

Prof. dr hab. Andrzej Urbanik
Katedra Radiologii
Collegium Medicum UJ
ul. Kopernika 19
31-501 Kraków

Kraków, 26 kwietnia 2021

OCENA PRACY DOKTORSKIEJ
mgr Anny Marcinkowskiej
Zastosowanie traktografii i oceny neuropsychologicznej
u dorosłych pacjentów ze stwardnieniem guzowatym

Przedstawiona do recenzji praca związana jest ze stosunkowo rzadko występującą chorobą jaka jest Stwardnienie Guzowate (*Tuberous Sclerosis Complex, TSC*), znane także jako zespół Bourneville'a-Pringle'a. Szacuje się, że na całym świecie na TSC choruje około 2 miliony osób, w tym w Polsce liczba chorych to ponad 6000. TSC jest chorobą genetyczną zaliczaną do tzw. fakomatoz i jest dziedziczone w sposób autosomalny dominujący. Obraz kliniczny nasilenia poszczególnych objawów różni się znacząco pomiędzy chorymi, nawet w obrębie jednej rodziny. Jest to przyczyną dużych trudności w diagnostyce stwardnienia guzowatego. Z powodu szerokiego spektrum objawów klinicznych choroby, wiele przypadków pozostaje nierozpoznanych. Z kolei zaburzenia neuropsychiatryczne związane z TSC tzw. *Tuberous Sclerosis Associated Neuropsychiatric Disorders (TAND)* są niewystarczająco dokładnie zbadane i wciąż pozostaje niejasny związek między wynikami neuroobrazowania a fenotypem neuropsychiatrycznym TSC. Pomimo dużego zainteresowania badaniami dotyczącymi TSC w ciągu ostatnich dwóch dziesięcioleci, nadal istnieją luki w pełnym zrozumieniu funkcjonowania osób z tą chorobą i procesów neuropatologicznych leżących u jej podstaw.

Biorąc to pod uwagę, wybór tematu uważam za udany a pracę za ważną dla praktyki klinicznej.

Praca podzielona jest na 4 główne rozdziały (do układu pracy recenzent odniósł się w uwagach), liczy 142 strony oraz zawiera 15 rycin i 25 tabel. Piśmiennictwo obejmuje 249 pozycji.

Pracę otwiera spis treści oraz streszczenie (w języku polskim i angielskim).

W rozdziale I (WSTĘP) Autorka przedstawiła tematykę będącą przedmiotem pracy. W tym celu opisała zagadnienia związane z TSC: historia badań, etiologia i patogeneza, zmiany w układzie nerwowym oraz objawy neurologiczne. Osobno przedstawiła zaburzenia neuropsychiatryczne a także zaburzenia funkcji poznawczych u dorosłych pacjentów z TSC. Opisała także zastosowanie techniki obrazowania tensora dyfuzji rezonansu magnetycznego. Jest to obszerny (46 stron) rozdział napisany bardzo starannie i mogący być osobno monografią na temat TSC.

Rozdział II (BADANIA WŁASNE) został podzielony na 4 podrozdziały: cele pracy, hipotezy badawcze, materiał i metody oraz zastosowane metody analizy statystycznej.

Autorka jako cel główny zdefiniowała przeprowadzenie oceny funkcjonowania poznawczego (funkcji wykonawczych, uwagi, pamięci oraz funkcji wzrokowo-przestrzennych) osób dorosłych ze stwardnieniem guzowatym w normie intelektualnej, bez i z padaczką w wywiadzie oraz ustalenie korelacji charakterystyki funkcjonowania poznawczego z obrazem połączeń strukturalnych istoty białej, przedstawionym na podstawie traktografii rezonansu magnetycznego (DTI).

W celu realizacji celu głównego Autorka wyróżniła następujące cele szczegółowe:

1. Ustalenie charakterystyki funkcjonowania poznawczego osób dorosłych z TSC w normie intelektualnej, bez i z padaczką w historii, ze szczególnym uwzględnieniem funkcji wykonawczych, uwagi, pamięci oraz funkcji wzrokowo-przestrzennych.
2. Porównanie współczynników dyfuzji pozornie niezmiennych włókien istoty białej mózgowia chorych z TSC bez i z padaczką, przy zastosowaniu traktografii rezonansu magnetycznego.
3. Powiązanie zmian w obrębie połączeń strukturalnych u osób ze stwardnieniem guzowatym z ich profilem zaburzeń poznawczych.
4. Ustalenie, które ze zmian w obrębie mózgowia (guzy korowo-podkorowe czy zmiany w obrębie połączeń strukturalnych) lepiej wyjaśniają deficyty neuropsychologiczne.

