

Łódź, 27.09.2024r.

Dr hab. n. med. Joanna Lipińska
Klinika Kardiologii i Reumatologii Dziecięcej
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych**mgr Aleksandry Kowalskiej*****Badania laboratoryjne w rozpoznawaniu i monitorowaniu leczenia
młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów***

Pomimo ogromnego postępu w diagnostyce i terapii, który dokonał się w ciągu ostatnich lat, młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów nadal jest przyczyną pogorszenia jakości życia i niepełnosprawności. Niestety, mimo prowadzonych od lat licznych badań etiopatogeneza MIZS wciąż stanowi zagadkę. Różnorodność obrazu klinicznego, zwłaszcza we wczesnej fazie choroby stwarza problemy diagnostyczne. Z uwagi na brak swoistych markerów, rozpoznanie stawia się nadal w oparciu o obraz kliniczny, po wykluczeniu innych częstszych przyczyn zapaleń stawów, przy wsparciu badań laboratoryjnych, a w tym immunologicznych. Wciąż poszukuje się markerów serologicznych, które byłyby swoiste a przy tym czułe dla MIZS, ale z uwagi na heterogenny przebieg choroby jest to trudne. Stąd, rola badań laboratoryjnych w procesie diagnostycznym, a następnie również monitorowaniu i ocenie skuteczności leczenia dzieci z MIZS jest niezwykle ważna.

Dlatego, temat rozprawy na stopień doktora nauk medycznych mgr Aleksandry Kowalskiej uważam za aktualny i mający istotne znaczenie kliniczne.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska zatytułowana „Badania laboratoryjne w rozpoznawaniu i monitorowaniu leczenia młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów” przygotowana pod kierunkiem Prof. dr hab. n. med. Andrzeja Kurylaka na Wydziale Nauk o Zdrowiu Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, ma układ typowy dla rozpraw doktorskich. Praca liczy ogółem 174 stron druku. Składa się z Wykazu skrótów, Wstępu, Celów

Pracy, sekcji Pacjenci i Metodyka Badań, Wyników, Omówienia Wyników i Dyskusji oraz Wniosków, Streszczenia w języku polskim i angielskim, Piśmiennictwa (aż 224 pozycje literaturowe), oraz Spisu Tabel i Rycin. Autorka umieściła w pracy 82 tabele oraz 39 starannie wykonanych rycin.

We Wstępie liczącym 32 strony, Doktorantka w sposób wyczerpujący i zrozumiały opisuje stan aktualnej wiedzy o młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów. Autorka, podkreśla, że MIZS jest chorobą heterogenną, a aktualnie obowiązująca klasyfikacja nie jest idealna i trwają prace nad jej zmianą. Krok po kroku wprowadza czytającego w charakterystykę poszczególnych typów klinicznych MIZS, co biorąc pod uwagę, że mgr Aleksandra Kowalska nie jest z wykształcenia lekarzem zasługuje na szczególne uznanie.

Przy opisach postaci MIZS pojawiają się co prawda pewne niejasności, np.: przy charakterystyce postaci układowej MIZS, że jest to „najczęstsza” postać kliniczna MIZS o odrębnej etiopatogenezie. Prawdopodobnie, chodziło o to, że jest ona zaliczana do chorób autozapalnych, ale najczęstszą postacią MIZS jest postać skąpostawowa. Przy charakterystyce kolejnych postaci MIZS też spotykamy pewne nieścisłości, np.: w postaci skąpostawowej obserwujemy dwa szczyty zachorowań w wieku wczesno dziecięcym i potem, nastoletnim, natomiast, symetryczne zmiany w stawach, najczęściej rąk, występują w postaci wielostawowej seropozytywnej, a uszkodzenia w stawach kciuków są mało miarodajne w przebiegu procesu reumatoidalnego, gdyż jest tu najwięcej zmian zwyrodnieniowych. Z kolei guzki reumatoidalne aktualnie obserwujemy u dzieci z MIZS sporadycznie, gdyż jest to objaw późnego procesu reumatoidalnego. Wymienione powikłania przy postaci wielostawowej seropozytywnej MIZS to także raczej kazuistyka w populacji dzieci. Kolejny opisywany podtyp to młodzieńcze łuszcycowe zapalenie stawów i tej nazwy należałoby tu użyć zamiast: łuszcycowe zapalenie stawów. *Dactylitis* czyli palce kiełbaskowate są związane z obrzękiem nie tylko stawów, ale także tkanek miękkich palców. W MIZS-ERA należałoby podkreślić, że obok zapalenia przyczepów ścięgien, charakterystycznym objawem jest zapalny ból krzyża, a markerem tych ostatnich dwóch podtypów jest antygen HLA-B27.

