

Kraków, dnia 26 października 2020 r.

**RECENZENT**

dr hab. n. med. Zbigniew Żuber, prof. nadzw.  
Katedra Pediatrii Wydziału Lekarskiego  
Krakowskiej Akademii A. Frycza-Modrzewskiego  
Oddział Kliniczny Dzieci Starszych  
z pododdziałami Neurologii i Reumatologii  
Szpitala Dziecięcego św. Ludwika w Krakowie

**Recenzja rozprawy na stopień  
doktora nauk medycznych  
Lekarz Justyny Roszkiewicz  
z tytułowanej**

**„Ocena wpływu polimorfizmów genetycznych na efekt leczenia metotreksatem u dzieci z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów”**

**Promotor: Prof. dr hab. n. med. Elżbieta Smolewska**

Przedstawiona do recenzji praca Pani Doktor Justyny Roszkiewicz jest spójnym tematycznie zbiorem czterech publikacji naukowych: trzech prac oryginalnych i jednej poglądowej.

W skład zbioru wchodzi następujące prace:

- **Roszkiewicz J**, Smolewska E. In the Pursuit of Methotrexate Treatment Response Biomarker in Juvenile Idiopathic Arthritis - Are We Getting Closer to Personalized Medicine?  
*Curr Rheumatol Rep.* 2017;19(4):19. doi:10.1007/s11926-017-0646-8. [IF 3,079, 30 pkt. MNiSW]
- **Roszkiewicz J**, Swacha Z, Smolewska E. Prefilled pen versus prefilled syringe: a pilot study evaluating two different methods of methotrexate subcutaneous injection in patients with JIA. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2020;18(1):64. doi:10.1186/s12969-020-00455-4. [IF 2,595, 70 pkt. MNiSW]
- **Roszkiewicz J**, Michałek D, Ryk A, Swacha Z, Szmyd B, Smolewska E. The impact of single nucleotide polymorphisms in *ADORA2A* and *ADORA3* genes on the early response to methotrexate and presence of therapy side effects in children with juvenile idiopathic arthritis – results of a preliminary study. *Int J Rheum Dis.* 2020;00:1-9. doi: 10.1111/1756-185X.13972. [IF 1,98, 70 pkt. MNiSW]
- **Roszkiewicz J**, Michałek D, Ryk A, Swacha Z, Szmyd B, Smolewska E. *SLCO1B1* Variants as Predictors of Methotrexate – Related Toxicity in Children with Juvenile Idiopathic Arthritis. [artykuł przyjęty do publikacji w *Scandinavian Journal of Rheumatology* – IF 3,025, 100 pkt. MNiSW].

Łączna punktacja cyklu wynosi IF 10,68 oraz 270 punktów MNiSW.

Celem pracy Pani Doktor było:

- usystematyzowanie dotychczasowej wiedzy o wpływie zmienności genetycznej na odpowiedź terapeutyczną i obecność efektów ubocznych MTX u dzieci z MIZS,
- ocena wpływu SNP w obrębie genów kodujących receptory adenozyliny A2A oraz 3 (*ang. adenosine binding receptor A2A and 3, ADORA2A, ADORA3*) na efekt terapeutyczny MTX w MIZS,
- określenie związku SNP w obrębie genu członka rodziny transporterów anionów organicznych 1B1 (*ang. solute carrier organic anion transporter family member 1B, SLCO1B1*) z odpowiedzią kliniczną i efektami niepożądanymi terapii MTX,
- analiza dotycząca preferowanej metody podaży podskórnego MTX u pacjentów z MIZS.

**Wnioski**

*U pacjentów z MIZS zmienność genetyczna ma wpływ na efekt terapeutyczny oraz występowanie objawów niepożądanych związanych z leczeniem MTX. Po potwierdzeniu uzyskanych wyników na większych grupach chorych z MIZS, SNP rs2236624 ADORA2A i rs4149056 SLCO1B1 mogą zostać czynnikami ryzyka wystąpienia objawów niepożądanych związanych z podażą MTX, SNP rs3393 ADORA3 to potencjalny marker niższej aktywności choroby i lepszej odpowiedzi terapeutycznej. Podskórny MTX stosowany w formie pena jest preferowaną metodą podażą tej substancji czynnej u pacjentów z MIZS.*