Sformułowała również następujące hipotezy badawcze:

1. U wysoko funkcjonujących osób ze stwardnieniem guzowatym i padaczką występują głębsze zaburzenia funkcji poznawczych niż u osób z TSC bez padaczki.
Natomiast osoby z TSC bez padaczki prezentują głównie zaburzenia funkcji wykonawczych.

2. U osób ze stwardnieniem guzowatym współczynniki dyfuzji wskazują na zaburzenie mielinizacji i uszkodzenie neuronów w obrębie pozornie niezmienionej istoty białej. U osób ze stwardnieniem guzowatym i padaczką parametry dyfuzji wskazują również na zaburzenie w obrębie aksonów.
3. Z wynikami testów neuropsychologicznych korelują wskaźniki dyfuzji świadczące o nieprawidłowościach w obrębie mieliny.
4. Wskaźniki DTI lepiej wyjaśniają deficyty funkcjonowania poznawczego osób z TSC niż wskaźniki objętości guzów korowo-podkorowych.

Badanie uzyskało zgodę (nr KNBBN/682/2018-2019) Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym.

Kwalifikacja do projektu została przeprowadzona za pomocą Listy Kontrolnej TAND wśród chorych, którzy zgłosili się do leczenia lub konsultacji.

W kwalifikacji do badania wzięło udział 100 pacjentów, którzy spełnili następujące kryteria:

1. postawiono u nich pewną diagnozę na podstawie międzynarodowych kryteriów diagnostycznych dla TSC zaktualizowanych w 2012 roku,
2. ukończyły 18 rok życia,
3. wyraziły zgodę na udział w badaniu.

Finalnie do grupy badawczej włączono 37 pacjentów z TSC spełniających następujące kryteria:

1. brak niepełnosprawności intelektualnej,
2. brak zaburzeń ze spektrum autyzmu,
3. brak przeciwwskazań do badania metodą MR.

Osoby z TSC zostały podzielone na dwie grupy:

- występowanie aktualnie lub w przeszłości napadów padaczkowych – EpiTSC (18 osób) oraz
- grupa bez epilepsji – NEpiTSC (19 osób).

Grupę kontrolną stanowiło 37 zdrowych ochotników odpowiadających pod względem wieku i wykształcenia do grupy TSC. Kryteria włączenia dla grupy kontrolnej:

1. ukończony 18 rok życia,
2. brak zaburzeń psychiatrycznych, neurorozwojowych oraz uzależnień,
3. brak chorób neurologicznych, układu krążenia lub cukrzycy,
4. wyrażenie zgody na udział w badaniu,
5. brak przeciwwskazań do wykonania badania MR.

Wszyscy zakwalifikowani pacjenci ze stwardnieniem guzowatym oraz grupa kontrolna zostali poddani kompleksowemu badaniu neuropsychologicznemu (Lista Kontrolna TAND, Kalifornijski Test Uczucia się Językowego, Test Figury Złożonej Rey'a, Test Łączenia Punktów, Test fluencji słownej, Szpitalna Skala Lęku i Depresji) w celu oceny funkcji poznawczych.

Następnie u wszystkich pacjentów i ochotników wykonano badania obrazowe z użyciem systemu MR Philips Achieva 3.0T z zastosowaniem 32-kanalowej cewki głowowej. Obrazowanie mózgu przeprowadzono zgodnie ze stałym protokołem. Przed podaniem środka kontrastującego: obrazowanie T2-zależne (w sekwencji Turbo Spin Echo - TSE), T1-zależne (w sekwencji Turbo Field Echo – TFE), FLAIR w trzech płaszczyznach akwizycji. Po podaniu środka kontrastującego: obrazowanie T1-zależne w płaszczyźnie strzałkowej.

