

Warszawa, 20.08.2020

Prof. dr hab. n. med. LIDIA RUTKOWSKA - SAK

RECENZJA PRACY NA STOPIEN DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

lekarz MAŁGORZATY SZCZEPANEK pod tytułem

„ Charakterystyka kliniczna oraz ocena aktywności mediatorów prozapalnych w populacji dzieci polskich chorych na postępujące kostniejące zapalenie mięśni ”.

PROMOTOR: Prof. dr hab. n. med. i n. o zdrowiu JACEK

TABARKIEWICZ

Heterotopowe kostnienie zostało po raz pierwszy opisane przez francuskiego badacza Guya Patin'a w 1692 roku, w artykule „o kobiecie, która zamieniła się w drewno”. Kolejne opisy przypadków tej choroby przedstawione zostały m.in. przez: Coppin i Pingle w 1741r., Johna Frecke w 1744r., Roggersa w 1833r., Testelin i Danbressi w 1839r., Hawkinsa w 1844 ( wykonał pierwszą biopsję zmian ), Bulhak w 1860r., Adelman w 1860r. W 1868r. Theodore von Dusch nazwał tę chorobę kostniejącym zapaleniem mięśni ( myositis ossificans progressiva ), jednak dopiero Ernst Munchmeyer w 1869r. dokładnie ją opisał ( w tym swoje 12 przypadków ) i nadał chorobie swoje nazwisko. W XX wieku J.W. Geary Grant uznał, że nazwa „fibrocellulitis ossificans progressiva” lepiej będzie obrazować chorobę, z kolei H.A. Fairbank zasugerował określenie „fibrositis ossificans progressiva”. W 1970r. Victor McKusick zaproponował termin „fibrodysplasia ossificans progressiva”, który jest aktualny do dzisiaj. Warto wspomnieć, że w okresie I Wojny Światowej francuscy badacze Dejerne i Ceillier opisywali skostnienia pod nazwą “paraosteoartropatie”, które obserwowali u żołnierzy z pourazową paraplegią.

Odkrycie białek morfogenetycznych kości ( bone morphogenetic protein – BMP ) w 1965 roku przez Urista i współpracowników i badania nad ich rolą w procesie osteogenezy odegrały istotną rolę w zrozumieniu procesów osteogenezy, a także miały wpływ na poznanie

patomechanizmu skostnień okołostawowych.

I tak stwierdzono, że Istnieją różne formy skostnień okołostawowych.

Można je podzielić na trzy główne typy:

- fibrodysplasia ossificans progresiva (FOP),
- progressive osseous heteroplasia (POH),
- nonhereditary heterotopic ossification (HO).

Przełomowym momentem dla odkrycia przyczyny kostnienia w fibrodysplasia ossificans progresiva (FOP) było odkrycie w tej chorobie w dniu 23 kwietnia 2006 roku przez zespół naukowców z Uniwersytetu Medycznego w Pensylwanii pod kierownictwem Fredericka S. Kaplana heterozygotycznej mutacji genu ACVR1 (receptor aktywiny A typu I). Mutacja ta prowadzi do nadmiernej ekspresji białka BMP4, odpowiadającego za rozwój, przebudowę i procesy naprawcze kości. Do mutacji dochodzi na krótkim ramieniu chromosomu 2q 23-24. FOP dziedziczy się w sposób autosomalny dominujący. Choroba występuje z częstością około 1 na 2000000, jest więc chorobą ultraradką.

W wieku noworodkowym u dzieci chorych na FOP widoczne są zmiany dysmorficzne w postaci skrócenia paluchów, kciuków, hipoplazji i synostozy paliczków rąk. Już w pierwszych latach życia, często w miejscu nawet niewielkich urazów, pojawiają się bolesne, guzowate ogniska kostnienia heterotopowego. Głównie dotyczą okolicy stawów obręczy barkowej i biodrowej oraz kręgosłupa. Szczyt aktywności choroby przypada na wiek między 10 a 25 rokiem życia, ale choroba trwa praktycznie przez całe życie, powoli unieruchamiając chorego.

Skuteczne leczenie FOP jest dotychczas nieznane. Stosuje się m.in. niesteroidowe leki przeciwzapalne, glikokortykosteroidy, montelukast, kromoglikan, pamidronian, imatinib, rytuksymab. Stosowane leki mają hamować kostnienie i towarzyszące ogniskom kostnienia zapalenie.

