

Prof. dr hab. n. med. Ewa Tuskiewicz- Misztal  
prof. em. Uniwersytet Medyczny w Lublinie

## **OCENA**

### **Rozprawy doktorskiej na stopień doktora nauk medycznych pt. Charakterystyka kliniczna oraz ocena aktywności mediatorów prozapalnych w populacji dzieci polskich chorych na postępujące kostniejące zapalenie mięśni**

wykonanej przez lek. Małgorzatę Szczepanek  
w Uniwersytecie Rzeszowskim  
pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. i n. o zdrowiu Jacka Tabarkiewicza

W związku z powierzeniem mi przez Wysoką Radę Naukową Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego oceny rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Małgorzaty Szczepanek mam zaszczyt przedłożyć następującą opinię i wnioski.

Postęp medycyny w ostatnim dwudziestoleciu związany głównie z immunologią i biologią molekularną dostarczył klinicyście wielu nowych informacji i możliwości terapeutycznych. Nadal pozostaje jednak grupa chorych z chorobami rzadkimi, o których wiedza jest ciągle niepełna i niekompletna. Do tych chorób należy postępujące kostniejące zapalenie mięśni, które jest tematem rozprawy doktorskiej lekarza Małgorzaty Szczepanek.

Postępująca kostniejąca fibrodysplasia (FOP) charakteryzuje się obecnością wrodzonych obustronnych paluchów koślawych. Opisywane jest stwierdzenie koślawych paluchów u płodu już w 23 tygodniu ciąży. Wczesnym objawem jest heterotopowe kostnienie, które może pojawiać się spontanicznie lub po nawet drobnych urazach np. wstrzyknięciach domięśniowych. W okolicach zajętych procesem chorobowym występuje obrzęk z towarzyszącym bólem. Kostnienie heterotopowe może występować w każdej okolicy, a do najbardziej typowych miejsc należą okolice położone proksymalnie w stosunku

do kręgosłupa. Kostnienie to prowadzi stopniowo do unieruchomienia pacjenta, może dojść do utrudnionego oddychania i znacznych problemów z odżywianiem. Choroba ma podłoże genetyczne. Do mutacji dochodzi najczęściej w genie ACVR1, który koduje receptor dla aktywiny typu 1A. Receptor aktywiny 1A występuje we wszystkich komórkach ciała, pomaga kontrolować rozwój kości, mięśni oraz kostnienie elementów chrzęstnych. Typowa dla FOP mutacja, występująca u 95% pacjentów, to mutacja R206H.

Wybór tematu rozprawy doktorskiej jest bardzo trafny, ma ogromne znaczenie praktyczne.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska ma typowy układ redakcyjny: tekst merytoryczny zajmuje 143 strony wydruku, dla ilustracji tekstu użyto 33 rycin - w tym zdjęcia oraz 12 tabel. Ułatwieniem dla czytelnika jest bardzo obszerny wykaz skrótów. Tekst wsparty jest piśmiennictwem obejmującym 218 pozycji. Najwcześniejsza publikacja pochodzi z 1918 roku, a ostatnia z roku 2020. Piśmiennictwo, głównie anglojęzyczne, uwzględnia także polskie publikacje i związane jest tematycznie z pracą.

Bardzo obszerny wstęp (64 strony) stanowi więcej niż połowę całego merytorycznego tekstu pracy. Zawiera bardzo dużo istotnych dla tematu pracy danych i podparty został obszernym, aktualnym piśmiennictwem. W formie monograficznej zaprezentowane zostały w nim wiadomości na temat kostniejącego zapalenia mięśni, począwszy od rysu historycznego, przez epidemiologię, etiologię i patogenezę, obraz kliniczny, diagnostykę po leczenie. Autorka omówiła sposób dziedziczenia i rodzaj mutacji występujących u pacjentów z FOP. Bardzo istotnym jest podrozdział wstępu o etapach kostnienia i związany z nim o udziale mediatorów zapalenia w kostnieniu heterotopowym, z czego wynika cel oznaczania tych parametrów u obserwowanych pacjentów.

Opis objawów choroby jest wsparty dobrą dokumentacją fotograficzną wykonaną przez doktorantkę. Można jedynie rozważyć czy znajdujące się we wstępie zdjęcia nie powinny stanowić doskonałej dokumentacji rozdziału *Materiał i Metody*.

