



Gdańsk 08.05.2023 r.

Prof. dr hab. n. med. Anna Liberek
Zakład Pielęgniarstwa Internistyczno-Pediatrycznego
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej
Gdański Uniwersytet Medyczny

Ocena rozprawy doktorskiej lek. Katarzyny Zdanowicz „Analiza stężeń wybranych adipokin i sfingolipidów w surowicy dzieci z kamicią żółciową” powstałej w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii, Żywienia, Alergologii i Pulmonologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku pod kierunkiem dr hab. n. med. Urszuli Daniluk.

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Zdanowicz dotyczy coraz częściej występującego/rozpoznawanego w populacji pediatrycznej problemu zdrowotnego jakim jest kamica żółciowa, która może dotyczyć dzieci w każdym wieku, a częstość jej występowania w ogólnej populacji pediatrycznej szacowana jest nawet do 3-4% z wyraźnym wzrostem w okresie dojrzewania. Uważa się, że u dzieci do głównych czynników mających wpływ na wzrost częstości rozpoznawania kamicy żółciowej należy narastające występowanie nadwagi czy otyłości, ale także powszechność wykonywania badania ultrasonograficznego jamy brzusznej. Jest to schorzenie, którego istotą jest tworzenie złogów w pęcherzyku żółciowym i/lub drogach żółciowych. Znanych jest szereg czynników predysponujących do w/w schorzenia. Wśród chorób, w których częściej występują złogi w pęcherzyku i/lub drogach żółciowych wymienia się m.in.: anemie hemolityczne, zespół Gilberta, nieswoiste zapalenia jelit, przewlekłe bądź nawracające zakażenia dróg żółciowych. Obserwacje kliniczne wskazują, że w populacji dorosłych powstawaniu kamieni żółciowych sprzyjają płeć żeńska, starszy wiek, otyłość trzewna czy stosowana dieta bogata w tłuszcze i cukry proste. Szereg czynników jatrogennych może mieć również wpływ na tworzenie złogów żółciowych m.in.: niektóre leki np. ceftriakson czy długotrwałe żywienie pozajelitowe. W ostatnim okresie zwraca się także uwagę na potencjalny wpływ mikrobioty jelitowej jako czynnika predysponującego. Natomiast wraz z rozwojem diagnostyki molekularnej stwierdzono, że także czynniki genetyczne w dużym stopniu mogą być odpowiedzialne za predyspozycję do występowania kamicy żółciowej. Dotychczas zidentyfikowano szereg mutacji współlistniejących z częstszym występowaniem tego schorzenia.

Jednak mimo zidentyfikowania szeregu czynników predysponujących do kamicy żółciowej, patomechanizm tej patologii nie został jednak jednoznacznie wyjaśniony.

Z powyższych względów uważam, że podjęcie przez lek. Katarzynę Zdanowicz badań mających na celu poszukiwanie innych, ewentualnych czynników sprzyjających rozwojowi kamicy żółciowej czy próby wyjaśnienia patogenezы schorzenia jest jak najbardziej uzasadnione i stanowi dojrzałą analizę tego zagadnienia.

Rozprawa doktorska lek. Katarzyny Zdanowicz jest cyklem spójnych tematycznie trzech publikacji, dwóch oryginalnych oraz jednej poglądowej, o łącznej punktacji IF -13,102, MNiSW – 380. W mojej ocenie cykl publikacji jest optymalną i godną uznania formą rozprawy doktorskiej. Dowodzi bowiem dojrzałości naukowej doktoranta, umiejętności przejścia przez wszystkie etapy związane z przygotowaniem pracy naukowej: planowanie badania, jego przeprowadzenie, wnikliwą analizę otrzymanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu do publikacji. Publikacja wyników badań Doktorantki w czasopiśmie naukowym, gdzie zostały one oddane procesowi recenzji, stanowi dodatkową gwarancję wartości naukowej prezentowanych badań. Należy wyraźnie podkreślić, że Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich prac stanowiących cykl. Do rozprawy załączone zostały oświadczenia wszystkich współautorów publikacji, z których jednoznacznie wynika, że udział Doktorantki w tych pracach był dominujący. Doktorantka uzyskała zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku na prowadzenie badań będących podstawą publikacji wchodzących w skład cyklu.

Przedstawiona do oceny dysertacja cechuje się układem typowym dla rozpraw doktorskich opierających się na cyklu publikacji. Została opatrzona spisem treści, streszczeniem w języku polskim i angielskim, obszernym Wstępem. Zasadniczą część stanowi wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską z obszernym ich omówieniem. Końcowy element rozprawy to podsumowanie i wnioski oraz wykaz aktualnego piśmiennictwa. Wartościowym elementem rozprawy jest objaśnienie zastosowanych w pracy skrótów, co ułatwia czytającemu na bieżąco identyfikowanie stosowanej w rozprawie terminologii. We Wstępie Doktorantka szczegółowo omówiła m.in.: epidemiologię, możliwe czynniki predysponujące do występowania kamicy żółciowej. W związku z tym, że do występowania kamicy żółciowej są zdecydowanie częściej predysponowane osoby (zarówno dorośli jak i dzieci) z nadwagą/otyłością, Doktorantka szeroko przeanalizowała rolę i ewentualny możliwy udział w patogenezie tej patologii hepatokin, sfingolipidów, a także adipokin będących efektem endokrynej aktywności tkanki tłuszczowej. Jest to tym bardziej uzasadnione, że publikacje wchodzące w skład cyklu skupiają się przede wszystkim na tych zagadnieniach. Natomiast wyniki dotychczasowych badań, przeprowadzonych głównie w populacji dorosłych z kamicy, są nieliczne i niejednoznaczne w swoich rezultatach. W związku z tym w zrozumiałe jest podjęcie badań oceniających stężenia wybranych adipokin, hepatokin lub sfingolipidów u populacji pediatrycznej z kamicy żółciową.