Doktorantka w swojej zasługującej na wyróżnienie pracy podejmuje bardzo ważny problem leczenia MIZS zarówno od strony praktycznej - klinicznej, jak i w pełni nowatorskiej, naukowej. Złotym standardem leczenia MIZS jest zastosowanie MTX, najskuteczniejszego i najpowszechniej stosowanego LMPCh u pacjentów chorujących na MIZS. U pacjentów z MIZS zmienność genetyczna ma wpływ na efekt terapeutyczny oraz występowanie objawów niepożądanych związanych z leczeniem MTX. Problematyka bezpieczeństwa i skuteczności leczenia MIZS, odpowiedzi na leczenie oraz występowanie działań niepożądanych to niezwykle istotne zagadnienia w reumatologii wieku rozwojowego. Doktorantka swoimi znakomitymi pracami wpisuje się jeden z głównych nurtów doniesień naukowych w reumatologii dziecięcej. Szczególnie cenne jest poświęcenie dużego nakładu pracy analizie skuteczności i bezpieczeństwa leczenia MTX jako podstawowej metodzie leczenia. Nowoczesne, znakomicie metodycznie opracowane badania doktorantki, zwieńczone publikacjami w międzynarodowych czasopismach naukowych są przykładem doskonałego rozwoju indywidualnego Pani Doktor pod kierownictwem Pani Prof. Elżbiety Smolewskiej. Opracowania naukowe i przedstawione publikacje, nie tylko budzą zainteresowania naukowe, ale stanowią ważny wkład w rozwój badań naukowych w reumatologii dziecięcej, mogą pomóc w lepszym poznaniu procesu chorobowego i leczenia MIZS.

Doktorantka wiele miejsca w swojej pracy poświęciła szeroko pojętej problematyce zachorowań na MIZS, obrazowi klinicznemu zespołu chorobowego a także klasyfikacji, diagnostyce i leczeniu. MIZS jest aktualnie głównym nurtem zainteresowań reumatologów dziecięcych na całym świecie. Ostatnie dwudziestopięciolecie to absolutny przełom w reumatologii, nowa epoka, era leczenia biologicznego. Nowoczesna diagnostyka serologiczna, immunologiczna, molekularna a także obrazowa zmieniła oblicze reumatologii,

w tym reumatologii dziecięcej. Wydaje się, że obecnie rola tych badań wzrasta szczególnie dlatego, że w związku z coraz lepszymi efektami leczenia dzieci chorujących na MIZS, konieczne jest coraz doskonalsze określenie i przybliżenie zagrożeń i powikłań wynikających z przebiegu choroby oraz skuteczniejsze personalizowanie terapii w poszczególnych przypadkach zachorowań. MIZS to jednostka chorobowa a heterogenna grupa chorób która w początkowym okresie może nie być w pełni zdefiniowana i dopiero w późniejszym etapie może spełniać kryteria jednostki chorobowej typowej dla wieku dorosłego. Niezwykle aktualnym wyzwaniem jest stale rosnąca grupa dzieci chorujących na MIZS wchodząca w dorosłość, jak wiemy z własnych doświadczeń jak i z licznych doniesień literaturowych, wczesne wykrycie MIZS i zastosowanie optymalnego schematu leczenia pozwala w większości przypadków uniknąć groźnych powikłań, kalectwa, niepełnosprawności, obniżenia jakości życia. Badania przeprowadzone przez Doktorantkę wpisują się w ważną i stale aktualną problematykę diagnostyki i leczenia MIZS, najczęstszej artropatii wieku dziecięcego, najczęstszej przyczyny niepełnosprawności w wieku rozwojowym.

Rozprawa doktorska powstała w jednym z największych i najważniejszych w Polsce ośrodków reumatologii dziecięcej w Klinice Kardiologii i Reumatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierowanej przez Panią Prof. Elżbietę Smolewską. Należy podkreślić, że Klinika Reumatologii Wieków Rozwojowych UMŁ, jest wiodącym ośrodkiem w tej dziedzinie w Polsce.

Praca ma charakter zbioru czterech publikacji naukowych: trzech prac oryginalnych i jednej poglądowej, celem pracy było usystematyzowanie dotychczasowej wiedzy o wpływie zmienności genetycznej na odpowiedź terapeutyczną i obecność efektów ubocznych MTX u dzieci z MIZS,

Od wielu lat poszukiwane są biomarkery odpowiedzi klinicznej na leczenie MTX w MIZS. Wciąż oczekujemy na rozwój farmakogenomiki, dziedziny naukowej oceniającej wpływ zmienności genetycznej na efekt terapeutyczny leków. Polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (*ang. single nucleotide polymorphism*, SNP) są odpowiedzialne za 90% zmienności międzysobniczej w ludzkim genomie. Jako potencjalnych kandydatów do roli biomarkera odpowiedzi terapeutycznej na ten lek wymieniano liczne SNP w obrębie genów związanych z wewnątrzkomórkowym metabolizmem MTX. Ze względu na to, że nadal badania i publikacje dotyczące farmakogenomiki w wieku rozwojowym są nieliczne, badania i opracowania doktorantki są niezwykle cenne, oczekujemy kontynuacji tych niezwykle ważnych i ze wszelkich miar interesujących dociekań naukowych.