W uzupełnieniu do podstawowych badań obrazowych przeprowadzono badania w technice tensora dyfuzji (TDI). Stosowano stałe parametry: wartość współczynnika $b = 0$ s/mm² oraz 800 s/mm² z wykorzystaniem 32 kierunków gradientu dyfuzyjnego, TR = 6900ms, TE = 65ms, wielkość woksela 2mm x 2mm x 2mm, pole widzenia 230mm x 230mm, 70 warstw, liczba powtórzeń = 1. Dane obrazowe DTI zostały poddane analizie – zidentyfikowano dziewięć traktów specyficznych dla każdej półkuli oraz dwa odcinki spoidłowe. W sumie, w analizach uwzględniano 20 ścieżek.

Analiza statystyczna została wykonana przy wykorzystaniu oprogramowania SPSS 26. Porównano obie grupy TSC z grupą kontrolną oraz grupy ze stwardnieniem guzowatym między sobą. W zależności od wyników testów normalności rozkładu stosowano test t-studenta lub U-Manna-Whitneya. Oceniając wyznaczone włókna NAWM dokonano

porównań międzygrupowych czterech parametrów DTI. Następnie sprawdzono normalność rozkładu i w oparciu o wyniki testów normalności rozkładu dokonano porównania grup niezależnych z wykorzystaniem testu t-studenta lub U-Manna-Whitneya z uwzględnieniem poprawki Bonfferoniego. Przyjęto poziom istotności $p \leq 0,0025$.

Obliczenia objętości (objętość wewnątrzczaszkowa oraz guzów korowo-podkorowych) dokonywało dwóch niezależnych obserwatorów - wyliczono współczynnik zgodności Kendalla dla oceny zgodności ich ocen.

Sprawdzono również korelacje wskaźników DTI z wskaźnikami demograficznymi oraz wynikami prób psychologicznych.

Rozdział III (Wyniki) został podzielony na 3 podrozdziały: dane psychologiczne, wyniki analiz neuroobrazowych i wyniki korelacji danych demograficznych i poznawczych z danymi neuroobrazowymi. Rozdział ten liczy 24 strony i ilustrowany jest 20 tabelami oraz 4 rycinami. Autorka przedstawiła w nim w czytelny sposób wyniki przeprowadzonych analiz.

Rozdział IV (Dyskusja)

Rozdział zawiera, oprócz dyskusji, także podsumowanie, bibliografię oraz spis tabel i rycin.

Na 15 stronach autorka odwołuje się 52 razy do analogicznych publikacji dyskutując rzeczowo z ich autorami. Wykazuje się przy tym dużą wiedzą w analizowanym temacie. Co ważne, ocenia krytycznie uzyskane rezultaty własnych wyników.

W tym rozdziale znajduje się także Podsumowanie, Bibliografia, Spis tabel, Spis rycin. Podsumowanie jest jednocześnie zestawieniem wniosków, ponieważ nie ma takiego wyodrębnionego rozdziału. Można w nim znaleźć następujące wnioski:

1.

1a. Osoby ze stwardnieniem guzowatym i padaczką charakteryzują globalne zaburzenia funkcji poznawczych w porównaniu z osobami zdrowymi w podobnym wieku. Wyniki testów i prób neuropsychologicznych w tej grupie badanych wskazują na występowanie zaburzeń poznawczych w zakresie procesów uwagi, pamięci i uczenia się oraz funkcji wykonawczych.

1b. W grupie pacjentów ze stwardnieniem guzowatym bez padaczki, w porównaniu do grupy osób zdrowych, dominują deficyty funkcji wykonawczych oraz pamięci werbalnej. Deficyty te również mogą świadczyć o zaburzeniach systemu wykonawczego.

2.

2a. W obu grupach ze stwardnieniem guzowatym w obrębie NAWM istnieją różnice mikrostrukturalne. Zaobserwowano większą liczbę mikrostrukturalnych zmian w obrębie pozornie niezmienionej istoty białej w grupie z padaczką, względem grupy bez padaczki. W grupie chorych z TSC i padaczką najczęściej różnice istotne dotyczyły parametru średniej dyfuzyjności.