W podrozdziale: Leczenie MIZS, na Rycinie 2, str. 26 przy wyliczaniu leków modyfikujących przebieg choroby metotreksat powinien być wymieniony jako pierwszy

z uwagi na to, że jest złotym standardem w leczeniu procesu reumatoidalnego. Z kolei glikokortykosteroidy, według najnowszych rekomendacji, powinny być stosowane najwyżej 3 miesiące – str. 27. Przy omawianiu wskaźników procesu zapalnego pominięto OB, które jest niezwykle cennym wykładnikiem przewlekłości procesu zapalnego. Podsumowując podrozdział dotyczący autooprzeciwciał należy zaznaczyć, że tzw. „minimalny profil” diagnostyczny dla MIZS, oprócz RF i przeciwciał anti-CCP, które prognozują destrukcyjny przebieg procesu reumatoidalnego, powinien również obejmować przeciwciała ANA, które są czynnikiem ryzyka przewlekłego zapalenia przedniego odcinka gałki ocznej – ang. „uveitis”. W pierwszym etapie rekomendowane jest wykonanie badania ANA 2 (bardziej niż ANA 1) – określimy wówczas miano przeciwciał i typ immunofluorescencji - w MIZS najczęściej obserwujemy plamisty typ świecenia, a następnie, kiedy przeciwciała są dodatnie - profil ANA 3, w którym poszukujemy przeciwciał antygenowoswoistych, charakterystycznych dla konkretnych jednostek chorobowych. Warto zaznaczyć, że niskie miana nie są znaczące klinicznie. Autorka wymienia inne przeciwciała, które były badane w MIZS i wspomina też przeciwciała antykolagenowe, ale nie podaje czy w MIZS też były prowadzone badania.

Na stronie 19 po opisie postaci niezróżnicowanej MIZS, należałoby kolejną myśl rozpocząć od akapitu podobnie, jak w kilku następnych miejscach, np.: str. 42.

Tę część pracy oceniam jednak wysoko i według mnie, po uwzględnieniu powyższych uwag, mogłaby stanowić materiał na odrębną publikację poglądową.

Głównym celem pracy mgr Aleksandry Kowalskiej była:

1. Ocena wartości diagnostycznej wybranych badań laboratoryjnych: białka CRP, parametrów morfologii krwi, kreatyniny, AST, ALT, witaminy D3, OB, RF, przeciwciał anti-CCP, ANA, badania płynu stawowego w rozpoznawaniu i monitorowaniu leczenia MIZS
2. Ocena częstości występowania markerów immunologicznych i genetycznych: przeciwciał anti-CCP, ANA, RF, antygenu HLA-B27 (pominięto w opracowaniu antygen HLA-Cw06) w surowicy krwi chorych z MIZS
3. Analiza korelacji ich obecności/stężenia z postacią choroby i aktywnością procesu reumatoidalnego

Badanie przeprowadzone przez mgr. Aleksandrę Kowalską jest retrospektywną analizą danych uzyskanych ze szpitalnej bazy pacjentów pediatrycznych leczonych w Wojewódzkim Szpitalu Dziecięcym im. J. Brudzińskiego w Bydgoszczy, w okresie 1.01.2012 – 31.03.2022r. – czyli ponad 10 lat. Badania laboratoryjne u 403 dzieci z MIZS były wykonywane w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wojewódzkiego Szpitala Dziecięcego w Bydgoszczy.