Przytoczone wyniki badań naukowych świadczą o bardzo dużym zaangażowaniu i wskazuje na znaczący wkład pracy włożony w przygotowanie dysertacji.

### **Uwagi ogólne dotyczące pracy doktorskiej.**

Praca liczy 74 stron formatu A-4. Układ pracy jest czytelny, bardzo dobrze opracowany graficznie, typowy dla prac doktorskich. Zawartość pracy doktorskiej stanowi zasadniczy tekst, 41 tabel, nie zawiera rycin, oraz spis tabel a także wykaz skrótów i oznaczeń. Praca zawiera 11 rozdziałów, poczynając od wykaz prac wchodzących w skład cyklu, kończąc na piśmiennictwie i załącznikach. Streszczenia zamieszczono w początkowej części pracy. Poszczególne rozdziały zostały ponumerowane, zapewniając dobrą przejrzystość pracy.

### **Uwagi odnoszące się do poszczególnych części rozprawy.**

W rozdziale zatytułowanym „Wstęp”, Doktorantka przedstawiła definicję młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów i klasyfikację. W kolejnej części zostały omówione zagadnienia związane z diagnostyką oraz zasadami leczenia i rokowaniem w MIZS, zostaje omówiony schemat leczenia MTX pacjentów chorujących na MIZS, oraz zagadnienia związane farmakogenomiką i rolą biomarkerów w MIZS. W centrum zainteresowania Doktorantki znalazły się zagadnienia związane z czynnikami prognostycznymi oraz zasadami diagnostyki u pacjentów chorujących na MIZS, leczonych MTX.

Należy szczególnie podkreślić zainteresowanie Autorki najnowszymi doniesieniami naukowymi dotyczącymi MIZS, w szczególności bezpieczeństwa i skuteczności farmakoterapii.

W rozdziale „Cel pracy” Doktorantka przedstawia zasadnicze problemy, z którymi chce się zmierzyć w dalszej części pracy. Stanowią je następujące zagadnienia: usystematyzowanie oraz poszerzenie dotychczasowej wiedzy o wpływie zmienności genetycznej na efekt terapeutyczny MTX u pacjentów z MIZS.

Do szczegółowych zamierzeń pracy należały:

- ocena wpływu SNP w obrębie genów kodujących receptor adenozyliny A2A (*ADORA2A*, SNP rs2236624, rs2298383) oraz A3 (*ADORA3*, SNP rs3393) na odpowiedź kliniczną oraz obecność efektów ubocznych MTX,
- ustalenie związku pomiędzy SNP w obrębie genu członka rodziny transportera anionów organicznych 1B1 (*ang. solute carrier organic anion transporter family*

*member 1B1, SLCO1B1, SNP rs4149056, rs2306283*) a odpowiedzią kliniczną na leczenie MTX i obecnością efektów ubocznych stosowanej terapii,

- analiza dotycząca preferowanej metody podaży podskórnego MTX u dzieci z MIZS.

Zasadniczą, największą treściowo i objętościowo część pracy autorka przedstawiła w rozdziale 6, w którym przedstawiła i omówiła treść publikacji wchodzących w skład cyklu. Publikacja I ma charakter poglądowy. Jej celem było usystematyzowanie dotychczasowej wiedzy o wpływie polimorfizmów genetycznych na efekt leczenia MTX u pacjentów z MIZS. Publikacja II to praca oryginalna, której celem było porównanie dwóch dostępnych na rynku metod podaży podskórnego MTX, ampułkostrzykawki i pena, pod kątem preferencji terapeutycznych pacjentów i ich rodziców oraz częstości występowania objawów niepożądanych terapii.

Publikacja III to praca oryginalna. Jej celem była ocena wpływu SNP w genach kodujących receptory adenozyliny A2A (*ADORA2A*, rs2236624, rs2298383) oraz 3 (*ADORA3*, rs3393) na efekt terapeutyczny MTX w MIZS oraz obecność efektów ubocznych stosowanej terapii.

Publikacja IV to również praca oryginalna, dotycząca oceny wpływu SNP (rs4149056, rs2306283) w obrębie genu członka rodziny transporterów anionów organicznych 1B1 (*ang. solute carrier organic anion transporter family member 1B1, SLCO1B1*) na odpowiedź terapeutyczną i obecność efektów ubocznych leczenia MTX u dzieci z MIZS.

Wszystkie oryginalne publikacje znalazły się w omawianym rozdziale.

W kolejnym rozdziale [7. Wnioski], Doktorantka przedstawiła wnioski wynikające z przeprowadzonych badań:

Publikacja I:

- Zmienność genetyczna w obrębie genów związanych z wewnątrzkomórkowymi przemianami MTX ma wpływ na efekt terapeutyczny oraz obecność objawów ubocznych leczenia MTX u chorych dorosłych z RZS.

