

Kraków, dnia 10 maja 2024 r.

**RECENZENT**

dr hab. n. med. Zbigniew Żuber, prof. nadzw.  
Katedra Pediatrii Wydziału Lekarskiego  
Krakowskiej Akademii A. Frycza-Modrzewskiego  
Klinika Pediatrii i Reumatologii  
Szpitala Dziecięcego św. Ludwika w Krakowie

**Recenzja rozprawy na stopień  
doktora nauk medycznych  
Lekarz Agnieszki Byrwa – Sztaba**

**Etiopatogeneza wybranych objawów niepożądanych stosowania  
pamidronianu sodu u dzieci z wrodzoną łamliwością kości – rola FGF23.**

**Praca na stopień doktora nauk medycznych**

**Promotor: dr hab. n. med. prof. UM Elżbieta Jakubowska – Pietkiewicz**

**Klinika Pediatrii, Patologii Noworodka i Chorób Metabolicznych Kości  
I Katedra Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi**

Przedstawiona do recenzji praca Pani Doktor Agnieszki Byrwa – Sztaba jest zatytułowana: Etiopatogeneza wybranych objawów niepożądanych stosowania pamidronianu sodu u dzieci z wrodzoną łamliwością kości – rola FGF23.

Praca ma charakter monograficznego opracowania, oceniającego związki pomiędzy stężeniem FGF23 a wybranymi objawami niepożądanymi, takimi jak hipofosfatemia i hiperfosfaturia u dzieci leczonym pamidronianem sodu z powodu wrodzonej łamliwości kości. Przedstawione wyniki badań naukowych świadczą o bardzo dużym zaangażowaniu i wskazuje na znaczący wkład pracy włożony w przygotowanie dysertacji.

Cele pracy Pani Doktor to:

ocena związku pomiędzy stężeniem czynnika wzrostu fibroblastów 23 (FGF23) a wybranymi objawami niepożądanymi, takimi jak hipofosfatemia i hiperfosfaturia u dzieci leczonym pamidronianem sodu z powodu wrodzonej łamliwości kości.

Autorka określiła także, szczegółowe hipotezy badawcze:

- Jakie jest stężenie FGF23 w badanej grupie dzieci z wrodzoną łamliwością kości i czy różni się ono od wartości referencyjnych w zdrowej populacji dzieci i młodzieży?
- Czy przebieg wrodzonej łamliwości kości, w tym typ choroby, liczba złamań kości i gęstość mineralna kości są związane ze stężeniem FGF23?
- Jak często w przebiegu leczenia pamidronianem sodu w analizowanej grupie dzieci z OI obserwowana jest hipofosfatemia i hiperfosfaturia oraz jaki jest związek pomiędzy stężeniem FGF23 a zmianami stężenia fosforu w surowicy krwi i moczu w przebiegu leczenia wrodzonej łamliwości kości?
- Czy stężenie FGF23 wpływa na inne wskaźniki gospodarki wapniowo – fosforanowej i markery obrotu kostnego w trakcie podaży leku?

Uzyskane odpowiedzi na przedstawione hipotezy pozwalają na ocenę związku pomiędzy czynnikiem wzrostu fibroblastów 23 (FGF 23) a hipofosfatemią i hiperfosfaturią u dzieci i młodzieży z wrodzoną łamliwością kości leczonych pamidronien sodu. Zaplanowane badanie pozwala na ocenę roli FGF23 w przebiegu wrodzonej łamliwości kości (OI), a poprzez to udzielenie odpowiedzi na zasadnicze, praktyczne pytanie: czy stężenie czynnika wzrostu fibroblastów powinno być oznaczane w tej grupie dzieci i młodzieży?

Doktorantka w swojej zasługującej na wyróżnienie pracy podejmuje bardzo ważny problem leczenia farmakologicznego dzieci i młodzieży z rozpoznaniem wrodzonej łamliwości kości z zastosowaniem pamidronianu sodu. Standardowe postępowanie terapeutyczne może prowadzić do wystąpienia objawów niepożądanych związanych zarówno z reakcją ostrej fazy jak i zaburzeniami gospodarki wapniowo – fosforanowej. Na ogół mają one charakter przemijający, wymagają monitorowania i leczenia objawowego. Objawy niepożądane nie wpływają na efektywność leczenia, a częstość ich występowanie maleje podczas wieloletniej terapii. Etiologia tych objawów nie jest do końca poznana.