2b. W porównaniu średnich wartości współczynników dyfuzji dla grup bez padaczki i kontrolnej różnice istotne statystycznie zaobserwowano w 7 pasmach NAWM. Zaobserwowano istotne różnice dyfuzyjności promieniowej i osiowej wskazujące na uszkodzenie mieliny oraz aksonów.

3.

W grupie EpiTSC najbardziej czułym na zmiany mikrostrukturalne, testem neuropsychologicznym okazał się być Kalifornijski Test Uczenia się Językowego. Zaobserwowano silny związek między parametrem RD, świadczącym o uszkodzeniu w obrębie mieliny a wykonaniem testów pamięci werbalnej. Wskaźnik anizotropii frakcjonowanej w tej grupie chorych korelował dodatnio w przypadku sześciu szlaków istoty białej z testem funkcji wzrokowo-przestrzennych.

4.

4a. Brak istotnych korelacji między wskaźnikami objętości guzów a wynikami prób neuropsychologicznych. Dominujące w aktualnych badaniach postrzeganie stwardnienia guzowatego i obecnych w jego obrazie zaburzeń neuropsychologicznych jako wyniku obecności guzów korowo-podkorowych jest błędne.

4b. Miarą czułą na występowanie deficytów w obrębie koncentracji uwagi oraz pamięci operacyjnej okazał się być wskaźnik średniej dyfuzyjności. Zaobserwowano, że u chorych bez padaczki wskaźnik uszkodzenia aksonów jest bardziej czuły na występowanie zaburzeń uczenia się niż w grupie chorych ze współwystępującą epilepsją.

Przedstawione wnioski odpowiadają wyznaczonym celom szczegółowym.

Bibliografia zawiera 249 pozycji, w większości nowych. Artykuły z ostatnich 15 lat stanowią bowiem 60% a najnowsze z ostatnich 5 lat 18%; do bibliografii recenzent odniósł się w uwagach.

Podsumowując:


1. Praca dotyczy istotnego klinicznie tematu.
2. Wartościowym jest połączenie metod neuropsychologicznych a także obrazowych.
3. Cenne jest zastosowanie zaawansowanej techniki rezonansu magnetycznego jaką jest technika tensora dyfuzji.
4. Praca napisana jest jasnym i zrozumiałym językiem.
5. Ilustracje są czytelne i ułatwiają zrozumienie przedstawionej pracy.
6. Na podkreślenie zasługuje duży wkład pracy jaki autorka włożyła w opracowanie dysertacji.
7. Dysertacja wnosi wyraźne elementy nowatorskie.

Uwagi:

1. Układ pracy odbiega od klasycznej reguły - nie wyróżniono rozdziału „Wnioski”. Zostały one zawarte w podrozdziale „Podsumowanie” bez wypunktowania pozwalającego w czytelny sposób odnieść się do założonych celów szczegółowych. Recenzentowi pozostawiono konieczność wyszukania odpowiednich wniosków i przyporządkowania ich do celów. Wykonanie tego zadania to obowiązek autora pracy. W streszczeniu wydzielono podrozdział „Wnioski”, ale również nie zostały one wypunktowane.
2. Bibliografia oraz spis tabel i rycin powinny być osobnymi rozdziałami.
3. Brak numeracji pozycji w bibliografii.
4. Brak rozdziału z zestawieniem skrótów.
5. Zdublowanie pozycji w bibliografii:
 - na str. 122 pozycje 5 i 6 od dołu są takie same,
 - na str. 126 pozycje 2 i 3 od góry są takie same,
 - na stronie 126 pozycje 1 i 2 od doły są takie same.

Przedstawione uwagi dotyczą spraw strukturalno-edycyjnych i nie mają wpływu na wartość merytoryczną pracy, którą oceniam wysoko.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska „Zastosowanie traktografii i oceny neuropsychologicznej u dorosłych pacjentów ze stwardnieniem guzowatym” autorstwa mgr Anny Marcinkowskiej spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 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 dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.). Rozprawę, z punktu merytorycznego, oceniam pozytywnie i zwracam się z wnioskiem do Przewodniczącego i Wysokiej Rady Nauk o Zdrowiu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego Dyscypliny o dopuszczenie mgr Anny Marcinkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

 (Andrzej M. Banik)