

Kraków, dnia 10 stycznia 2025 r.

RECENZENT

dr hab. n. med. Zbigniew Żuber, prof. nadzw.
Katedra Pediatrii Uniwersytetu Andrzeja Frycza-Modrzewskiego
Klinika Pediatrii i Reumatologii
Szpitala Dziecięcego św. Ludwika w Krakowie

**Recenzja rozprawy na stopień
doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki o zdrowiu
magister Aleksandry Kowalskiej**

**„Badania laboratoryjne w rozpoznaniu i monitorowaniu leczenia
młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów”**

Praca na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki o zdrowiu

Promotor: prof. dr hab. n. med. Andrzej Kurylak

**Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk o Zdrowiu Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy**

UNIWERSYTET MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNII
20. 02. 2025
Dziekanat Wydziału Nauk o Zdrowiu
L.dz.

Przedstawiona do recenzji praca Pani mgr Aleksandry Kowalskiej „Badania laboratoryjne w rozpoznaniu i monitorowaniu leczenia młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów”, ma charakter monograficznego opracowania, stanowi próbę rzetelnej oceny przydatności standardowych badań laboratoryjnych w procesie diagnostyki i leczenia najczęstszej artropatii wieku rozwojowego.

Celem pracy Autorka jest ocena wartości diagnostycznej wybranych parametrów laboratoryjnych (białko CRP, OB, morfologia krwi, AST, ALT, kreatynina, witamina D3, czynnik reumatoidalny RF, przeciwciała anti-CCP, przeciwciała przeciwjądrowe -ANA, badanie płynu stawowego) w rozpoznaniu i monitorowaniu leczenia młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów. Analizie poddano również częstość występowania markerów immunologicznych i genetycznych (przeciwciał anti-CCP, czynnika reumatoidalnego RF i przeciwciał przeciwjądrowych ANA, antygenu HLA-B27) w surowicy chorych z MIZS oraz korelację ich obecności/stężenia z postacią choroby oraz aktywnością procesu zapalnego.

Badanie przeprowadzono metodą analizy retrospektywnej dokumentacji medycznej pacjentów leczonych w Wojewódzkim Szpitalu Dziecięcym im. J. Brudzińskiego w Bydgoszczy w latach od 01 stycznia 2012 do 31 marca 2022 roku.

Głównym kryterium włączenia do badania było rozpoznanie młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów w oparciu o kryteria ILAR z 2001r.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy nr KB 219/2022.

Praca Doktorantki to analiza retrospektywna dokumentacji 403 pacjentów z wszystkimi postaciami klinicznymi MIZS, obejmowała ocenę wywiadu chorobowego, badania podmiotowego i przedmiotowego oraz analizę wyników badań laboratoryjnych: białka CRP, morfologii krwi (leukocytoza, poziom hemoglobiny, płytek krwi), badań biochemicznych (kreatynina, AST, ALT, witamina D3), badania OB, badań immunologicznych (czynnik reumatoidalny RF, przeciwciała przeciwjądrowe (ANA), przeciwciała przeciw cyklicznemu peptydowi cytrulinowanemu (anty-CCP), oraz antygenu HLA-B27.

Analizę wyników badań laboratoryjnych podzielono na 2 części, zgodnie z celem pracy. Pierwsza część, na etapie rozpoznania choroby, służy ocenie przydatności diagnostycznej badanych parametrów laboratoryjnych dla rozpoznania i różnicowania postaci MIZS, oraz ocenie częstości ich występowania i wzajemnej korelacji w poszczególnych typach MIZS.

Druga część pracy to analiza wybranych parametrów laboratoryjnych (morfologia krwi, CRP, OB, kreatynina, enzymy wątrobowe), przez okres 4 lat, w celu oceny bezpieczeństwa i skuteczności wdrożonego leczenia oraz monitorowania aktywności procesu chorobowego.

