

Warszawa 30.06.2020r

Dr hab. n. med. Grzegorz Oracz, prof. IP CZD, prof. CMKP  
Kierownik Katedry Gastroenterologii Dziecięcej CMKP  
Klinika Gastroenterologii, Hepatologii, Zaburzeń Odżywiania i Pediatrii  
Instytut "Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka"  
Al. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warszawa

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ LEKARZ BARBARY WŁODARCZYK  
Zatytułowanej: „**Poszukiwanie przyczyn powstawania zaburzeń endokrywnych  
u chorych z rakiem trzustki i przewlekłym zapaleniem trzustki.**”

Gruczolakorak przewodowy trzustki jest nowotworem o bardzo złym rokowaniu, zajmującym 4-5 miejsce pod względem śmiertelności na nowotwory złośliwe na świecie. Zarówno w Polsce jak i na świecie obserwuje się stały wzrost zachorowań na raka trzustki. Co roku odnotowuje się blisko 350 tysięcy nowych przypadków raka. Cechuje się on wysoką złośliwością, szybkim wzrostem miejscowym i tworzeniem odległych przerzutów. Ze względu na bezobjawowy przebieg, a co za tym idzie późne rozpoznanie choroby, a także oporność na stosowane leczenie, rak trzustki jest obecnie nowotworem o najniższej przeżywalności. Według aktualnych danych pięcioletnie przeżycie nie przekracza 1-2%. Według wielu analiz rozpoznawalność raka trzustki jest równa jego śmiertelności i jeśli nie nastąpi istotny postęp we wczesnej diagnostyce i leczeniu raka trzustki, w najbliższych latach będzie on stanowił 2. przyczynę śmiertelności spośród wszystkich nowotworów.

Przewlekłe zapalenie trzustki jest jednym z czynników ryzyka rozwoju raka trzustki. Badania epidemiologiczne dowodzą, że pacjenci z PZT mają 40 razy większą szansę na rozwój raka trzustki. W przebiegu przewlekłego zapalenia trzustki dochodzi do postępującego włóknienia mięszu trzustki z towarzyszącym zanikiem tkanki gruczołowej, co prowadzi do niewydolności zewnątrz- oraz wewnątrzwydzielniczej narządu. Od wielu lat prowadzone są liczne badania skupiające się na poszukiwaniu swoistego i czułego markera diagnostycznego i prognostycznego raka trzustki, jednak uzyskane wyniki nadal pozostają niezadowolające. W ostatnich latach podkreśla się, że

cukrzyca może być pierwszym objawem raka trzustki, a jej rozpoznanie stawiane jest w okresie od 2 do 3 lat przed rozpoznaniem raka trzustki. Co istotne, podkreśla się, że cukrzyca pojawia się na etapie, gdy rak trzustki nie daje innych objawów klinicznych i jest całkowicie resekcyjny. Niestety w chwili obecnej nie są jednak dostępne proste testy diagnostyczne, które umożliwiłyby różnicowanie cukrzycy trzustkowej rozwijającej się w przebiegu raka trzustki od cukrzycy typu 2. Zdecydowaną większość chorych z cukrzycą trzustkową stanowią pacjenci z rozpoznaniem przewlekłego zapalenia trzustki. Jednak to rak trzustki jest drugą, co do częstości przyczyną wystąpienia zaburzeń endokrynych w przebiegu chorób części zewnątrzwydzielniczej trzustki.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska w formie cyklu publikacji poświęcona jest ocenie przyczyn powstawania zaburzeń endokrynych u chorych z rakiem trzustki i przewlekłym zapaleniem trzustki.