Na przeprowadzenie projektu mgr Aleksandra Kowalska uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy (nr zgody: KB 219/2022).

W rozdziale Pacjenci i Metodyka Badań, Doktorantka wyjaśnia, że badania były analizowane na etapie rozpoznania choroby, a następnie w celu oceny bezpieczeństwa i skuteczności leczenia przez okres 4 lat? - str. 50 czy 24 miesięcy – tu jest pewna niejasność, przedstawia metody stosowane w oznaczaniu wybranych parametrów (metoda lateksowa do oznaczania czynnika reumatoidalnego jest dość stara) oraz wartości referencyjne. W mojej ocenie niepotrzebnie powtarzane są informacje zawarte w tekście, w tabelach i na rycinach.

Opis metod statystycznych jest zwięzły i poprawny, chociaż Autorka mogłaby się pokusić o szersze omówienie.

W rozdziale Wyniki liczącym 42 strony Doktorantka prezentuje rezultaty przeprowadzonych badań. Podobnie, jak w dostępnym piśmiennictwie, w grupie badanej jest zbliżony rozkład postaci MIZS, wieku i płci pacjentów. Analiza badań została podzielona na część dotyczącą badań pomocnych w rozpoznaniu i różnicowaniu MIZS oraz część oceniającą skuteczność leczenia i jego bezpieczeństwo.

Generalnie, uzyskane wyniki potwierdziły ugruntowaną w piśmiennictwie wartość wybranych parametrów w MIZS i zależności pomiędzy nimi. Nadal poszukiwane są markery, które pomogłyby w różnicowaniu i szybkim rozpoznaniu MIZS. Nie do końca zgadzam się z podsumowaniem przedstawionym w Dyskusji, że CRP ma przewagę w diagnostyce MIZS nad OB. CRP to, jak mgr Aleksandra Kowalczyk słusznie zauważa, dynamicznie zmieniający się parametr i bywa, że jego stężenie mieści się w granicach wartości referencyjnych lub jest nieco podwyższone u

pacjentów z MIZS, a szczególnie u tych z postacią najczęstszą - skąpostawową, a właśnie przyspieszone OB świadczy o przewlekłości procesu i jest bardziej pomocne w monitorowaniu aktywności choroby. Trudno też dyskutować o zmianach wartości OB związanych z wiekiem – wiadomo, że narasta ono w zaawansowanym wieku, ale tu badanie dotyczy dzieci. Należałoby też unikać określeń: u „kobiet” i „mężczyzn”, jeśli odnosimy się do grupy wieku rozwojowego. W rutynowej diagnostyce MIZS stosuje się coraz więcej wskaźników zapalenia, chociażby ocena stężenia kalprotektyny, które weszło do standardowego panelu badań. Jednym z wykładników aktywnego zapalenia jest też niedokrwistość chorób przewlekłych, która właśnie wpływa na wartość OB. Czynnikiem reumatoidalnym jak słusznie zauważa mgr. Aleksandra Kowalczyk jest mało swoistym autooprzeciwiałem, ale prognozuje bardziej destrukcyjny przebieg procesu reumatoidalnego, z kolei przeciwciała anti-CCP również zwiastują erozyjny przebieg choroby, a ich obecność w surowicy na kilka lat może wyprzedzać objawy kliniczne. Oba te markery od wielu już lat są oznaczane w rutynowej diagnostyce MIZS. Niepotrzebne wydaje się podkreślanie, że u pacjentów z wielostawowym seropozytywnym podtypem MIZS wykryto czynnik reumatoidalny, co jest istotą tej postaci. Obserwacje Doktorantki dotyczące przeciwciał przeciwdądrowych potwierdzają także liczne publikacje - jest to czynnik ryzyka wystąpienia przewlekłego zapalenia błony naczyniowej przedniego odcinka gałki ocznej i najczęściej przeciwciała ANA są dodatnie w postaci skąpostawowej MIZS oraz, że ich miano zazwyczaj nie jest bardzo wysokie. Postać MIZS-ERA i MŁZS należą do młodzieńczych spondyloartropatii seronegatywnych i właśnie antygen HLA-B27 jest ich markerem. Autorka słusznie zauważa rolę witaminy D3, której niedobór sprzyja, zgodnie z licznymi doniesieniami literaturowymi, chorobom z autoagresji. Istotna jest jej suplementacja z uwagi na ryzyko osteoporozy u pacjentów z przewlekłymi procesami zapalnymi i jatrogennym działaniem glikokortykosteroidów.