W konsekwencji Doktorantka w sposób przejrzysty i logiczny sformułowała cele badawcze:

- ocena stężeń chemeryny, waspiny, progranuliny, RBP-4, FGF21 oraz wybranych sfingolipidów (Cer, LacCer, Spa, Sph) u dzieci z kamicą żółciową w porównaniu do rówieśników bez kamicy żółciowej,
- analiza korelacji badanych markerów z parametrami antropometrycznymi oraz wybranymi wynikami badań biochemicznych krwi,
- analiza wieloczynnikowa wpływu stężenia badanych substancji po uwzględnieniu wieku, płci, obecności otyłości oraz poziomów trójglicerydów i cholesterolu całkowitego na obecność kamicy żółciowej u dzieci przy pomocy uogólnionego modelu liniowego.

Wyniki uzyskanych badań zostały przedstawione w dwóch pracach oryginalnych (Zdanowicz Katarzyna i wsp. *The role of chemerin in the pathogenesis of cholelithiasis in children and adolescents. Journal of Paediatric and Child Health* 2021; Zdanowicz Katarzyna i wsp. *Analysis of Sphingolipids in Pediatric Patients with Cholelithiasis—A Preliminary Study. Journal of Clinical Medicine* 2022).

Do badań były włączone dzieci z kamicą żółciową rozpoznaną na podstawie badania ultrasonograficznego jamy brzusznej, byli to pacjenci Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii, Żywienia, Alergologii i Pulmonologii Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, badania przeprowadzono w latach 2017-2018. Grupę kontrolną stanowiły dzieci, u których wykluczono schorzenia układu pokarmowego z prawidłowym wynikiem badania ultrasonograficznego jamy brzusznej.

W pracy opublikowanej w *Journal of Paediatric and Child Health* 2021 badaniem objęto 54 dzieci z kamicą żółciową oraz 26 dzieci stanowiących grupę kontrolną z prawidłowym BMI. W badanych grupach oznaczono wybrane parametry biochemiczne takie jak: aktywność ALT, GGT, stężenie bilirubiny całkowitej i jej frakcji związanej, profil lipidowy, oceniono metabolizm węglowodanów – stężenie glukozy i insuliny, wyliczono wskaźnik insulinooporności HOMA-IR. Natomiast na potrzeby badania wykonano pomiary stężenia chemeryny, waspiny, progranuliny, RBP-4 (*retinol binding protein-4*; białko wiążące retinol – 4) i FGF21 (*fibroblast growth factor 21*; czynnik wzrostu fibroblastów 21 w surowicy krwi).

Wykazano znamienne wyższe stężenie chemeryny, FGF21 i RBP-4 u pacjentów z kamicą żółciową w porównaniu do grupy kontrolnej. Następnie grupę badaną (dzieci z kamicą) podzielono na dwie podgrupy na podstawie wartości BMI. Ze względu na to, że nadmierna masa ciała jest czynnikiem ryzyka wystąpienia kamicy żółciowej oraz ma wpływ na wartości adipokin i hepatokin, szczegółowej analizie poddano grupę pacjentów z prawidłowym BMI, ale z kamicą żółciową.

Stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenie chemeryny w tej grupie badanych w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie obserwowano tej zależności porównując obie podgrupy badane (z kamicą żółciową z prawidłowym lub nadmiernym BMI), co wskazuje na wyższe stężenie chemeryny u pacjentów z kamicą żółciową jest niezależnie od masy ciała. Może to sugerować rolę tej adipokiny w rozwoju kamicy żółciowej u dzieci i młodzieży. Na podstawie w/w badań sformułowano wnioski, że konieczne są dalsze badania w tym zakresie, w celu

odpowiedzi na pytanie czy adipokiny i hepatokiny, szczególnie chemeryna, są czynnikami ryzyka wystąpienia kamicy żółciowej oraz czy ewentualne interwencje farmakologiczne (blokowanie syntezy wybranych cytokin) mogą stanowić wartościową opcję terapeutyczną.