Praca Doktorska porusza istotny i co ważne powszechny problem zdrowotny, jak i socjoekonomiczny, jakim jest rak trzustki. Przyczyny powstawania cukrzycy w przebiegu chorób trzustki nie zostały dotychczas w pełni wyjaśnione. Dotychczasowe badania dowodzą, że mechanizmy powstawania zaburzeń endokrynych w przewlekłym zapaleniu trzustki i w raku gruczołowym trzustki różnią się od siebie. Istotną rolę w rozwoju zaburzeń endokrynych w przebiegu raka trzustki odgrywa oś IGF, w tym przede wszystkim białko IGF-1 oraz IGFBP-2. Kolejną grupą białek umożliwiającą wczesne wykrycie raka trzustki są lipokaliny, w tym w szczególności adipokina RBP-4. W przedstawionym mi do oceny cyklu publikacji właśnie na roli powyższych białek skupiła się Doktorantka.

Rozprawa doktorska zbudowana jest w układzie typowym, zgodnie z wymaganiami stawianymi takiej pracy jako cyklowi publikacji.

Rozprawa doktorska obejmuje wraz z piśmiennictwem, streszczeniem, rycinami i tabelami 65 stron wydruku komputerowego. Na cykl publikacji składają się 3 prace oryginalne, w tym dwie opublikowane w pismach z IF, oraz jednej pracy pogładowej, również opublikowanej w piśmie z IF. Należy podkreślić świetne edytorskie opracowanie artykułów (wszystkie prace są w języku angielskim, język pracy jest zrozumiały, jasny- pomimo trudnego tematu). Układ pracy doktorskiej jest prawidłowy.

W obszernym wstępie Doktorantka szeroko opisała epidemiologię i etiopatogenezę raka trzustki oraz przewlekłego zapalenia trzustki. Szczegółowo omówiła też częstość występowania i mechanizmy powstawania cukrzycy zarówno w przebiegu przewlekłego zapalenia trzustki, jak i raka trzustki. Autorka przybliżyła również czytelnikowi mechanizmy wzajemnych oddziaływań w osi IGF. Rozdział ten wyczerpująco przedstawia informacje i najnowsze osiągnięcia w tej dziedzinie.

Następnie Doktorantka przejrzysto uzasadnia przyczynę podjęcia tematu i nakreśla cele swojego badania obejmujące:

1. Ocena rodzaju i czasu trwania zaburzeń funkcji endokrynnej u pacjentów z przewlekłym zapaleniem trzustki i rakiem gruczołowym trzustki.
2. Ocena stężeń insulinopodobnego czynnika wzrostu typu 1 (IGF-1), białka wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu 2 (IGFBP-2) oraz białka wiążącego retinol 4 (RBP-4) w surowicy krwi pacjentów z przewlekłym zapaleniem trzustki i nowo rozpoznany rakiem gruczołowym trzustki.
3. Poszukiwanie korelacji pomiędzy stężeniami IGF-1 i IGFBP-2 w surowicy krwi chorych z przewlekłym zapaleniem trzustki i nowo rozpoznany rakiem gruczołowym trzustki a długotrwałą i świeżo rozpoznana cukrzyca.
4. Ocena użyteczności diagnostycznej ilorazu IGF-1/IGFBP-2 we wczesnym wykrywaniu raka gruczołowego trzustki.

Przedstawione powyżej cele Doktor Włodarczyk zrealizowała poprzez analizę oceny poziomów stężeń IGF-1, IGFBP-2 oraz RBP-4 w surowicy pacjentów z nowo rozpoznany rakiem gruczołowym trzustki, przewlekłym zapaleniem trzustki oraz wśród osób zdrowych stanowiących grupę kontrolną. Dokonano również oceny poziomu tych białek w aspekcie współwystępowania cukrzycy.

Zaprojektowanie metodologii pracy, jak i jej skrupulatne wykonanie przez Doktorantkę wymaga uznania. Konsekwencją tak szczegółowego opracowania jest duża wartość poznawcza projektu. W efekcie powstał cykl publikacji, co tylko i wyłącznie zwiększa wartość badawczą Pracy Doktorskiej. Liczne Ryciny i Tabele zamieszczone w publikacjach przejrzysto ilustrują wyniki pracy. Wszystkie prace zostały opublikowane w recenzowanych, uznanych czasopismach, więc trudno Recenzentowi ponownie

oceniać merytorycznie już jak najbardziej pozytywnie ocenione prace. Skupię się więc tylko na wartości poznawczej badań.

