpowiedzialnych za homeostazę całego organizmu, a jednocześnie stawia nowe wyzwania naukowe na tym polu. Podjęcie tematyki *oceny zaburzeń gospodarki węglowodanowej w zapaleniach trzustki u dzieci* przez Doktorantkę wiązało się z szeregiem trudnych i skrupulatnych działań na rzecz zgromadzenia wiarygodnych licznych danych, które stanowią podstawę dysertacji.

Mając na uwadze powyższe, rozprawa doktorska lekarza Agnieszki Mianowskiej poświęcona zagadnieniom ***Ocena zaburzeń gospodarki węglowodanowej w zapaleniach trzustki u dzieci w materiale IPCZD*** stanowi ważny element poszerzenia wiedzy naukowej i klinicznej w tym obszarze wiedzy.

Dysertacja obejmuje wraz ze streszczeniami, objaśnieniami skrótów, wykresami, tabelami i ilustracjami 92 strony wydruku komputerowego formatu A3. Należy podkreślić świetne graficzne opracowanie pracy, na które składa się 8 rozdziałów, szerokie ujęcie ilustracyjne wyników: 72 tabele i 24 ryciny, w tym kolorowych oraz zwięzłe i jasne podsumowania podrozdziałów.

Układ pracy jest prawidłowy.

Wprowadzenie do tematyki rozprawy jest przygotowane szeroko i w pełni oddaje całokształt oraz złożoność tematyki choroby trzustki z następstwami u dzieci. W ten też sposób powstał dobry, poznawczy i kliniczny warsztat do kolejnych podejmowanych przed Doktorantką etapów pracy.

Głównymi celami pracy była ocena:

1. Zaburzeń homeostazy węglowodanowej, głównie występowania cukrzycy w ostrym zapaleniu trzustki (OZT) oraz przewlekłym zapaleniu trzustki (PZT) u dzieci hospitalizowanych
2. Częstości występowania innych zaburzeń metabolicznych w przebiegu zapaleń trzustki (obejmujących cukrzycową kwasicę ketonową oraz zaburzenia lipidowe)
3. 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 dzieci starszych
4. Wpływu dziecięcej otyłości na ciężkość przebiegu zapaleń trzustki oraz zaburzeń homeostazy węglowodanowej, w tym cukrzycy
5. Funkcji endokrynej trzustki we wczesnym okresie po przebyciu pierwszego epizodu ostrego zapalenia trzustki, przed wystąpieniem jawnej cukrzycy
6. Czy u dzieci z niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki zmiany w węglowodanowej homeostazie mogą występować wcześniej, przed wystąpieniem jawnej cukrzycy

Dla ich realizacji Doktorantka przeprowadziła wieloaspektowe badania nad występowaniem i poszukując czynników zaburzeń gospodarki węglowodanowej w przypadkach zapaleń trzustki w populacji wieku rozwojowego.

Zarówno metodyka dysertacji z doбором grup badanych jak i analiza statystyczna są szczegółowo i właściwie opisane, nie budzą wątpliwości recenzenta.

Zbudowana baza przez Doktorantkę zgromadziła obszerne dane od 112 pacjentów w wieku 4 - 18 lat (57 dziewcząt i 55 chłopców) hospitalizowanych w Klinice Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii ICZD w latach 2019-2021. Obejmuje następujące parametry: wiek, płeć, rasę, wzrost, masę ciała, BMI, rodzinny wywiad cukrzycy, choroby towarzyszące, incydenty bólu brzucha, nudności i wymioty w wywiadzie, stosowane w przeszłości leczenie, używki, etiologię rozpoznanego wcześniej zapalenia trzustki (genetyczna predyspozycja do cukrzycy typu 1) oraz inne czynniki toksyczno- metaboliczne, w tym leki, jak również parametry biochemiczne wartości glikemii i insulinemii (w OGTT), hemoglobiny glikowanej (HbA1c%), aktywność amylazy i lipazy przy przyjęciu, po 24 i 48 h od przyjęcia, poziom triglicerydów (TG), C-peptydu, przeciwciał związanych z destrukcją komórek beta (ICA, GDA, anty-IA2) oraz bilans tłuszczu w 3-dobowej zbiórce kału oraz ocenę stężenia elastazy-1 w kale dla oceny niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki. Ponadto, u wszystkich dzieci z PZT wykonano badania mutacji genów związanych z zapaleniem trzustki (materiał pobierany do badania genetycznego- krew): *FTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) (MIM:219700) – mutacje $\Delta F508$, del2,3 i