W pracy opublikowanej w *Journal of Clinical Medicine* 2022 badaniem objęto 48 dzieci z kamicią żółciową, a 38 dzieci stanowiło grupę kontrolną dobraną pod względem wieku, płci oraz BMI. Dzieci były w wieku 1-17 lat. W analizowanych grupach dzieci oznaczono w surowicy parametry gospodarki lipidowej oraz oceniono stężenia wybranych sfingolipidów. Wykazano różnice istotne statystycznie między grupą badaną (kamica żółciowa) i grupą kontrolną w zarówno w zakresie niektórych wykładników gospodarki lipidowej (cholesterol całkowity) jak i szeregu sfingolipidów. Ponadto przeprowadzono korelacje między istotnymi statystycznie sfingolipidami, a parametrami antropometrycznymi oraz stężeniem cholesterolu całkowitego i trójglicerydów. Wykazano szereg istotnych dodatnich korelacji: BMI i C16:0-Cer, TG i C14:0-Cer, TG i C24:1-Cer, TG i C24:0-LacCer, TC i C14:0-Cer, TC i C16:0-Cer, TC i C24:1-LacCer, TC i C24:0-LacCer oraz ujemne korelacje BMI i C20:0-Cer, BMI i C24:1-Cer, TC i C18:1-LacCer. Przy wykorzystaniu krzywej ROC wykazano, że najlepsze wartości diagnostyczne uzyskano przede wszystkim dla C16:0-Cer, który pozwolił z 97.9% czułością oraz 100% swoistością odróżnić pacjentów z kamicią żółciową od grupy kontrolnej. Oznaczenie stężenia C14:0-Cer również istotnie różnicowało grupę badaną od kontrolnej - czułość 95.8%, swoistość 97.4%. Natomiast w analizie wieloczynnikowej wpływu stężenia sfingolipidów na obecność kamicy żółciowej u dzieci po uwzględnieniu wieku, płci, otyłości oraz poziomów trójglicerydów i cholesterolu całkowitego, odnotowano najlepsze wartości różnicujące w postaci obniżonych poziomów SPA, C14:0-Cer, C16:0-Cer, C24:1-LacCer, C24:0-LacCer i zwiększonych wartości C20:0-Cer, C24:1-Cer, C16:0-LacCer, C18:1-LacCer.

Nowatorski charakter badania polegał na tym, że jest to pierwsza publikacja analizująca wyniki oznaczeń poziomów sfingolipidów u pacjentów z kamicią żółciową. Na podstawie w/w badań sformułowano wnioski o ewentualnej możliwości zastosowania sfingolipidów jako potencjalnych markerów kamicy żółciowej, jednak potrzebne są dalsze badania w celu oceny praktycznej użyteczności pomiarów wybranych sfingolipidów jako markerów rozwoju kamicy żółciowej, zwłaszcza u zdrowych członków rodziny obciążonej rozwojem tej choroby.

Cenna jest zawarta w tej części pracy informacja o ograniczeniach z jakimi spotkała się Doktorantka w ramach realizacji powyższych badań. Dotyczy to głównie małej liczebności analizowanych grup chorych co mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki badań. Ponadto analizie nie poddano szeregu innych czynników (np. dieta, aktywność fizyczna) co również mogło mieć wpływ na rezultaty badań.

W kolejnej, poglądowej, pracy cyklu opublikowanej w *International Journal of Molecular Sciences* 2022 omówiono osiągnięcia na temat etiologii i patogenezы kamicy żółciowej u dzieci m.in. czynniki genetyczne, wpływ diety czy żywienia pozajelitowego oraz ewentualny udział mikrobioty jelitowej. Podkreślono też możliwość indukowania kamicy żółciowej

się kamieni żółciowych. Ponadto omówiono szereg jednostek chorobowych mogących predysponować do kamicy żółciowej.

Piśmiennictwo przedstawione w rozprawie zawiera 49 pozycji, przede wszystkim anglojęzycznych, w zdecydowanej większości pochodzących z ostatnich 10 lat. Ponadto w każdej z publikacji będących podstawą cyklu prac zamieszczono aktualne, nowoczesne piśmiennictwo dotyczące omawianych zagadnień.

Należy podkreślić, że problematyka przeprowadzonych przez Autorkę badań dostarczyła ważnych danych na temat ewentualnego udziału wybranych adipokin i sfingolipidów w surowicy dzieci z kamicy żółciową. Spostrzeżenia te mogą być wykorzystane przy formułowaniu wytycznych dotyczących dzieci z kamicy żółciową oraz ewentualnego zidentyfikowania grup ryzyka wystąpienia tego schorzenia.

Należy również podkreślić, że Doktorantka posiada łączny bogaty dorobek naukowy, przede wszystkim z zakresu gastroenterologii dziecięcej – opublikowała łącznie 20 prac pełnotekstowych – IF – 45,094, punktacja MNiSW - 1580.

W podsumowaniu, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. Katarzyny Zdanowicz pt. „**Analiza stężeń wybranych adipokin i sfingolipidów w surowicy dzieci z kamicy żółciową**” będąca cyklem prac opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, **spełnia wymagania stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora nauk medycznych** określonym w **Ustawie z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2023 r. poz. 742)**.

W związku z tym wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Katarzyny Zdanowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na nowatorski charakter publikacji wchodzących w skład cyklu wnioskuję o wyróżnienie.

Prof. dr hab. n. med. Anna Liberek