Nowoczesne, znakomicie metodycznie opracowane badanie doktorantki, jest przykładem doskonałego rozwoju indywidualnego Pani Doktor pod kierownictwem Pani Profesor Elżbiety Jakubowskiej – Pietkiewicz. Przedstawione opracowanie naukowe, nie tylko budzą zainteresowanie naukowe, ale stanowią ważny wkład w rozwój badań naukowych w pediatrii i reumatologii dziecięcej, mogą pomóc w lepszym poznaniu procesu chorobowego i leczenia chorób metabolicznych kości.

Doktorantka wiele miejsca w swojej pracy poświęciła szeroko pojętej problematyce zastosowania leczenia bisfosfonianami u dzieci, efektem terapeutycznym ich działania a także schematom leczenia pamidronianem sodu u dzieci. Autorka z dużą uwagą omówiła działania niepożądane terapii bisfosfonianami. Istotne miejsce w pracy znalazła gospodarka wapniowo – fosforanowa w organizmie. W dalszym etapie pracy Autorka opisała charakterystykę ogólną i działanie czynnik wzrostu fibroblastów 23 (FGF23). Kolejną pozycją jest charakterystyka wrodzonej łamliwości kości. Choroby metaboliczne kości to aktualnie z głównych nurtów zainteresowań pediatrów i reumatologów dziecięcych na całym świecie. Ostatnie dwudziestopięciolecie to absolutny przełom w medycynie, także w pediatrii i reumatologii, to nowa epoka, era leczenia biologicznego, czyli leczenia skierowanego na cel. Nowoczesna diagnostyka serologiczna, immunologiczna, molekularna a także obrazowa zmieniła oblicze pediatrii i reumatologii, określenie dokładnych przyczyn patogenetycznych jest prostą drogą do opracowania skutecznych terapii. Wydaje się, że obecnie rola badań badań wzrasta szczególnie dlatego, że w związku z coraz lepszymi efektami leczenia dzieci chorujących na choroby narządu ruchu, konieczne jest coraz doskonalsze określenie i przybliżenie zagrożeń i powikłań wynikających z przebiegu choroby oraz zastosowanego leczenia. Tylko skuteczniejsze personalizowanie terapii w poszczególnych przypadkach zachorowań oraz monitorowanie działań niepożądanych pozwoli na skuteczniejszą kontrolę przebiegu choroby i zapobieganie działaniom niepożądanych. Niezwykle aktualnym wyzwaniem jest rola czynników ryzyka wystąpienia działań niepożądanych, także odległych. Wczesne

wykrycie chorób metabolicznych kości, zastosowanie optymalnego schematu leczenia bisfosfonianami i zastosowanie metod kompleksowej opieki 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 chorób metabolicznych kości bisfosfonianami.

Rozprawa doktorska powstała w Klinice Pediatrii, Patologii Noworodka i Chorób Metabolicznych Kości Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w jednym z największych i najważniejszych w Polsce ośrodków zajmujących się chorobami metabolicznymi kości, pod kierunkiem wybitnej ekspertki w tej dziedzinie, Pani Profesor Elżbiety Jakubowskiej – Pietkiewicz. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej nr RNN/37/19/KE z dnia 15 stycznia 2019 roku. Badanie było prowadzone w Klinice Pediatrii Patologii Noworodka i Chorób Metabolicznych Kości w okresie od sierpnia 2019 do września 2020 roku.

Do badania włączono 43 dzieci z wrodzoną łamliwością kości, potwierdzoną badaniem genetycznym, w wieku 3-17 lat leczonych pamidronianem sodu w trzydniowych cyklach raz na cztery miesiące. U wszystkich przeprowadzono dokładną analizę przebiegu choroby z uwzględnieniem liczby złamań kości i cykli terapii bisfosfonianami oraz objawami niepożądanymi związanymi z podażą leku. Wykonano pomiary antropometryczne zgodnie z przyjętymi metodami i badanie densytometryczne kośćca metodą podwójnej absorpcjometrii rentgenowskiej (DXA) w opcjach total body less head (TBLH) i spine, oceniono wskaźnik Z-score. Oznaczono stężenie metabolitów witaminy D: wątrobowego metodą ELISA i nerkowego metodą CLIA. Przed podaniem leku i po zakończeniu jego podaży oceniono morfologię krwi, CRP, parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej w surowicy krwi i moczu zgodnie z przyjętymi metodami oraz stężenie FGF23 metodą ELISA. Obliczenia statystyczne zostały wykonane za pomocą programu statystycznego R w wersji 4.2.1 (R Core Team (2022)).