- Badania dotyczące wpływu SNP na efekt terapeutyczny MTX w MIZS są nieliczne, a ich wyniki często są ze sobą sprzeczne.

- Wpływ SNP na efekt leczenia MTX w MIZS jest obiecującym kierunkiem do dalszych badań, szczególnie istotne wydaje się zastosowanie w tym celu badań asocjacyjnych całego genomu.

## Publikacja II:

- Pen jest preferowaną formą podaży podskórnego MTX u dzieci z MIZS.
- Dla pacjentów z MIZS oraz ich opiekunów podskórny pen z MTX jest łatwiejszy w użyciu niż ten sam lek w formie ampułkostrzykawki.
- Podczas stosowania podskórnego MTX w formie pena nasilenie bólu związanego z iniekcją jest niższe niż w postaci ampułkostrzykawki. U dzieci leczonych podskórnym MTX w postaci pena objawy niepożądane ze strony przewodu pokarmowego występują rzadziej.

## Publikacja III:

- Pacjenci z wariantem TT ADORA3 rs3393 już w momencie rozpoczęcia leczenia MTX mieli wyższą aktywność choroby niż dzieci z wariantami CT/CC.
- Pacjenci ADORA3 rs3393 TT po 4-6 miesiącach leczenia MTX osiągnęli gorszą odpowiedź terapeutyczną na MTX niż pacjenci CT/CC – wyrażoną istotnie większą liczbą stawów z aktywnym stanem zapalnym, wyższym stężeniem CRP, oraz wartością CHAQ.
- Nie wykazano związku pomiędzy SNP rs2236624 oraz rs2298383 w obrębie genu ADORA2A a odpowiedzią terapeutyczną na MTX w MIZS.
- Pacjenci z MIZS z wariantami CT/TT rs2236624 ADORA2A mają wyższe ryzyko rozwoju objawów niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego związanych z terapią MTX.

## Publikacja IV:

- Warianty CT/CC SLCO1B1 wiążą się z większą częstością występowania objawów niepożądanych MTX.TT.
- Hepatotoksyczność w przebiegu leczenia MTX obserwowana jest częściej u pacjentów TT rs4149056 SLCO1B1 niż u dzieci z wariantami CT/CC.
- Nie wykazano związku pomiędzy SNP rs4149056 oraz rs2306283 w obrębie genu SLCO1B1 a efektem leczenia MTX u chorych z MIZS.

W końcowej części pracy Doktorantka zamieściła wykaz skrótów, piśmiennictwo oraz oświadczenia autorów.

Wnioski wypływające z wykonanych badań, zamieszczone w kolejnych publikacjach, stanowią niezwykle wartościowe jej podsumowanie, wynikają z przeprowadzonej wnikliwej analizy uzyskanych wyników. Wykonana niezwykle wartościowa praca, świadczy o dużym zaangażowaniu autorki w problematykę leczenia MTX dzieci chorujących MIZS oraz wręcz dogłębnej znajomości tego zagadnienia.

Przedstawione i cytowane piśmiennictwo obejmujące 35 pozycji, jest dobrane prawidłowo i potwierdza znajomość tematyki pracy przez Panią Doktor Justynę Roszkiewicz.

Rolą recenzenta jest również ocena języka pracy doktorskiej. Staranne i przejrzyste przedstawienie złożonej tematycznie pracy stanowi o jej wartości pozamerytorycznej.

Dbłość 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 bardzo dobrze, dysertacja stanowi istotny wkład w podniesienie wiedzy na temat leczenia MTX dzieci chorujących na MIZS. Wkład autorki w przeprowadzone wnikliwie badania oraz szczegółowa analiza i przedstawione wnioski z kolejnych publikacji świadczą o jej wysokiej pozycji w dotychczasowych badaniach nad zagadnieniami leczenia chorób reumatycznych u dzieci, wysiłek ten powinien być doceniony.

W poszczególnych fragmentach pracy widoczne jest duże zaangażowanie Doktorantki. Praca przedstawia niezwykle cenne obserwacje naukowe. Jest napisana w sposób bardzo dobry, przystępny i przejrzysty, dobrze oddając intencje autorki. Całościowo, zarówno praca, jak również użyty język przekazu w pełni odpowiadają wymaganiom stawianym tekstom naukowym.

W mojej opinii praca przygotowana przez Doktorantkę Justynę Roszkiewicz w pełni spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim, **pracę oceniam bardzo dobrze, pracę można uznać za wyróżniającą się.**

Zwracam się do Szanownego Pani Przewodniczącej i Wysokiej Rady Naukowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Pani Doktor Justyny Roszkiewicz do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych.

Z wyrazami szacunku Zbigniew Żuber

*Zbigniew Żuber*