Trwają badania kliniczne nad nowymi lekami w leczeniu FOP, m. in. nad przeciwciałem monoklonalnym (Garetoximab firmy Regeneron), które ma blokować nieprawidłowo działającą aktywinę A. Wstępne dane wskazują na to, że lek ten zmniejsza w pewnym stopniu powstawanie nieprawidłowych kostnień i redukuje już istniejące zmiany.

W 1988 roku powstało w Stanach Zjednoczonych Międzynarodowe Stowarzyszenie Chorych na FOP - International Fibrodysplasia Ossificans Progresiva Association (IFOPA). W 2012 roku, na pamiątkę odkrycia patogenezy choroby IFOPA zrzeszające przeszło 500 chorych z

50 różnych krajów świata ustanowiło 23 kwietnia Międzynarodowym Dniem Świadomości FOP. Z danych opublikowanych przez to Stowarzyszenie wynika, że obecnie około 3300 osób na całym świecie choruje na FOP. W roku 2017 z inicjatywy Pana Tomasza Przybyła ( chorego na FOP od 6 r.ż. i zmarłego w 47 r.ż. ) powstał w Polsce Oddział International FOP Association - Stowarzyszenie FOP Polska - zrzeszające wszystkie 24 osoby w Polsce chore na FOP ( czy na pewno wszystkie? ). Z inicjatywy rodziców dzieci chorych na FOP w Polsce, II Klinika Pediatrii, Endokrynologii i Diabetologii Dziecięcej Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego nr 2 im. Jadwigi Królowej w Rzeszowie stała się ośrodkiem referencyjnym dla leczenia dzieci z FOP. Klinika ta jest m.in. zaangażowana w badania nad Garetosmabem. Lekarzem opiekującym się dziećmi z FOP jest Pani Małgorzata Szczepanek.

Przedstawiona mi do recenzji praca lekarz Małgorzaty Szczepanek na stopień doktora nauk medycznych jest konsekwencją prowadzonej przez doktorantkę obserwacji tych dzieci.

Praca lek. Małgorzaty Szczepanek ma układ typowy dla dysertacji doktorskich. Liczy ogółem 182 strony jednostronnego wydruku komputerowego. Podzielona jest na 11 ponumerowanych rozdziałów z wieloma podrozdziałami. Zawiera wykaz skrótów i oznaczeń stosowanych w tekście, spis tabel i rycin, a także streszczenie pracy w języku polskim i angielskim. Układ poszczególnych rozdziałów jest zgodny z zasadami pisania prac badawczych, a nazewnictwo zgodne z tematem i zawartą treścią. Wyniki zaprezentowano w sumie w 12 tabelach i w znacznej części z 33 rycin. Piśmiennictwo obejmuje łącznie 218 pozycji, polsko- i w większości anglojęzycznych.

We wstępie doktorantka przedstawiła aktualny stan wiedzy na temat historii, definicji, epidemiologii, etiologii i patogenez FOP. Dokładnie przedstawiła odpowiedzialną za przyczynę choroby dziedziczną mutację genową oraz dostępne badaniom mediatory zapalenia, biorące prawdopodobnie udział w procesie powstawania heterotopowego kostnienia i podtrzymywania tego procesu. Szczegółowo omówiła obraz kliniczny choroby, diagnostykę różnicową i rozpoznanie, badania laboratoryjne, obrazowe, histopatologiczne, objawy i przyczyny zaostrzeń choroby, a także skale używane dla oceny stopnia aktywności i zaawansowania zmian w FOP. W podrozdziale poświęconym leczeniu,

poza omówieniem dotychczas stosowanego leczenia, autorka przedstawiła leki aktualnie pozostające w badaniach klinicznych - Dorsomorphin i Garetosmab. Przedstawiła również informację o obiecujących wynikach badań II fazy nad lekiem Palowaroten, które zostały jednak zawieszono u dzieci poniżej 12 r.ż., ze względu na raporty bezpieczeństwa, wskazujące na przedwczesne zamknięcie chrząstki nasadowej u dzieci z FOP otrzymujących ten lek w badaniu.

Za istotne uważam podrozdziały wstępu, w których autorka omawia występujące u chorych na FOP:

- problemy podczas znieczulenia, ciąży, szczepień,
- rolę ćwiczeń wzmacniających siłę mięśni przepony i czynność płuc,
- działania profilaktyczne zapobiegające urazom, głównemu czynnikowi odpowiedzialnemu za zaostrzenia choroby czyli tak zwane przebłyski.