poliT wariant w intronie 8 (*IVS8-T*), analiza eksonów 9, 10 i 11 z zastosowaniem techniki sekwencjonowania DNA, *PRSSI* (cationic trypsinogen/serine proteaze1) (MIM:276000) - mutacje R122H, R122C, A16V, N29I, E79K, N29T, K23R, D22G, D19A, analiza eksonów 2 i 3 z zastosowaniem techniki sekwencjonowania DNA oraz *SPINK1* (serum protease inhibitor Kazal type 1) (MIM:167790) – mutacje N34S, *IVS3+2T>c*, analiza eksonu3 z zastosowaniem techniki sekwencjonowania DNA.

Zgodnie z procedurami diagnostycznymi wykonano badania obrazowe: USG i MRCP u dzieci z podejrzeniem przewlekłego zapalenia trzustki, natomiast badanie ECPW u dzieci, u których stwierdzano poszerzenie przewodu trzustkowego w badaniu USG lub MRCP oraz u chorych bez poszerzenia przewodu trzustkowego ale z obecnością żółtaczk lub podejrzeniem wady anatomicznej w USG lub w rezonansie magnetycznym, jak również u dzieci z kilkoma epizodami zapalenia trzustki, a dotychczasowa diagnostyka nie wyjaśniła przyczyny choroby.

Wyniki dysertacji przedstawione są obszernie, jasno i prawidłowo. U 112 pacjentów w wieku 7,48 \pm 3,35 lat, 49% grupy stanowili chłopcy a 51% dziewczynki, średnia ilość epizodów zapaleń trzustki wynosiła 4,65 \pm 3,73, średnia liczba zabiegów ECPW wynosiła 1,6 \pm 3,13. Średnia punktacja w endoskopowej skali Cambridge stosowanej do oceny stopnia PZT wynosiła 1,64 \pm 0,9 punktów.

Średnie stężenia glukozy wyjściowo, po 1 godzinie oraz po 2 godzinach wynosiło odpowiednio: 88 \pm 76 (8,4-183)mg/dl po 1 h 137,57 \pm 43,71 (16,2-336,70)mg/dl, a po 2 godzinach od obciążenia glukozą 111,53 \pm 35,41 (60,50-333,20)mg/dl. Liczba dzieci z dysglikemią wynosiła 19 (13% badanej grupy). W grupie chorych z zaburzoną gospodarką glukozy cukrzycę rozpoznano u 2 pacjentów. W grupie dzieci z dysglikemią zabiegów ECPW było więcej niż wśród dzieci bez dysglikemii (średnio 3,8 \pm 5,45vs.1,15 \pm 2,20 zabiegu, $p<0,05$).

W grupie z dysglikemią stwierdzono istotnie częstsze występowanie mutacji w genie *SPINK1* ($p<0,05$). Pozostałe mutacje genetyczne, niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki, otyłość, wady wrodzone trzustki, przebyte zabiegi operacyjne na drogach żółciowych pozostawały bez wpływu na występowanie zaburzeń gospodarki węglowodanowej (NS).

Na podstawie analizy zebranego materiału Doktorantka prawidłowo sformułowała 5 poniższych 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 dysglikemia, 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 glikowanej oraz wstępnie badanie genetyczne, w tym mutacji genu *SPINK1*
4. Dzieci z zapaleniami trzustki u których stwierdzono mutację w genie *SPINK1* powinny być pod ścisłym nadzorem diabetologicznym

5. Dysglikemia występuje częściej u dzieci, które miały powtarzane zabiegi ECPW na drogach trzustkowych w porównaniu do dzieci, które nie miały wykonywanych takich zabiegów.