Analizowane wyniki badań laboratoryjnych wykonane były w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wojewódzkiego Szpitala Dziecięcego w Bydgoszczy:

Autorka przeprowadziła analizę statystyczną otrzymanych wyników, w analizie opisowej zastosowano tabele, w których przedstawiono średnią wraz z odchyleniem standardowym, graficzną interpretację tych danych zawarto w postaci wykresów

Uwagi ogólne dotyczące pracy doktorskiej.

Praca liczy 174 strony formatu A-4. Układ pracy jest czytelny, dobrze opracowany graficznie, typowy dla prac doktorskich. Praca zawiera 9 rozdziałów, poczynając od wstępu w którym Doktorantka przedstawia obszernie opis MIZS, obraz kliniczny, klasyfikację, opis i etiopatogenezę poszczególnych kategorii klinicznych oraz epidemiologię a także wpływ uwarunkowań genetycznych i czynników środowiskowych na postać kliniczną i przebieg choroby. Dalsza część wstępu to szeroko potraktowane zasady diagnostyki laboratoryjnej oraz przydatność różnych badań laboratoryjnych, w tym badań hematologicznych, biochemicznych, immunologicznych, genetycznych i serologicznych pomocnych w klasyfikacji pacjentów do poszczególnych kategorii MIZS, wykluczaniu innych chorób, ocenie aktywności choroby, zmian w obrębie narządów wewnętrznych oraz monitorowaniu bezpieczeństwa i skuteczności leczenia.

W kolejnym 3 rozdziale Doktorantka przedstawia cel pracy oraz kohortę pacjentów objętych analizą a także materiał i metody.

Dalsza część pracy, rozdział 4 jest trzonem dysertacji, w której obszernie przedstawiono uzyskane wyniki, wraz z ich szczegółowym zobrazowaniem w postaci licznych rycin (39) i tabel (82). W rozdziale 5 Autorka przedstawiła omówienie wyników oraz dyskusję. Streszczenie i abstract zamieszczono w końcowej części rozprawy, pracę zamykają: piśmiennictwo, wykaz skrótów, spis rycin, spis tabel oraz załączniki. Poszczególne rozdziały zostały ponumerowane, zapewniając dobrą przejrzystość pracy.

Uwagi odnoszące się do poszczególnych części rozprawy.

W rozdziale zatytułowanym „Wstęp”, Doktorantka przedstawiła obszernie opis zespołu chorobowego jakim jest MIZS, obraz kliniczny, klasyfikację, opis i etiopatogenezę poszczególnych kategorii klinicznych oraz epidemiologię a także wpływ uwarunkowań genetycznych i czynników środowiskowych na postać kliniczną i przebieg choroby. Dużą część wstępu to szeroko przedstawione zasady diagnostyki laboratoryjnej oraz przydatność różnych metod badań laboratoryjnych, w tym badań hematologicznych, biochemicznych, immunologicznych, genetycznych i serologicznych pomocnych w klasyfikacji pacjentów do poszczególnych kategorii MIZS, realizacji zasad wykluczania innych chorób a także ocenie aktywności choroby, zmian w obrębie narządów wewnętrznych oraz monitorowania bezpieczeństwa i skuteczności leczenia.

W rozdziale „Cel pracy” Doktorantka przedstawia zasadnicze problemy, które starała się opracować w swoich badaniach. Autorka oceniała wartość diagnostyczną wybranych parametrów laboratoryjnych (białko CRP, OB, morfologia krwi, AST, ALT, kreatynina, witamina D3, czynnik reumatoidalny RF, przeciwciała anti-CCP, przeciwciała przeciwjądrowe -ANA, badanie płynu stawowego) w rozpoznaniu i monitorowaniu leczenia młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów. Analizie poddano również częstość występowania markerów immunologicznych i genetycznych (przeciwciał anti-CCP, czynnika reumatoidalnego RF i przeciwciał przeciwjądrowych ANA, antygenu HLA-B27) w surowicy chorych z MIZS oraz korelację ich obecności/stężenia z postacią choroby oraz aktywnością procesu zapalnego.