Doktorantka przedstawiła także we wstępie przyczyny bardzo poważnego rokowania w tej chorobie.

Głównym celem recenzenta jest przede wszystkim stwierdzenie spełnienia przez doktoranta(-kę) wymogu określonego w § 6 ust.4 *Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26 września 2016 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim*, czyli przedstawienie uzasadnienia, że opiniowana praca spełnia wymagania tego artykułu, tj. „...*stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego (...) i wykazuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej (...) oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej...*”.

Wprawdzie nie ma jasno określonej definicji jak ma wyglądać praca doktorska, niemniej szczególne znaczenie ma cel pracy i wnioski, ponieważ pozwala dokładnie określić problem naukowy doktoranta i sposób, w jaki go rozwiązał. Niestety, w moim przekonaniu, główny cel pracy, zdefiniowany w niepotrzebnie obszernym ogólnym tekście rozdziału „Cel Pracy”, cel bardzo ważny i ambitny, trochę się w tym tekście zagubił. Z tego rozdziału natomiast można wyłonić cele szczegółowe i znajdują one odpowiedź we wnioskach.

Przyjęłam, zgodnie z opisem, że głównym celem pracy była identyfikacja polskiej populacji dzieci chorych na FOP i ich charakterystyka epidemiologiczno – kliniczna, ze szczególnym uwzględnieniem klinicznej

oceny stadium zaawansowania choroby oraz stworzenie bazy danych. Projekt Badania uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Rzeszowie – nr zgody 2018/03/01. Zgodę na badania wyrazili także rodzice badanych dzieci.

Miejscem wykonywania badań było Przyrodniczo-Medyczne Centrum Badań Innowacyjnych Wydziału Medycznego Uniwersytetu Medycznego w Rzeszowie oraz Kliniczny Szpital Wojewódzki Nr 2 im. Św. Jadwigi Królowej w Rzeszowie - II Klinika Pediatrii, Endokrynologii i Diabetologii Dzieci. Nie podano czasowego okresu wykonywania badań.

Grupa badanych dzieci to 8 dziewczynek i 1 chłopiec w wieku 3 do 12 lat, w chwili badania średnia wieku wynosiła  $7,88 \pm 3,25$ . Rozpoznanie u dzieci potwierdzone było badaniem genetycznym.

Metodyka badania obejmowała badanie podmiotowe ( na podstawie wywiadu uzyskano dane o początku choroby, czasie wystąpienia i lokalizacji pierwszych objawów, wstępnym rozpoznaniu, czasie do postawienia właściwej diagnozy, częstotliwości zaostrzeń, chorobach towarzyszących, przebytych operacjach, sposobie leczenia ) oraz ogólnopediatryczne badanie przedmiotowe. Obejmowała także ocenę aktywności choroby na podstawie oceny podstawowych czynności w życiu codziennym w punktowej skali Katza – Activities of Daily Living – ADL i skumulowanej analogowej skali zaangażowania stawów - Cumulative Analogue Joint Involvement Scale – CAIJS w 9 regionach anatomicznych. Na podstawie całokształtu tych badań dokonano oceny klinicznego stadium zaawansowania choroby, kwalifikując dzieci do 5 postaci choroby: wczesnej/łagodnej, umiarkowanej, ciężkiej, zaawansowanej i późnego/końcowego stadium. Poza przypisaną dla poszczególnych postaci punktacją w skalach ADL i CAIJS autorka nie podała jak oceniano inne ( jakie? ) kryteria kwalifikacji chorych do wymienionych postaci choroby na przykład liczbę przebłysków. Celem oceny laboratoryjnych markerów związanych z zapaleniem pobierano dzieciom krew. Doktorantka nie wyjaśniła dlaczego ilość pobranej krwi uzależniona była od wagi dziecka, czy u starszych dzieci wykonywano więcej badań? Nie wynika to z załączonych tabel. Ponadto u badanych dzieci wykonano badanie densytometryczne. Wyniki badań poddano analizie statystycznej, wykorzystując testy Shapiro - Wilka, Manna – Whitneya U, Kruskala – Wallisa, Spearmana. Bazę analizowanych danych i analizy statystyczne opracowano i przeprowadzono w oparciu o

oprogramowanie komputerowe Statistica 12.0. ( Stat Soft, Polska ). Zastosowane w analizie danych metody statystyczne były właściwe i zostały prawidłowo opisane, uwzględniając progi istotności i siłę korelacji.