Przedstawione są również przyczyny zaostrzeń, co jest bardzo ważne w przedstawieniu całości obrazu klinicznego i przebiegu choroby. W podrozdziale dotyczącym leczenia dobrze opisane są punkty uchwytu działania poszczególnych leków i ich

wpływ na kostnienie, wskazują równocześnie na konieczność leczenia przeciwzapalnego uwzględniając różnorodność działania leków. Mało natomiast można dowiedzieć się o losie polskich pacjentów w wieku dorosłym, co w tak monograficznie potraktowanym wstępie byłoby dobrym odniesieniem do obserwowanej grupy pacjentów.

Wstęp zawiera wiele informacji luźno związanych z tematem pracy. Bez straty dla wstępu można byłoby pominąć podstawowe, podręcznikowe dane dotyczące oznaczanych mediatorów stanu zapalnego, a uwypuklić wpływ tych czynników na przebieg kostnienia, bowiem gubią się one w nieistotnych dla tematu pracy szczegółach. Zawarte we wstępie dane wskazujące na cel wykonywanych badań laboratoryjnych są rozproszone, a powinny być zebrane, aby wesprzeć cel pracy.

Nie znajduję wytłumaczenia używania terminu „przebłyski” zastępczo stosowanego przez Doktorantkę jako zaostrzenie choroby. Być może wynika to z nie do końca trafnego tłumaczenia angielskiego zwrotu „flare-up”. Zwrot ten mówi o reaktywacji choroby, ogniska chorobowego, nawrocie aktywności chorobowej. Natomiast „flare up” - jako rozbłysk, przebłysk - dotyczy jedynie ognia. Lepiej byłoby unikać tego terminu przy przygotowywaniu pracy do druku.

Sformułowania językowe w wielu miejscach budzą zastrzeżenia np. *paluch stóp* - oczywistym jest, że paluch dotyczy tylko stopy. Wolalabym, aby zamiast słowa *przypadki* używać: *osób, dzieci, chorych lub pacjentów* - brzmi to bardziej podmiotowo. Dokładny wykaz zastrzeżeń czysto językowych przekazałam Doktorantce.

Pani Małgorzata Szczepanek, jako klinicysta, za główny cel pracy postawiła sobie zidentyfikowanie polskiej populacji dzieci chorych na postępujące kostniejące zapalenie mięśni i stworzenie pierwszej w Polsce bazy wszystkich polskich dzieci z tą chorobą. Postanowiła również ocenić genotyp, dane epidemiologiczne i zaawansowanie choroby oraz poznać okres wystąpienia pierwszych objawów i postawienia rozpoznania. Interesowało ją również postępowanie terapeutyczne u każdego chorego oraz poznanie błędów popełnianych przy wstępnej diagnostyce i postępowaniu terapeutycznym.

Ważnym elementem pracy jest badanie wielu aktywnych substancji biorących udział w indukcji procesu zapalnego, wychodzą bowiem one naprzeciw sugestiom zawartym

w piśmiennictwie dotyczącym samej etiologii choroby, jak również jej zaostrzeń i mogą w przyszłości być cenną wskazówką w wyborze najbardziej odpowiedniego leczenia. Tak postawiony cel pracy łączy doskonale aspekt kliniczny z aspektem naukowym. Część kliniczna celu pracy jest uzasadniona wystarczająco, zaś cel części laboratoryjnej jedynie lakonicznie.

W rozdziale *Materiał i Metody* Doktorantka podała, iż objęła obserwacją i badaniem całą polską populację dzieci chorych na postępujące kostniejące zapalenie mięśni. Grupa składa się z 9 pacjentów. Na podstawie wywiadu i badania fizykalnego oceniono u wszystkich pacjentów aktywność choroby w skalach Katza i CAJISA. Określono również surowicze stężenie wybranych mediatorów zapalenia. Wykorzystano w tym celu wieloparametryczną metodę Luminex. Wykonano również u chorych badanie densytometryczne. Podano metody analizy statystycznej. Całość metodyki opisano dosyć pobieżnie.