Pierwsza z cyklu to praca pogładowa opublikowana w *Journal of Clinical Gastroenterology* (IF-2.724). Równie dobrze mogłaby być ona wstępem do Pracy Doktorskiej. W publikacji Doktorantka wyjaśnia czytelnikom potencjalną rolę osi IGF we wczesnej diagnostyce raka gruczołowego trzustki.

W kolejnej pracy opublikowanej w *Pancreatology* (IF-3.629) Doktorantka oceniała stężenie IGF-1 oraz RBP-4 u chorych ze świeżo rozpoznany rakiem gruczołowym trzustki (43) oraz u pacjentów z PZT (39) i w grupie kontrolnej (10). Badanie to wykazało znamienne statystycznie wyższe stężenie IGF-1 u pacjentów z rakiem trzustki, przy braku różnicy w poziomie RBP-4. Co ciekawe u chorych z PZT i cukrzycą zaobserwowano niższe stężenie IGF-1, niż u chorych z samym PZT. Doktorantka podsumowuje pracę wnioskiem, że poziom IGF-1 może być przydatnym markerem do rozpoznawania raka trzustki we wczesnej jego fazie, przy braku użyteczności RBP-4 jako wczesnego markera.

Trzecia praca z cyklu została również opublikowana w *Journal of Clinical Gastroenterology* (IF-2.724). W pracy tej autorka podążyła ścieżką IGF-1 oraz dodatkowo skupiła się też na potencjalnej roli IGFBP-2 jako wczesnego markera raka trzustki. Poziom IGF-1 oraz IGFBP-2 zbadano u 69 chorych ze świeżo rozpoznany rakiem gruczołowym trzustki oraz u 20 zdrowych osób z grupy kontrolnej. W pracy tej autorka skupiła się na użyteczności diagnostycznej ilorazu IGF-1/IGFBP-2 we wczesnym wykrywaniu raka gruczołowego trzustki. Badanie wykazało, że iloraz  $\leq 0,85$  może być użytecznym parametrem w wykrywaniu wczesnego raka trzustki, o dość wysokiej czułości i swoistości.

Czwartą pracą z cyklu jest praca opublikowana w *Przeglądzie Gastroenterologicznym*. Badaniem objęto 83 pacjentów z PZT, 92 chorych z rakiem gruczołowym trzustki oraz 20 osób z grupy kontrolnej. Celem badania była ocena stężeń IGF-1 oraz IGFBP-2, z oceną poziomu tych białek w aspekcie współwystępowania cukrzycy. Analiza wyników wykazała, że zarówno IGF-1 oraz IGFBP-2 mogą być biomarkerami PZT i gruczolakoraka trzustki. Dodatkowo wydaje

się, że IGF-1 może być parametrem, który pozwoli odróżnić, czy cukrzyca trzustkowa jest wynikiem PZT, czy też jest pierwszym objawem raka trzustki.

We wszystkich pracach oryginalnych Doktorantka przeprowadziła obszerną i dojrzałą dyskusję opartą na uzyskanych przez siebie wynikach badań oraz kilkudziesięciu pozycjach piśmiennictwa. Doktorantka pokazuje doskonałą znajomość omawianej tematyki. Ponadto, umiejętnie interpretując wyniki, Autorka przedstawia ich interesujące i szerokie uzasadnienia.

Całość rozprawy zakończona jest podsumowaniem oraz właściwym sformułowaniem sześciu wniosków. Wstępne wyniki oznaczeń stężenia białka IGF-1 u pacjentów z rakiem gruczołowym trzustki wykazały podwyższone stężenie tego parametru w porównaniu z grupą kontrolną. W kolejnej ocenie obejmującej większą liczbę chorych stwierdzono jednak odwrotną tendencję. Wobec uzyskanych rozbieżnych wyników badań wskazana jest dalsza analiza powyższych zależności.