W mojej ocenie niepotrzebnie w dyskusji powtarzane są informacje ze Wstępu (np.: charakterystyka podtypów MIZS) i niektóre wyniki niniejszego opracowania – tu należałoby je przedyskutować w aspekcie innych dostępnych danych naukowych.

Na uznanie zasługuje również analiza płynów stawowych u 70 pacjentów z MIZS. Przy opisie badania płynu stawowego Doktorantka podaje, że wykonywano artrocentezę, ale zapewne aspiracji płynu dokonywano przy użyciu igły.

W drugiej części Dyskusji Autorka zwraca uwagę na badania pomocne w monitorowaniu procesu leczenia pacjentów z MIZS. Oczywiście jest, że OB, które najbardziej narasta w postaci systemowej MIZS, będzie u tych pacjentów dobrym wskaźnikiem skuteczności terapii, ale w postaci skąpostawowej MIZS, w której zazwyczaj od początku jest niskie - już nie. Mgr Aleksandra Kowalczyk podkreśla, że zgodnie ze strategią „Treat-to-Target” po 3 miesiącach leczenia powinniśmy wykazać poprawę lub należy zmodyfikować leczenie. Kryteria poprawy zgodnie z ACR obejmują między innymi markery procesu zapalnego. W grupie badanej po 24 miesiącach leczenia uzyskano remisję u niespełna 26% pacjentów z MIZS. Warto tu zaznaczyć, że być może miało to związek z faktem, że w czasie 10 lat, z których pochodzi materiał do analizy, stopniowo pojawiały się nowe opcje terapeutyczne dla dzieci z MIZS, z różnymi podtypami choroby. Dodatkowo, dopiero w 2019r. i 2021r. opublikowano rekomendacje ACR, które systematyzują strategię leczenia w MIZS.

Antygen HLA-B27 jest markerem spondyloartropatii, których etiopatogeneza jest odmienna w stosunku do innych postaci MIZS, stąd dostępne wcześniej leczenie mogło być nieskuteczne. Od niedawna mamy nowe możliwości terapeutyczne w Programie Lekowym B33 i prawdopodobnie efekty leczenia tego podtypu będą bardziej spektakularne.

Jak Autorka słusznie podkreśla, przewlekłe leczenie wymaga monitorowania jego bezpieczeństwa. Najczęściej obserwowanymi powikłaniami leczenia metotreksatem są przejściowe podwyższenie stężenia aminotransferaz, leukopenia oraz nietolerancja leku pod postacią: bólów brzucha czy głowy, nudności i wymiotów, ale są to objawy przejściowe i odwracalne. Najcięższym powikłaniem MIZS jest zespół aktywacji makrofagów najczęściej w przebiegu układowej postaci MIZS, i może w opracowaniu należałoby mu poświęcić nieco więcej uwagi.

Pracę kończą 3 wnioski a raczej podsumowanie wiedzy, poparte wynikami badań Doktorantki, o wykorzystywanych biomarkerach w diagnostyce i monitorowaniu MIZS: wskaźnikach zapalnych oraz przeciwciałach i antygenie HLA-B27. Wnioski nie do końca są bezpośrednią odpowiedzią na postawione pytania w Celach pracy. We wniosku 3, w 4 podpunkcie mgr Aleksandra Kowalczyk stwierdza, że białko CRP jest lepszym i stabilniejszym niż OB markerem odzwierciedlającym aktywność procesu

zapalnego. W mojej opinii niniejsze opracowanie nie daje podstaw do wyciągnięcia takiej konkluzji.