W opisie wyników przedstawiono płeć i wiek pacjentów oraz mutacje genetyczne, które u nich występują. Typowa mutacja p.R206H występuje u 7/9 pacjentów. Pozostałych 2 pacjentów prezentuje mutację p.G356D. Przedstawiono wiek w którym wystąpiły pierwsze objawy choroby oraz wiek w którym postawiono rozpoznanie. Zaskakująca jest różnica czasu w jakim stawiano prawidłowe rozpoznanie od chwili wystąpienia pierwszych objawów choroby, wynosił on od 1 miesiąca do prawie 4 lat (44 miesiące). Na str. 86 pomyłono w opisie płeć pacjenta.

Autorka przytoczyła również wstępne rozpoznania stawiane u poszczególnych dzieci. Ciekawe jest również zestawienie pierwszych lokalizacji u poszczególnych pacjentów oraz dynamika dalszego przebiegu choroby. Opisane są również przyczyny zaostrzeń choroby, co jest bardzo ważne w całości obrazu klinicznego i jej przebiegu. Wszystkie te dane zostały opisane oraz przedstawione w przejrzystych tabelach.

Podobnie opisowo i w tabeli przedstawiona jest analiza stopnia zaawansowania choroby i samoobsługi przy pomocy skali Katza, skali CAJIS oraz kliniczne stany zaawansowania choroby. Zaledwie 2 z 9-ciorga obserwowanych dzieci wykazuje sprawność w zakresie czynności życia codziennego. Stosowanie w codziennej praktyce lekarskiej tych skal pozwala na ocenę zaawansowania choroby oraz na dokładną obserwację jej progresji.

W badanej grupie najcięższy przebieg choroby dotyczy pacjentki z nietypową mutacją p.G356D.

Z dotychczas stosowanego leczenia najbardziej skuteczna jest glikokortykoterapia. Wszystkie dzieci otrzymywały NLPZ-e, 8/9 GKS, leki antyleukotrienowe 5/9, a bisfosfoniany 4/9. Stosowanie leków antyleukotrienowych, z uwagi na udział komórek tucznych w procesie zapalnym FOP, nie spowolniło procesów kostnienia. Doktorantka wspomina również o próbach leczenia bisfosfonianami, podczas, którego odnotowano redukcję zaostrzeń.

Pani Małgorzata Szczepanek podjęła próbę analizy zależności pomiędzy stężeniami badanych markerów w surowicy krwi, a parametrami klinicznymi. Przy tak nielicznej grupie pacjentów, nawet przy zastosowaniu nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa, Doktorantka nie mogła liczyć na istotne zależności. Natomiast wyniki badań wskazują na możliwości dalszych analiz.

Dyskusja rozprawy doktorskiej powinna być oparta na porównywaniu własnych wyników i obserwacji z podobnymi parametrami opisywanymi przez innych autorów. Autorka zebrała dużo danych dotyczących mutacji genetycznych u pacjentów z FOP z różnych regionów świata i porównała z danymi uzyskanymi u polskich pacjentów. Pociągający dla lekarzy mających kontakt z pacjentami z FOP jest fakt, że nie tylko w Polsce, ale również w Hiszpanii - mimo obecności koślawych paluchów - u żadnego dziecka nie postawiono właściwego rozpoznania i popełniano te same błędy, wykonując np. biopsje zmian kostnych. Dane dotyczące wyników laboratoryjnych są nowatorskie i Doktorantka nie miała możliwości porównania z wynikami innych autorów.

Wnioski jakie Doktorantka z rozważą wyciąga z uzyskanych wyników korespondują z celami pracy. Oczekiwałabym dodatkowo informacji: jaki odsetek lub liczba pacjentów ma typową mutację, czy z nietypową mutacją wiąże się inny przebieg choroby - czyli wniosków dotyczących charakterystyki klinicznej pacjentów, która została bardzo rzetelnie przeprowadzona. Mam wątpliwość co do wniosku 4. - czy wynik BMC może być obiektywnym wskaźnikiem sprawności fizycznej pacjentów. Wniosek 5. można byłoby uzupełnić o fakt, że niskie poziomy cytokin wynikają nie tylko z przewlekłego leczenia przeciwzapalnego tych pacjentów, ale również z faktu, że wszystkie badania były wykonywane w okresie zaostrzenia choroby, a nie w okresie zaostrzenia.