U pacjentów ze współistniejącą cukrzycą wykazano obniżenie poziomu białka IGF-1 w grupach chorych z przewlekłym zapaleniem trzustki i rakiem gruczołowym tego narządu.

Wyższe stężenia IGFBP-2 występują u chorych z PZT w porównaniu z rakiem gruczołowym trzustki. Autorka nie wykazała natomiast związku pomiędzy stężeniem IGFBP-2 a cukrzycą zarówno u chorych z CP jaki i PDAC, niezależnie od czasu trwania cukrzycy.

Na podkreślenie zasługuje wprowadzenie progowej wartości 0,85 dla ilorazu IGF-1/IGFBP-2, co skutkuje wysoką - 99% czułością i 97% swoistością w wykrywaniu raka trzustki. Przy założeniu takiego samego poziomu swoistości proponowany wskaźnik IGF-1/IGFBP-2 jest prawie dwukrotnie bardziej czuły w wykrywaniu PDAC niż oznaczenie samego poziomu IGFBP-2 i prawie dwudziestokrotnie bardziej czuły niż ocena wyłącznie stężenia IGF-1 w surowicy krwi.

Ostatnim wnioskiem sformułowanim przez Doktorantkę jest to, że oznaczenie lipokaliny RBP-4 w surowicy krwi pacjentów z przewlekłym zapaleniem trzustki i rakiem gruczołowym nie jest związane z występowaniem zaburzeń endokrynych w przebiegu tych chorób.

Załączone piśmiennictwo obejmuje 155 pozycji, przede wszystkim są to publikacje naukowe z ostatnich lat. Piśmiennictwo zostało wykorzystane w całej rozprawie w sposób wysoce racjonalny.

#### **WNIOSKI:**

Doktorantka w przedstawionej Rozprawie Doktorskiej prawidłowo sformułowała założenia, cele oraz należycie dobrała grupy badane i kontrolną.

Wyniki zostały sumiennie zgromadzone, zilustrowane szeregiem rycin, tabel i wykresów. Materiał został poddany analizie statystycznej za pomocą odpowiednio dobranych narzędzi statystycznych. Interpretacja wyników z dyskusją jest bardzo dobra, zakończona prawidłowymi wnioskami. Piśmiennictwo wybrano umiejętnie i wykorzystano następnie w dyskusji.

#### **Znaczenie pracy:**

Rozprawa doktorska stanowi podsumowanie badań dotyczących poszukiwania przyczyn zaburzeń endokrynnych występujących w przebiegu PZT i raka gruczołowego trzustki, w oparciu o ocenę białek osi IGF i adipokinę RBP-4. W ramach przeprowadzonych badań po raz pierwszy dokonano oceny korelacji poziomów białek IGF-1 i IGFBP-2 w PZT i raku trzustki oraz zbadano wartość diagnostyczną ilorazu IGF-1/IGFBP-2 jako potencjalnego, nowego wskaźnika przydatnego w wykrywaniu raka gruczołowego trzustki. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę wskazują na możliwość wykorzystania białek osi IGF w procesie diagnostycznym raka trzustki.

Kolejnym etapem obecnej pracy powinny być szersze, najlepiej wieloośrodkowe badania nad wykorzystaniem uzyskanych rezultatów w praktyce klinicznej. Doktorantka została niedawno zakwalifikowana do prowadzonego pod nadzorem European Pancreatic Club programu Pancreas 2000, przeznaczonego dla młodych, najlepiej rokujących pancreatologów z całej Europy. Moim zdaniem warto zaprezentować temat Pracy Doktorskiej na forum Pancreas 2000, ponieważ może on zainteresować pozostałych członków grupy. Jeżeli nawet część z tych wyników udałoby nam się wykorzystać we wcześniejszej diagnostyce różnicowej raka trzustki to efekt

tych badań byłby nie do oszacowania, pozwalając być może w przyszłości uratować wiele istnień ludzkich.