Wyniki badań przedstawione są w postaci tabel i wykresów, jednakże w niektórych brakuje mi porównania do przyjętych w laboratoriach norm, a wykres nie zawsze je obrazuje.

Wyniki wykazały dwa rodzaje mutacji genetycznych u badanych dzieci ( 7 dzieci – p.R206H, 2 dzieci - p.G356D ). Wszystkie dzieci miały wrodzone wady paluchów. Mimo tej znamiennej wady czas do postawienia prawidłowego rozpoznania wynosił od 1 miesiąca do 44 miesięcy. Najczęstsze początkowe rozpoznania to procesy rozrostowe. U 3 dzieci pobierano wycinki ze zmian, u 3 przeprowadzono zabiegi operacyjne, nawet kilkakrotnie, co znacznie pogarszało przebieg choroby. Tylko 1 dziewczynka, mimo typowej mutacji i dwukrotnych zabiegów operacyjnych ma chorobę zlokalizowaną do jednego regionu. Nie wiem czy oceniono u niej obecność tzw. mutacji mozaikowej, bardzo rzadkiej odmiany FOP, w której kostnienie zachodzi tylko w okolicy jednej części ciała ( do tej pory odnotowano zaledwie kilka takich przypadków na świecie ). Wśród pozostałych dzieci choroba najczęściej zajmowała obręcz barkową, kolejno tułów i jamę brzuszną. U 2 dzieci zajęta była obręcz biodrowa. U 1 dziecka zajęte chorobą były wszystkie badane regiony, także okolica stawów skroniowo – żuchwowych. 3 badanych dzieci zaliczono do łagodnego stadium zaawansowania choroby, 5-ro do umiarkowanego, 1 do ciężkiego. Wśród w większości prawidłowych wartości markerów laboratoryjnych ostrego procesu zapalnego wyróżniała się katapsyna S, której zwiększone stężenie korelowało z aktywnością choroby. Podwyższone stężenie metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej w okresie bez przebłyków prawdopodobnie sygnalizowało przebudowę kostną. Istnieniem przewlekłego, nieuchwytnego innymi badaniami procesu zapalnego można tłumaczyć podwyższone stężenie mieloperoksydazy. Wyniki badania densytometrycznego u kilkorga dzieci wskazywały na osteoporozę, a obniżona wartość składników mineralnych korelowała z aktywnością choroby mierzoną w skalach ADL i CAIJS. U chorych stosowano różne dostępne metody farmakoterapii, ze zróżnicowanym ale generalnie niewielkim efektem.

Na podstawie przeprowadzonych badań doktorantka wyciągnęła następujące wnioski:

1. Pomimo występowania objawu patognomicznego, jakim jest wrodzona wada paluchów i typowych objawów klinicznych postawienie prawidłowego rozpoznania stwarza trudności, stąd konieczność szerzenia wiedzy na temat FOP wśród lekarzy.
2. Przeprowadzenie oceny pacjenta w skali Katza, CAJIS i kliniczna ocena stadium zaawansowania choroby pozwala na ocenę progresji choroby i skuteczności leczenia w trakcie kolejnych wizyt pacjenta.
3. Różna odpowiedź na zastosowane leczenie GKS może wskazywać na odmienność kliniczną pacjentów z FOP.
4. Uzyskany wynik wartości BMC u pacjentów z FOP może być obiektywnym wskaźnikiem sprawności fizycznej pacjentów.
5. Niskie poziomy cytokin w surowicy badanych dzieci prawdopodobnie związane są ze stosowanym przewlekłe leczeniem przeciwzapalnym.
6. Korelacja pomiędzy surowiczym stężeniem MMP-2, a wynikiem punktowym w skali CAJIS i Katza jest prawdopodobnie związana z trwającą przebudową kości w trakcie remisji klinicznej.
7. Korelacja pomiędzy surowiczym stężeniem MPO, a wynikiem punktowym w skali CAJIS może świadczyć o utrzymującym się aktywnym przewlekłym procesie zapalnym, bez manifestacji klinicznej zaostrzenia.
8. Stwierdzony podwyższony poziom katepsyny S w surowicy i jej korelacja z aktywnością choroby, uzyskanym wynikiem w skali CAJIS i Katza może mieć związek z tworzeniem się HO.
9. Badanie sugeruje obecność przewlekłego stanu zapalnego, stąd przewlekłe leczenie przeciwzapalne i immunosupresyjne może być korzystne w leczeniu FOP.
10. Konieczne jest długofalowe badanie z udziałem grupy kontrolnej oraz pacjentów nieleczonych, pacjentów w ostrej fazie choroby.