Reasumując stwierdzam, że problem badawczy jest bardzo ciekawy z punktu widzenia klinicysty, bowiem choroby rzadkie stale sprawiają wiele trudności diagnostycznych i terapeutycznych.

Za duży sukces Doktorantki należy uznać znalezienie i dotarcie do wszystkich pacjentów w wieku rozwojowym chorujących na FOP. Doktorantka wykonała bardzo dużą pracę zbierając w jednym miejscu wszystkich pacjentów pediatrycznych z Polski z rozpoznaniem postępującym kostniejącym zapaleniem mięśni. Stworzyła bazę danych wszystkich pacjentów z FOP.

Jest to niewymierna korzyść dla pacjentów oraz możliwość śledzenia i oceny przebiegu, rozwoju choroby w całej populacji chorujących dzieci oraz możliwość wyciągania wniosków dotyczących efektów postępowania terapeutycznego, jak i możliwość ewentualnego wdrażania nowych metod terapeutycznych. Nie można mieć wątpliwości, że zajęcie się wszystkimi pacjentami w Polsce wskazuje na dużą pasję i zaangażowanie Doktorantki.

Z materiału przedstawionego przez Doktorantkę wynika jasno, że choroba u polskich pacjentów rozpoznawana jest z dużym opóźnieniem, czasem wieloletnim, przy typowym przebiegu z typowymi wrodzonymi wadami paluchów. Publikacja wiedzy zawartej w tej pracy może przyczynić się do eliminowania błędów diagnostycznych w początkowej fazie choroby. Odbiorcami tej wiedzy powinni być neonatolodzy, lekarze rodzinni, pediatrzy, ortopedzi, reumatolodzy, a nawet stomatolodzy i anestezjolodzy.

Oryginalna wydaje się analiza stopnia zaawansowania choroby i samoobsługi przy pomocy skali KATZA, skali CAJIS oraz ocena klinicznego stopnia zaawansowania choroby w grupie polskich dzieci.

Część laboratoryjna pracy wykonana została na całym dostępnym w Polsce materiale klinicznym, a liczba parametrów i nowoczesna metoda wykonania z dużym rozmachem. Rozpoczęta praca na temat czynników biologicznych może być przyczynkiem do głębszych badań nad patogenezą FOP. Ocena wskaźników zapalenia u pacjentów z FOP może być bardzo pomocna przy próbach stosowania leczenia biologicznego.

Doktorantka wykazała szeroką wiedzę dotyczącą FOP popartą własnymi doświadczeniami. Dokonała analizy dostępnej literatury oraz opisów kazuistycznych, co potwierdza obszerne piśmiennictwo. Dość dobrze poradziła sobie z obserwacją pacjentów i interpretacją wykonanych badań.

W podział pracy na poszczególne części wkradły się jednak także błędy. Materiał zawarty w rozprawie doktorskiej jest bardzo cenny, ale wymaga usystematyzowania i konieczne są zmiany redakcyjne, bowiem praca zawiera liczne błędy stylistyczne.

Doktorantka wykazała zdolność samodzielnej analizy badanej grupy, a to jest wiodącym celem rozprawy doktorskiej. Dokonała również właściwego wyboru piśmiennictwa. Wnioski jakie Doktorantka wyciąga z uzyskanych wyników korespondują z celami pracy.

Z przyjemnością stwierdzam, że mimo wymienionych wyżej pewnych krytycznych uwag szczegółowych, moja ogólna ocena przedstawionej rozprawy doktorskiej jest pozytywna.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca Pani lek. Małgorzaty Szczepanek zatytułowana „Charakterystyka kliniczna oraz ocena aktywności mediatorów prozapalnych w populacji dzieci polskich chorych na postępujące kostniejące zapalenie mięśni” spełnia wymogi stawiane rozprawie na stopień doktora i składam Wysokiej Radzie Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego wniosek o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med.  
EWA TUSZKIEWICZ-MISZTAŁ  
specjalista pediatra reumatolog  
Lublin, ul. Rymwida 6/11  
tel. 81/525 20 41  
Nr w. Wyk. Zaw. 5478665

Lublin 2.09.2020