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

Praca liczy 122 strony formatu A-4. Układ pracy jest czytelny, bardzo dobrze opracowany graficznie, typowy dla prac doktorskich. Praca zawiera 13 rozdziałów, poczynając od wstępu w którym Doktorantka przedstawia zasady leczenia bisfosfonianami u dzieci, działanie czynnik wzrostu fibroblastów 23 (FGF23) a także charakterystykę wrodzonej łamliwości kości. W kolejnych rozdziałach Doktorantka przedstawia cel pracy oraz materiał i metody oraz zasadniczą, najobszerniejszą część pracy, czyli wyniki badań własnych oraz wnioski. Dalsza część pracy – dyskusja jest także bardzo istotnym elementem dysertacji. 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 zasady leczenia bisfosfonianami u dzieci, efekty terapeutyczne ich działania a także stosowane schematy leczenia pamidronianem sodu u dzieci. Autorka omówiła działania niepożądane terapii bisfosfonianami, w dalszej części wstępu omówiona została gospodarka wapniowo – fosforanowa, w kolejnej części pracy Pani Doktor opisała charakterystykę ogólną i działanie czynnik wzrostu fibroblastów 23 (FGF23). Kolejną pozycją jest charakterystyka wrodzonej łamliwości kości.

W rozdziale „Cel pracy” Doktorantka przedstawia zasadnicze problemy, które starała się opracować w swoich badaniach. Stanowią je następujące zagadnienie:

Ocena związku pomiędzy stężeniem FGF23 a wybranymi objawami niepożądanymi, takimi jak hipofosfatemia i hiperfosfaturia u dzieci leczonym pamidronianem sodu z powodu wrodzonej łamliwości kości.

Dodatkowo Doktorantka przedstawiła cele szczegółowe:

- Jakie jest stężenie FGF23 w badanej grupie dzieci z wrodzoną łamliwością kości i czy różni się ono od wartości referencyjnych w zdrowej populacji dzieci i młodzieży?
- Czy przebieg wrodzonej łamliwości kości, w tym typ choroby, liczba złamań kości i gęstość mineralna kości są związane ze stężeniem FGF23?
- Jak często w przebiegu leczenia pamidronianem sodu w analizowanej grupie dzieci z OI obserwowana jest hipofosfatemia i hiperfosfaturia oraz jaki jest związek pomiędzy stężeniem FGF23 a zmianami stężenia fosforu w surowicy krwi i moczu w przebiegu leczenia wrodzonej łamliwości kości?

- Czy stężenie FGF23 wpływa na inne wskaźniki gospodarki wapniowo – fosforanowej i markery obrotu kostnego w trakcie podaży leku?

Kolejnym zagadnieniem jakie Autorka postawiła sobie było pytanie, czy uzyskane wyniki zaplanowanych badań pozwolą na wyjaśnienie związku pomiędzy czynnikiem wzrostu fibroblastów 23 a hipofosfatemią i hiperfosfaturią u dzieci i młodzieży z wrodzoną łamliwością kości leczonych pamidronien sodu.

Kolejną częścią pracy jest rozdział „Materiał i metody”, w którym umieszczone zostały kryteria kwalifikacji grupy badanej, analiza dokumentacji medycznej, charakterystyka badanych wskaźników laboratoryjnych a także metody analizy statystycznej.

W rozdziale 4, najobszerniejszym i stanowiącym trzon dysertacji, Doktorantka przedstawiła wyniki badań własnych, kolejno omawiając następujące podrozdziały: charakterystyka grupy badanej, wyniki FGF23 w badanej grupie dzieci z wrodzoną łamliwością kości, zmiany w wybranych parametrach morfologicznych przed i po podaniu leku w badanej grupie dzieci z wrodzoną łamliwością kości, zmiany w wybranych parametrach biochemicznych przed i po podaniu leku w badanej grupie dzieci z wrodzoną łamliwością kości, zmiany w wybranych parametrach gospodarki wapniowo – fosforanowej przed i po podaniu leku w badanej grupie dzieci z wrodzoną łamliwością kości. Końcowym fragmentem tego rozdziału było omówienie korelacji wybranych parametrów z FGF23 w grupie badanej.

Rozdział 5 stanowi „Dyskusja” w którym Pani Doktor szeroko i z ogromną znajomością literatury omawia związek pomiędzy objawami klinicznymi, parametrami biochemicznymi i densytometrycznymi u dzieci z wrodzoną łamliwością kości a także związek pomiędzy parametrami antropometrycznymi, parametrami biochemicznymi i densytometrycznymi a FGF23 u dzieci z wrodzoną łamliwością kości. Autorka w tym rozdziale przedstawia wyniki własnych badań w konfrontacji z dobrze dobranymi doniesieniami z piśmiennictwa.