Szczegółowy, sformalizowany cel pracy został sformułowany w postaci 3 zagadnień:

1. Ocena wartości diagnostycznej wybranych badań laboratoryjnych: białko CRP, parametry morfologii krwi, kreatynina, AST, ALT, witamina D3, OB, czynnik reumatoidalny RF, przeciwciała anti-CCP, przeciwciała przeciwjądrowe (ANA), badanie płynu stawowego w rozpoznaniu i monitorowaniu leczenia młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów.
- 2..Ocena częstości występowania markerów immunologicznych i genetycznych: przeciwciał anti-CCP, czynnika reumatoidalnego RF i przeciwciał przeciwjądrowych ANA, antygenu HLA-B27 w surowicy krwi chorych z MIZS.
- 3..Analiza korelacji ich obecności/stężenia z postacią choroby i aktywnością procesu reumatoidalnego.

W dalszej części dysertacji Autorka przedstawiła metodykę swojej pracy, ocenę wyników retrospektywnej analizy dokumentacji medycznej pacjentów leczonych w Wojewódzkim

Szpitalu Dziecięcym im. J. Brudzińskiego w Bydgoszczy w latach od 01 stycznia 2012 do 31 marca 2022 roku.

Badaniem objęto 403 pacjentów (246 płci żeńskiej i 157 płci męskiej), podzielonych zgodnie z kategoriami MIZS. Badanie obejmowało ocenę wywiadu chorobowego, badania podmiotowego i przedmiotowego oraz wyników badań laboratoryjnych: białka CRP, morfologii krwi (leukocytoza, poziom hemoglobiny, płytek krwi), badań biochemicznych (kreatynina, AST, ALT, witamina D3), badania OB, badań immunologicznych (czynnik reumatoidalny RF, przeciwciała przeciwjądrowe (ANA), przeciwciała przeciw cyklicznemu peptydowi cytrulinowanemu (anty-CCP), oraz antygenu HLA-B27.

Analizę wyników badań laboratoryjnych podzielono na 2 części. Pierwsza, na etapie rozpoznania choroby, służyła ocenie przydatności diagnostycznej badanych parametrów laboratoryjnych dla rozpoznania i różnicowania postaci MIZS, oraz ocenie częstości ich występowania i znaczenia w poszczególnych kategoriach MIZS.

Druga część to analiza wybranych parametrów laboratoryjnych (morfologia krwi, CRP, OB, kreatynina, enzymy wątrobowe: AST, ALT), przez okres 2 lat, w celu oceny bezpieczeństwa i skuteczności wdrożonego leczenia oraz monitorowania aktywności procesu chorobowego.

Kolejna część pracy doktorskiej to obszernie omówienie wyników oraz dyskusja. Analiza markerów reakcji zapalnej (CRP, OB, WBC, HGB, PLT) w czasie rozpoznania choroby wykazała istotnie wyższe wartości u pacjentów z MIZS o początku uogólnionym.

Podwyższone wartości CRP, OB, WBC i PLT zaobserwowano również u znacznego odsetka chorych z postacią wielostawową sero-dodatnią. Pacjenci z postacią skąpostawową wykazywali prawidłowe lub nieznacznie podwyższone wyniki wskaźników zapalnych.

Układowym chorobom tkanki łącznej towarzyszą objawy hematologiczne. Łagodną niedokrwistość, znaczną leukocytozę i nadpłytkowość obserwowano głównie u pacjentów z postacią układową MIZS i wielostawową serododatnią.

Częstość występowania czynnika RF u badanych była niska (2,6%). Obecność wykazano u wszystkich pacjentów z podtypem wielostawowym sero-dodatnim i 2,1 % chorych z postacią skąpostawową. Obiecującym markerem serologicznym MIZS są autoprzeciwciała przeciw cytrulinowanym białkom lub peptydom. Wśród badanych pacjentów wykryto je we wszystkich kategoriach MIZS z różną częstością. Anty -CCP- dodatni byli wszyscy chorzy z MIZS wielostawowym RF-dodatnim, 21,4% pacjentów z ŁZS, 13,9% z podtypem wielostawowym RF-ujemnym, 11,1 % badanych z ERA, 10,9% z N-MIZS i najmniej, bo 8,3% dzieci z U-MIZS.

