

Tadeusz Parnowski

Prof.nadzw.dr hab. med.(IPiN)

Warszawa dn.19.01.2018 r.

Recenzja pracy doktorskiej lek.med. Anny Teresy Filipek-Gliszczyńskiej p.t.”Ocena znaczenia biomarkerów w płynie mózgowo-rdzeniowym w prognozowaniu konwersji subiektywnych i łagodnych zaburzeń poznawczych do pełnoobjawowej choroby Alzheimera” zgłoszonej do Rady Wydziału Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

1.Celowość podjęcia badań

W ciągu ostatnich kilkunastu lat wprowadzenia do diagnostyki choroby Alzheimera nowoczesnych badania neuroobrazowych (MRS,DWI) z znacznikami wiążącymi się z β -amyloidem (np.PIB,FDG) ,oraz stosowania biomarkerów wiedza o czasie trwania procesu zwyrodnieniowego uległa znacznemu zwiększeniu. Chociaż wyniki badań dotyczące początku występowania choroby są niespójne, to ocenia się, że AD występuje ok.10-20 lat przed pojawieniem się pierwszych objawów klinicznych. Wprowadzono szereg pojęć, które miały definiować występowanie minimalnych objawów otępienia (MCI),lub jeszcze wcześniejszych stanów zaburzeń funkcji poznawczych (SCI). Jednocześnie trwają ciągle poszukiwania markerów klinicznych lub biomarkerów, dzięki którym można będzie rozpoznać chorobę Alzheimera wcześniej, niż wystąpią objawy pełnego obrazu klinicznego. Trudności diagnostyczne związane są z faktem, że powyższe pojęcia obejmują grupy wysoce heterogenne. Ma na to wpływ wieku, chorób somatycznych, stosowanych leków i używek. Próby stosowania metod klinicznych nie przyniosły spodziewanych efektów. Trwają więc poszukiwania metod biologicznych o wysokiej czułości i specyficzności. Wczesna diagnostyka ma zatem istotne znaczenie dla postawienia rozpoznania przed wystąpieniem objawów klinicznych, dostarczenia wskazówek do diagnozy różnicowej, ale także możliwości zastosowania profilaktyki, a w przyszłości wczesnego leczenia. Ma także kluczowe znaczenie dla rodziny osoby podejrzanej o proces zwyrodnieniowy, która będzie miała czas na przygotowanie się do opieki.

II. Struktura formalna pracy

Zgłoszona rozprawa doktorska składa się z 105 numerowanych stron,15 tabel,11 rycin,10 stron piśmiennictwa oraz aneksu ,w którym zawarte są wartości $A\beta$ 1-42,całkowitego białka τ (t-tau) i ufosforylowanego białka τ (p-tau) w badanej grupie. Na początku pracy umieszczono spis tabel i rycin oraz objaśnienie stosowanych skrótów i streszczenie pracy.

Rozprawa została podzielona na 6 głównych części:

- 1.wstęp teoretyczny liczący 22 strony
- 2.hipotezę badawczą na 3 stronach
- 3.cel pracy na 1 stronie
- 4.materiał badawczy, metody oraz stosowane metody statystyczne na 11 stronach
- 5.wyniki badania wraz z omówieniem na 19 stronach
- 6.oraz interpretację wyników z dyskusją i wnioskami na 19 stronach

W części teoretycznej autorka dokonała przeglądu wiedzy dotyczącej dwóch podstawowych zmian patologicznych występujących w chorobie Alzheimera: powstawania depozytów β -amyloidowych oraz zwyrodnienia neurofibrilarnego, a także omówiła mutacje genów występujące w rodzinnej postaci choroby .Omawiając dynamikę zmian patofizjologicznych autorka słusznie koncentruje się na opisanych najwcześniejszych stanach klinicznych, które są możliwe do zmierzenia, odwołując się do amerykańskich i międzynarodowych kryteriów diagnostycznych(ICD-10,EFNS,NIA-AA). W części dotyczącej omawiania wieloetapowej procedury diagnostycznej podkreśla rolę nieswoistych czynników ryzyka, które wpływają na zmienność obrazu klinicznego i szybkość progresji choroby. Zakończeniem analizy podejść diagnostycznych jest wskazanie na istotną rolę biomarkerów w wczesnej diagnostyce i zapoznanie czytelnika z stosowanymi metodami neuroobrazowymi i metabolicznymi,oraz omówienie wartości diagnostycznej zarówno białka β -amyloidowego jak i białka τ w płynie mózgowo-rdzeniowym. Autorka przedstawia także jedną z najnowszych praktycznych metod oceny rozpoznawania otępienia przy pomocy tzw.indeksu Erlangen.