W dalszej części pracy Doktorantka poprowadziła obszerną i dojrzałą dyskusję, opartą na uzyskanych przez siebie wynikach badań oraz kilkudziesięciu pozycjach piśmiennictwa krajowego i zagranicznego. Jest to bardzo dobrze opracowana część rozprawy. Doktorantka w dyskusji ukazuje bardzo dobrą znajomość omawianej tematyki. Ponadto, umiejętnie interpretując wyniki, Autorka przedstawia ich interesujące uzasadnienia.

Piśmiennictwo jest dobrane właściwie, liczy 76 pozycji, blisko połowa cytowanych prac została opublikowana po 2016 roku i jest odpowiednio zacytowane w pracy.

Znaczenie i zalety pracy.

Jak wcześniej wspomniałam, opublikowano niewielką liczbę prac w populacji pediatrycznej oceniających częstość występowania zaburzeń gospodarki węglowodanowej, w tym cukrzycy u dzieci z zapaleniami trzustki. Grupa badanych pacjentów pozostająca pod opieką Kliniki Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii IP CZD jest jedną z największych jednoośrodkowych grup dzieci z zapaleniami trzustki na świecie. Stworzyło to unikalne podstawy analizy i poszerzenia wiedzy z zakresu zaburzeń homeostazy węglowodanowej w populacji pediatrycznej pacjentów z zapaleniem trzustki, szczególnie przewlekłym. Należy zauważyć, że praca ta została wykonana w ośrodku specjalizującym się w diagnozie i leczeniu zapaleniu trzustki, o dużym doświadczeniu klinicznym i naukowym, pod sumiennym okiem prof. dr hab. n. med. Grzegorza Oracza. Chociaż metodologia pracy stanowiła wiele wyzwań w praktyce klinicznej Doktorantka umiejętnie i skrupulatnie zebrała obszerny materiał naukowy. Tym samym dysertację tą można zaszeregować do opracowań nowatorskich.

Uwagi.

Nie ujmując wagi opracowania Doktorantki, z odpowiedzialności przyjętej roli - Recenzenta pragnę zwrócić uwagę na kilka nieścisłości, które zwróciły moją uwagę:

- stężenie glikemii wyrażamy w mg/dl (zamiast mg %)
- dysglikemia, które jest zamienną nazwą zaburzenia glukozy (węglowodanów to znacznie szersze określenie) obejmuje dwie różne nieprawidłowości definiowane wg WHO: nieprawidłową glikemię na czczo i nieprawidłową tolerancję glukozy. W omówieniu wyników należałoby wyszczególnić te odmienne jednostki oraz wskazać liczbę dysglikemii, która dotyczy obu rozpoznań zaburzeń glikemii. Ponadto, powtarzalność OGTT szacuje się na około 50-60%, stąd dobrym rozwiązaniem jest wykonanie testu dwukrotnie, przy zachowaniu wymaganych standardów badania
- przeciwciała związane z destrukcją komórki beta trzustki (określone przez Autorkę przeciwcukrzycowymi), a odpowiadające za rozpoznanie cukrzycy typu 1. oceniono oddzielnie, nie zamieszczono informacji czy były osoby, u których występowało dwa

lub więcej przeciwciał. Zgodne z nową klasyfikacją cukrzycy typu 1 o podłożu immunologicznym, występowanie już dwóch przeciwciał oznacza stadium 1 cukrzycy typu 1 a jeśli „dołącza” się dysglikemia to stadium 2. Aktualnie, rekomendacje wskazują na wykonanie oznaczeń przeciwciał IA2, GAD, IAA, ZnT8 (ICA z powodów metodologicznych ma mniejszą wartość diagnostyczną)

- edytorskie niedopatrzenia, np. zbyt skrótowe opisy tabel i rycin, (*grupa z i grupa bez, operacje, i.in.*), przesunięcia liter w nazwach w wierszach, numeracja *zagubiona* tj. rozdział 5 wnioski 7 bez pkt 6, potem, poprowadzenie dyskusji przed wnioskami zwykle pozwala na korzystniejsze ich formułowanie, stad usytuowanie dyskusji zwykle jest przed wnioskami, literówki

Podsumowanie

Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska lekarza Agnieszki Mianowskiej odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 14.03.2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U.z 2017r., poz.1789) z późniejszymi zmianami.

Wnoszę do Rady Naukowej Instytutu „ Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” o dopuszczenie lekarza Agnieszki Mianowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.