ANA, zwykle w niskich mianach, wykazano u 63,7% badanych. Obecność tych przeciwciał stanowiła istotny czynnik ryzyka zajęcia procesem zapalnym narządu wzroku, głównie u pacjentów płci żeńskiej.

Obecność antygeny HLA-B27 związana była z postaciami ERA (77,8%) i ŁZS (38,5%) i płcią męską. Średnie wartości witaminy D dla wszystkich podtypów MIZS zawierały się w zakresie od 20 ng/ml do 30 ng/ml, odpowiadającemu hipowitaminozie.

U 70 pacjentów wykonano badanie płynu stawowego, który wykazywał cechy płynu zapalnego. Dla potrzeb prezentowanej analizy, monitorowanie aktywności procesu chorobowego i ocenę bezpieczeństwa wdrożonego leczenia, przeprowadzono przez okres 24 miesięcy od momentu rozpoznania choroby. Pacjenci leczeni byli klasycznymi syntetycznymi LMPCh w monoterapii lub w skojarzeniu z glikokortykosteroidami.

Najliczniejszą grupę stanowili pacjenci z umiarkowaną aktywnością choroby (MDA) - 83,10%, następnie z wysoką aktywnością choroby (HDA) - 14,25%, tylko 2,64% prezentowało niską aktywność MIZS.

Laboratoryjnymi markerami oceniającymi aktywność procesu zapalnego u pacjentów z MIZS w prezentowanej pracy były: białko CRP, OB oraz parametry morfologii krwi: WBC, HGB, PLT, oznaczane podczas kolejnych wizyt w poradni reumatologicznej. Najwyższe markery reakcji zapalnej (CRP, OB) w momencie rozpoznania choroby odnotowano u chorych z postacią uogólnioną (109,87 ng/l i 63,32), natomiast najniższe w postaci skąpostawowej (7,20 ng/l i 17,17). Największą dynamikę zmian stężenia zarówno CRP, jak i OB stwierdzono w pierwszych 3 miesiącach obserwacji. Normalizację średnich wartości tych parametrów laboratoryjnych, odnotowano najszybciej w podtypie skąpostawowym, w przypadku CRP w 3 miesiącu, a OB w pierwszym miesiącu po rozpoczęciu leczenia. U pacjentów z U-MIZS, proces ten trwał dłużej i wynosił dla CRP 15 miesięcy, a dla OB 9 miesięcy.

W 24 miesiącu obserwacji średnie wartości obu markerów zapalnych zawierały się w zakresach obowiązujących norm u chorych z wszystkimi kategoriami MIZS.

Zmniejszenie aktywności choroby zostało potwierdzone również spadkiem poziomu leukocytów i płytek krwi oraz wzrostem stężenia hemoglobiny we krwi u wszystkich chorych z MIZS w trakcie farmakoterapii. U kilku pacjentów prezentowanej pracy obserwowano przejściowy wzrost enzymów wątrobowych (AST, ALT), podczas stosowania MTX. W całym okresie obserwacji chorzy wykazywali prawidłowy poziom kreatyniny.

Podsumowanie pracy zostało zawarte w rozdziale 6, Pani mgr na podstawie uzyskanych wyników, wykonanej pracy badawczej, zgodnie z dostępną literaturą, wysunęła następujące wnioski:

1. Przeciwciała anti-CCP i czynnik RF są markerami potwierdzającymi postać wielostawową RF-dodatnią MIZS. Ze względu na autozapalny charakter postaci układowej MIZS, markery serologiczne: czynnik reumatoidalny (RF) i przeciwciała przeciw cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anti-CCP) mają małą wartość diagnostyczną dla tego podtypu MIZS. Antygen HLA-B27 jest użytecznym biomarkerem genetycznym wspomagającym rozpoznanie zapalenia stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien (ERA) i łuszczykowego zapalenia stawów (ŁZS).
2. Przeciwciała przeciwjądrowe ANA istotnie częściej występują w postaci skąpostawowej MIZS. Przeciwciała ANA są ważnym czynnikiem ryzyka wystąpienia powikłań MIZS w postaci zapalenia błony naczyniowej oka.
3. Wskaźniki procesu zapalnego: białko CRP, OB, parametry morfologii krwi stanowią rzeczywisty marker aktywności choroby w postaci uogólnionej i wielostawowej sero – dodatniej MIZS. Ocena aktywności choroby przy zastosowaniu wskaźników reakcji zapalnej (CRP, OB) w 3 miesiącu leczenia koreluje z poprawą kliniczną i jest zgodna z koncepcją strategii „treat-to-target”, która zakłada pierwszą ocenę efektywności wprowadzonego leczenia po 3 miesiącu terapii. Normalizacja wyników markerów stanu zapalnego (CRP, OB) zachodzi wcześniej, niż zostaną spełnione kliniczne kryteria remisji choroby. Białko CRP jest lepszym i stabilniejszym niż OB markerem, odzwierciedlającym aktywność procesu zapalnego w MIZS.

Czytając przedstawioną do recenzji pracę mogę stwierdzić, że Doktorantka wykazała się z wystarczającą znajomością omawianego zagadnienia.

Przedstawione i cytowane piśmiennictwo obejmuje 224 pozycji, jest dobrane prawidłowo i potwierdza znajomość tematyki pracy przez Panią mgr Aleksandrę Kowalską.

Rolą recenzenta jest również ocena języka pracy doktorskiej, dość przejrzyste przedstawienie złożonej tematycznie pracy stanowi o jej wartości pozamerytorycznej. Dbalność o język polski zarówno w pracach naukowych, jak i w codziennym zastosowaniu jest ważnym aspektem każdej pracy podanej do publicznej wiadomości, warto docenić dobrą jakość pracy Doktorantki także w tym zakresie.

PODSUMOWANIE RECENZJI

Merytoryczną ocenę rozprawy doktorskiej podsumowuję pozytywnie, dysertacja stanowi pewien wkład w podniesienie wiedzy na temat znaczenia badań laboratoryjnych w rozpoznawaniu, leczeniu i monitorowaniu dzieci chorujących na MIZS. Wkład autorki w przeprowadzone wnikliwie badania oraz szczegółowa analiza wyników oraz przedstawione wnioski świadczą o dobrej jakości pracy Autorki. Wysiłek włożony przez Panią mgr w powstanie tej dysertacji powinien być doceniony.

W poszczególnych fragmentach pracy widoczne jest zaangażowanie Doktorantki. Praca przedstawia znane obserwacje naukowe, wyniki i wnioski nie różnią się od doniesień naukowych w tej dziedzinie. Praca napisana jest w sposób poprawny, przystępny i przejrzysty, dobrze oddając intencje autorki. Całościowo, zarówno praca, jak również użyty język przekazu odpowiadają wymaganiom stawianym tekstom naukowym.

Rozprawa doktorska Pani mgr Aleksandry Kowalskiej spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.)”.

W mojej opinii praca przygotowana przez Doktorantkę Panią mgr Aleksandrę Kowalską, spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim, **pracę oceniam dobrze.**

Zwracam się do Szanownego Pana Przewodniczącego i Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Kowalskiej do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych.

Z wyrazami szacunku Zbigniew Żuber

W. O. POLSKIE CENTRUM PEDIATRII
 ul. św. Ludwika w Krakowie
 KRAKÓW 31-111-99-459, MOW NFZ 061/100001
 Z. O. POLSKIE CENTRUM PEDIATRII
 II ODDZIAŁ KLINICZNY PEDIATRII, REUMATOLOGII
 I ODDZIAŁ KLINICZNY ALERGologii VII-09y, VIII-4401
 ul. Strzelecka 2, tel. 12 619 46 00
 31-11-99-459, REGON 00029858300037

Prof. nadzw. dr hab. n. med. Zbigniew Żuber
 KIEROWNIK
 II ODDZIAŁ KLINICZNY PEDIATRII, REUMATOLOGII
 Z PODODDZIAŁEM ALERGologii