Hipoteza badawcza, po omówieniu stosowanych biomarkerów neurochemicznych i neuroobrazowych oraz zgłaszanych zastrzeżeń badawczych, podkreśla praktyczne zalety oznaczania stężeń β -amyloidu i białka τ w płynie mózgowo-rdzeniowym ,nie jest jednak zdefiniowana w postaci supozycji, lecz potraktowana opisowo (domyślnie).

W części zawierającej materiał i metody pracy autorka opisała grupę badawczą (n=217) oraz zastosowaną metodykę - zebranie wywiadu, przeprowadzenie badania neurologicznego i psychiatrycznego, wykonania badań laboratoryjnych, neuroobrazowych, oceny sprawności funkcji poznawczych zgodnej z kryteriami diagnostycznymi (SCD,MCI oraz otępienia, z uwzględnieniem wytycznych EFNS i NIN-AA). Do oceny klinicznej zastosowała Krótką Skalę Oceny Stanu Psychicznego (MMSE) Folsteinów oraz Klinikzną Skalę Otępienia (CDR) Hughes'a i wsp. w modyfikacji Morris'a .

Główną metodą badawczą, przy pomocy której autorka zamierzała odpowiedzieć na postawione pytania badawcze było pobranie płynu mózgowo-rdzeniowego przy pomocy punkcji lędźwiowej, oznaczając białko tau (całkowite i ufosforylowane) oraz izoformę A β 1-42 metodą ELISA.

Do interpretacji wyników zastosowano analizy statystyczne zawarte w IBM SPSS Statistics 20.0.0.PL m.in. jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA, test F oraz pomiar siły efektu. Wyniki istotne statystycznie analizowane były przy wartościach $P \leq 0.05$.

III. Struktura merytoryczna pracy

W celu odpowiedzi na trzy pytania badawcze:

1. Czy u pacjentów w fazie subiektywnych i łagodnych zaburzeń poznawczych stężenia biomarkerów mogą wskazywać na toczący się proces zwyrodnienia alzheimerowskiego?;
2. Jaki rozkład stężeń biomarkerów pozwala z największym prawdopodobieństwem rozpoznać toczący się proces alzheimerowski w okresie przed rozwinięciem się otępienia?;
3. Czy analiza stężeń biomarkerów z użyciem indeksu Erlangen mogłaby być rutynowym narzędziem diagnostycznym zwiększającym trafność rozpoznania choroby Alzheimera i ułatwiającym ocenę ryzyka rozwoju tej choroby u pacjentów z łagodnymi i subiektywnymi zaburzeniami funkcji poznawczych? autorka przeprowadziła badanie 217 pacjentów hospitalizowanych w Oddziale Alzheimerowskim Kliniki Neurologii CSK MSWiA w Warszawie, prowadząc przez 14 miesięcy obserwację sprawności funkcji poznawczych. Na podstawie oceny klinicznej wyodrębniono trzy grupy badawcze, zgodnie z założonymi wcześniej kryteriami: z subiektywnymi zaburzeniami pamięci (n=31 osób), z łagodnymi zaburzeniami pamięci (n=104 pacjentów) oraz z otępieniem w chorobie Alzheimera (n=82 pacjentów). W ogólnej ocenie częstości występowania współchorobowości stwierdzono znacznie częstsze występowanie analizowanych chorób somatycznych w grupach z łagodnymi zaburzeniami pamięci (MCI) i otępieniem w chorobie Alzheimera (AD) w porównaniu z pacjentami w grupie z subiektywnymi zaburzeniami poznawczymi (SCD). Analizę dokonano w każdej z podgrup

oceniając $A\beta$ 1-42, t-tau i p-tau oraz wyliczając wskaźnik białka β amyloidowego do białka t-tau i p-tau.

Pewną niejasność budzi fakt rozkładu wyników MMSE w kontekście zaszeregowania do podgrup badawczych: zakres wartości oceny w grupie SCD wynosił od 25-30 punktów, w grupie MCI od 22-30 punktów, a w grupie z AD od 9-29 punktów (str.52). Autorka stwierdziła także istotne różnice w stężeniach analizowanych biomarkerów oraz stosunku $A\beta$ 1-42/ τ -tau i $A\beta$ 1-42/p-tau w wszystkich analizowanych podgrupach. W grupie pacjentów z SCD występowały najwyższe wartości stężeń $A\beta$ 1-42 oraz najniższe stężeń białek τ -tau i p-tau. W grupie pacjentów z rozpoznaniem choroby Alzheimera stwierdzono najwyższe wartości stężenia $A\beta$ 1-42 oraz białek τ -tau i p-tau. Stosunek $A\beta$ 1-42/ τ -tau i $A\beta$ 1-42/p-tau osiągnął wartości najniższe. W grupie z rozpoznaniem MCI uzyskane wyniki wskazywały na wartości pośrednie analizowanych parametrów. Wszystkie uzyskane różnice były istotne statystycznie.