Podkreślenia wymaga fakt, że praca została wykonana w ośrodku o najwyższym doświadczeniu naukowym, pod okiem wybitnego nauczyciela jakim jest Pani Profesor Anita Gąsiorowska, a wyniki rozprawy doktorskiej Pani Doktor Włodarczyk miała zaszczyt przedstawiać na zjazdach Europejskiego Towarzystwa Pankreatologicznego w Toledo, Liverpoolu i Berlinie, a także na zjazdach DDW w Chicago i San Diego, na tym ostatnim otrzymując wyróżnienie za swoją pracę. Mogę więc tylko pozazdrościć Uniwersytetowi Medycznemu w Łodzi tak wybitnej Doktorantki, której jeżeli będzie się tak dalej rozwijać, wróżę dużą międzynarodową karierę naukową.

**Uwagi:**

Z obowiązku recenzenta, nie umniejszając wartości pracy, pragnę zwrócić uwagę na poniższe, bardziej techniczne elementy:

1. W wykazie skrótów nie wszystkie zastosowane skróty zostały wymienione (np. DEF, ENDPAC, czy IGF-1R)
2. Nazwy genów np. *PRSSI* piszemy kursywą.
3. W całej Rozprawie Doktorskiej Autorka używa skrótu CP, czyli chronic pancreatitis. Język polski ma świetny, codziennie używany odpowiednik - skrót PZT, czyli przewlekłe zapalenie trzustki, który to zalecam stosować pisząc po polsku.
4. W Rozprawie nie wspomniano, albo przy najmniej ja nie znalazłem, w jakich latach przeprowadzono badania, a może to być dla niektórych czytelników istotna informacja.
5. Cytując za Doktorantką „Celem wczesnego wykrycia zaburzeń endokrynnych trzustki amerykańscy i europejscy eksperci zgodnie z wytycznymi ESC (ang. *European Society of Cardiology*) zalecają oznaczanie stężenia poziomu hemoglobiny glikowanej (HbA1c), z punktem odcięcia 6,5%.” Pytanie, czy nie chodziło przypadkiem Autorce o EASD (European Association for the Study of Diabetes), a jeżeli nie, to proszę o wyjaśnienie, dlaczego to kardiologowie ustalają diabetologiczne wytyczne?
6. Czy pacjenci z rakiem trzustki oraz grupa kontrolna, u których oznaczano IGF-1, IGFBP-2 oraz RBP-4 w poszczególnych pracach z cyklu publikacji to te sama, tylko

stopniowo poszerzana grupa pacjentów, czy też są to zupełnie niezależne grupy chorych?

**Podsumowując, stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Barbary Włodarczyk zatytułowana: „Poszukiwanie przyczyn powstawania zaburzeń endokrynych u chorych z rakiem trzustki i przewlekłym zapaleniem trzustki.” odpowiada warunkom określonym w ustawie z dnia 14.03.2003r o stopniach naukowych i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz.595) z późniejszymi zmianami. Wnoszę do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarz Barbary Włodarczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Pragnę podkreślić dobry, sumiennie opracowany merytorycznie warsztat metodologiczny oraz dojrzałość opracowania naukowego, a także to, że Praca Doktorska to cykl świetnych publikacji, opublikowanych w wysoko punktowanych czasopismach międzynarodowym. **Tym samym też wnioskuję o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji Rozprawy Doktorskiej.**

Dr hab. n. med. Grzegorz Oracz, prof. IP CZD, prof. CMKP

**Warszawa, 30.06.2020r**



Prof. nadzw. dr hab. n. med.  
Grzegorz Oracz  
gastroenterolog, pediatra  
6195179