Rozdział 6 dysertacji „Wnioski” przedstawia podsumowanie wyników uzyskanych przez Panią Doktor, które przedstawiam poniżej:

- W badanej grupie dzieci i młodzieży z wrodzoną łamliwością kości średnie stężenie FGF23 wynosiło 645,09 pg/ml i mieściło się w granicach wartości referencyjnych dla populacji wieku rozwojowego
- Nie wykazano związku pomiędzy stężeniem FGF23 a typem wrodzonej łamliwości kości, jej przebiegiem klinicznym i gęstością mineralną kości w badanej grupie dzieci i młodzieży
- Hipofosfatemia wystąpiła u 10 dzieci podczas leczenia pamidronianem sodu w analizowanym okresie, co stanowi 21,3% grupy badanej, hiperfosfaturia natomiast u 28 pacjentów (59,6%). Wykazano związek pomiędzy stężeniem fosforu w surowicy a stężeniem

FGF23 przed podaniem leku. Nie potwierdzono istotnie statystycznego związku pomiędzy hiperfosfaturią a stężeniem czynnika wzrostu fibroblastów 23

- Stężenie FGF 23 w trakcie podaży leku nie wpływa na pozostałe wskaźniki gospodarki wapniowo-fosforanowej i markery obrotu kostnego
- W ocenianej grupie dzieci i młodzieży z wrodzoną łamliwością kości leczonych pamidronianem sodu nie wykazano związku pomiędzy stężeniem FGF23 a wybranymi objawami niepożądanymi występującymi podczas podaży leku
- Stężenie FGF23 nie ma wpływu na przebieg wrodzonej łamliwości kości w badanej grupie dzieci, nie jest konieczne oznaczanie jego stężenia u tych pacjentów.

W końcowej części pracy Doktorantka zamieściła wykaz skrótów, piśmiennictwo oraz streszczenie i abstract, spis rycin, spis tabel oraz załączniki.

Wnioski wypływające z wykonanej pracy badawczej, zamieszczone w rozdziale „Wnioski”, stanowią wartościowe jej podsumowanie, wynikają z przeprowadzonej wnikliwej analizy uzyskanych rezultatów badań. Wykonana niezwykle wartościowa praca, świadczy o dużym zaangażowaniu autorki w problematykę diagnostyki i leczenia dzieci chorujących na wrodzoną łamliwość kości oraz zagrożeń wynikających z leczenia bisfosfonianami w tej grupie chorych. Zebranie tak dużej grupy chorych na OI, zasługuje na szczególne wyróżnienie. Analizując przedstawioną do recenzji pracę, mogę stwierdzić, że Doktorantka wykazała się z dogłębną znajomością omawianego zagadnienia.

Przedstawione i cytowane piśmiennictwo obejmujące 214 pozycji, jest dobrane prawidłowo i potwierdza znajomość tematyki pracy przez Panią Doktor Agnieszkę Byrwa – Sztaba.

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 ryzyka działań niepożądanych leczonych bisfosfonianami u dzieci chorujących na wrodzoną łamliwość kości. Wkład autorki w przeprowadzone wnikliwie badania oraz szczegółowa analiza i przedstawione wnioski świadczą o wysokiej pozycji Autorki i ośrodka kierowanego przez Panią Profesor Elżbietę Jakubowską – Pietkiewicz w dotychczasowych badaniach nad zagadnieniami leczenia dzieci z wrodzoną łamliwością. Wysiłek włożony przez Panią Doktor w powstanie tej dysertacji 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.

Przedstawiona przez Doktorantkę dysertacja stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, dowodzi posiadania wiedzy teoretycznej w dyscyplinie nauki medycznej oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Rozprawa doktorska Pani Doktor Agnieszki Byrwa – Sztaba spełnia formalne i merytoryczne warunki stawiane rozprawom doktorskim, 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 związku z art.179 ust.1 Ustawy z dn. 3 lipca 2018 r, przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r. poz. 1669 ze zm.)”.

W mojej opinii praca przygotowana przez Doktorantkę Panią Doktor Agnieszkę Byrwa – Sztaba, 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 Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie Panią Doktor Agnieszkę Byrwa – Sztaba do dalszych etapów przewodu na stopień doktora nauk medycznych.

Z wyrazami szacunku Zbigniew Żuber