Tak obszerne opracowanie pociąga za sobą ryzyko powstania trudnych do wychwycenia błędów edytorskich. Nie uniknęła ich także Doktorantka. W pracy pojawia się:

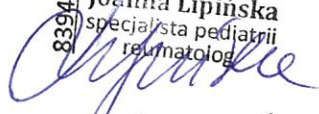
1. Szereg powtarzanych błędów literowych oraz ortograficznych, np.: w Spisie Treści – „Skrutów” zamiast Skrótów czy antygen „CwC” zamiast Cw06, „Inflificimab” zamiast Infliximab, „anty-Sel” zamiast anty-Scl
2. Kilka błędów stylistycznych - powtarzające się wyrażenie, np. na str.24: „produkcja” przeciwciał, zamienić na „wytwarzanie” przeciwciał, mało precyzyjne: „wartości” CRP zamiast „stężenie”
3. Brak rozwinięcia niektórych skrótów, np.: „gł.” na str.25, chodzi prawdopodobnie o „głównie” czy „mce” – „miesiące”.
4. Wprowadzony skrót jest w dalszej części ponownie rozwijany - w pierwszych słowach wstępu należałoby rozwinąć skrót, a w dalszej części pracy konsekwentnie go stosować
5. Dane przedstawione w Tabelach są niejednokrotnie powtarzane na Rycinach, np. str. 58, Rycina 8. i Tabela XVIII i inn.
6. Podpisy i tytuły rycin i tabel są mało precyzyjne, np.: Tabela VII. Wyniki badań laboratoryjnych charakterystycznych... może lepiej byłoby zastąpić: Najbardziej charakterystyczne odchylenia w badaniach laboratoryjnych... dla poszczególnych typów MIZS – dane z literatury.., czy str. 47, Tabela IX – Płeć pacjentów z MIZS. – warto byłoby dodać, że chodzi o grupę badaną lub Tabela XXIV. – „Wartości OB w grupach płci.” – może lepiej: Wartości OB w zależności od płci dzieci z MIZS z grupy badanej.
7. Wielokrotnie w tekście i tabelach używane jest określenie płci pacjentów z grupy badanej – kobieta i mężczyzna, co w grupie wieku rozwojowego powinno być zastąpione – dziewczynka i chłopiec albo płeć żeńska i męska.
8. Na niektórych rycinach w tabelach czy na osiach brakuje jednostki miary, np.: Tabela XI. Średni wiek pacjentów, Tabela XV. Wartości CRP.. lub Rycina 5., Rycina 13.
9. Nazwy i zwroty angielskie, z wyjątkiem wyrażień od dawna w polszczyźnie obecnych i powszechnie stosowanych, powinny być pisane kursywą, np.: str.

16 - *ang. systemic onset juvenile idiopathic arthritis*, str. 25 – *ang. Receptor activator of nuclear factor* czy str. 27 JADAS – *ang. Juvenile Arthritis Disease Activity Score*, itp.

10. Pozycje piśmiennictwa można byłoby ograniczyć do najbardziej aktualnych z ostatnich 5 lat, z uwzględnieniem prac polskich autorów, których jest co najmniej kilka z ostatnich lat, chyba, że starsze są kluczowe dla niniejszego opracowania.
11. Piśmiennictwo nie jest cytowane konsekwentnie: raz 3 autorów i wsp., w innym wypadku wszyscy, raz podawany wolumin czasopisma a innym razem nie – należałoby to ujednoczyć

Podsumowując, w mojej ocenie rozprawa na stopień doktora nauk medycznych mgr Aleksandry Kowalskiej spełnia wymagania stawiane kandydatom w przewodach doktorskich zawarte w art. 16.1 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19.01.2018r. W związku z powyższym, mam zaszczyt prosić Wysoką Radę ds. Stopni Naukowych w dyscyplinie Nauki Medyczne Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, o dopuszczenie mgr Aleksandry Kowalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

83 94 196
Dr hab. n. med.
Joanna Lipińska
specjalista pediatrii
reumatolog



Dr hab. n. med. Joanna Lipińska