W przedstawionych wnioskach, na podstawie przeprowadzonych badań i analiz doktorantka odpowiedziała na szczegółowe cele pracy. Ale czy stworzyła rejestr, bazę danych? Brakuje mi tej informacji. Czy są to wszystkie dzieci w Polsce chore na FOP? Czy doktorantka ma kontakt z Narodowym Funduszem Zdrowia i Ministerstwem Zdrowia w tej sprawie? Czy dzieci chore na FOP figurują w Polskim Rejestrze Wrodzonych Wad

Rozwojowych? Cel pracy zapewne został osiągnięty tylko niedokładnie opisany.

Z obowiązku recenzenta zwracam więc uwagę na te i inne pewne uchybienia. Brak, jak już wspominałam, opisanie dokładnych kryteriów klinicznych kwalifikacji dzieci do określonego stadium choroby poza skalami analogowymi. Ryciny nie zawsze są jasno opisane, brak norm laboratoryjnych. Największym jednak problemem moim zdaniem jest sposób przedstawienia pracy. Brak jej staranności. Zawiera bardzo dużo błędów, głównie redakcyjnych, ale nie tylko. Dziewczynka bywa chłopcem, pacjent nr 9 jest czasem nr 8, stężenia są poziomami, wniosków raz jest 10, raz 11, itd.

Muszę jednak zaznaczyć, że te krytyczne uwagi w niczym nie umniejszają wartości tej rozprawy.

Doktorantka umie samodzielnie posługiwać się metodami pracy naukowej i dobrze zna problem, którym się zajmuje. Definiuje ograniczenia w badaniach związane z małą liczebnością badanej grupy. Przedstawiona praca niewątpliwie stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a więc spełnia wszystkie wymogi określone przytoczonymi na początku recenzji obowiązującymi normami prawnymi.

Podstawą wszelkich działań na rzecz pacjentów z chorobami rzadkimi i ultrarzadkimi jest identyfikacja wszystkich osób z daną chorobą rzadką na terenie kraju. Dopiero wtedy można określić zapotrzebowanie na określoną opiekę medyczną, przygotować kadre, zaplecze diagnostyczne i kliniczne, zaplanować odpowiednie środki finansowe. Rolę taką spełniać mają rejestry chorób rzadkich. Rejestr chorób rzadkich to trudne przedsięwzięcie, wymagające zarówno znaczących środków finansowych, jak również rozwiązań logistycznych. Tym bardziej doceniam ambitny plan doktorantki stworzenia takiego rejestru. Ośrodek kliniczny znakomity. Doktorantka świetnie zna problem i cieszy się zaufaniem pacjentów.

Reasumując stwierdzam, że:

Przedstawiona dysertacja ma charakter nowatorski, dotychczas nie prowadzono badań dotyczących polskich dzieci chorych na FOP w opisanym zakresie. Autorka w sposób dojrzały i krytyczny dokonuje przeglądu dotychczas opublikowanych badań z zakresu swojej pracy, konfrontując je z wynikami własnych badań. Słusznie zwraca uwagę na fakt niewielkiej liczby doniesień dotyczących dzieci. Piśmiennictwo jest



właściwie dobrane, aktualne oraz prawidłowo cytowane, o istotnym znaczeniu merytorycznym.

Praca doktorska lek. Małgorzaty Szczepanek pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. i n. o zdrowiu Jacka Tabarkiewicza stanowi niewątpliwie bardzo wnikliwe i samodzielne opracowanie podjętego zagadnienia. Cel pracy został osiągnięty. Wartością pracy jest wniesienie nowych danych do wiedzy i codziennej praktyki lekarskiej.

**Moim zdaniem przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wymogi stawiane rozprawie na stopień naukowy doktora nauk medycznych. Stawiam jej ogólnie dobrą ocenę i kieruję wniosek do Rady Naukowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie lekarz Małgorzaty Szczepanek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**



Prof. *Lidia Rutkowska-Sak* dr hab. n. med.  
Lidia Rutkowska-Sak  
specjalista  
pediatra-reumatolog