Analizując wartości wskaźnika $A\beta$ 1-42/ τ -tau i $A\beta$ 1-42/p-tau, autorka stwierdziła, że wyższe wartości występowały u pacjentów z stabilnym poziomem funkcjonowania w porównaniu z pacjentami wykazującymi progresję funkcji poznawczych. Najsilniejszym wskaźnikiem różnicującym okazał się stosunek $A\beta$ 1-42 do p-tau.

Zgodnie z założeniem badania w następnej części pracy doktorantka poddała uzyskane wyniki interpretacji przy zastosowaniu indeksu Erlangen. Uzyskała w ten sposób 4 grupy pacjentów: nieliczną grupę (9.7%) z prawdopodobnym ryzykiem rozwoju otępienia (IE=4) wśród pacjentów z SCD, oraz największą grupę pacjentów z rozpoznaniem otępienia w chorobie Alzheimera (71,4%); Możliwe ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera (IE=2-3) w grupie z SCD stwierdzono u 51.8% pacjentów. Doktorantka stwierdziła, że wyższa punktacja w indeksie Erlangen wiązała się z większym ryzykiem nasilenia zaburzeń funkcji poznawczych.

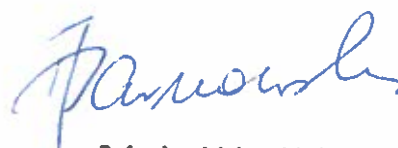
Podsumowując, metodyka zgłoszonej pracy doktorskiej jest poprawna. Doktorantka postawiła pytania istotne z punktu widzenia nie tylko badawczego, ale i praktycznego, na które uzyskała ważne odpowiedzi. Wszystkie uzyskane wyniki charakteryzują się wysoką istotnością statystyczną. Autorka nie tylko potwierdziła czułość stosowanej metody, lecz także wykazała trudności diagnostyczne w przypadku diagnozowania zaburzeń funkcji poznawczych będących prawdopodobnie stanem przed-otępiennym u części badanych. W tym kontekście szczególnie interesujące jest uzyskanie wyników wskazujących na wartość prognostyczną wskaźnika $A\beta$ 1-42/p-tau. Analiza indeksu Erlangen pozwoliła na

wyodrębnienie podgrupy chorych do dalszej obserwacji. Autorka odnotowała także wysoką zgodność diagnoz indeksu analizowanych podgrup z rozpoznaniem postawionym na podstawie obrazu klinicznego i badań neuropsychologicznych (93.9%). Wyniki potwierdziły także wysoką użyteczność indeksu Erlangen w praktyce, potwierdzając wyniki badań Lewczuka z 2015 roku..

Mimo dość licznego piśmiennictwa dotyczącego typowej charakterystyki biomarkerów w chorobie Alzheimera, wartością przedstawionej rozprawy jest jednoczesna analiza stężenia A β 1-42 oraz białka tau w płynie mózgowo-rdzeniowym. Zastosowanie wskaźników stosunku A β 1-42 do białka tau pozwala na dokładniejszą ocenę procesu neuropatologicznego. We wnioskach doktorantka odpowiada na postawione pytania badawcze, podkreślając wartość zastosowanych metod, oraz korzyści stosowania indeksu Erlangen jako narzędzia prognostycznego.

Dyskusja przeprowadzona jest logicznie, kompetentnie z wskazaniem przez autorkę interesujących wyników badania, lecz dość oszczędnym stawianiem dalszych hipotez co świadczy o dużej dojrzałości badawczej doktorantki. Praca została starannie zaplanowana i zrealizowana. Omówieni zostali także pojedynczy pacjenci, których wyniki nie były zgodne z wynikami pozostałych badanych, co ma duży walor edukacyjny. Układ pracy jest prawidłowy, zawiera wszystkie wymagane w pracy doktorskiej składowe. Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na niekonsekwentną formę cytowania badań (wymienianie wszystkich autorów, lub wymienianie tylko kilku), oraz mało czytelne, z powodu ich wielkości, niektóre ryciny.

Przedstawiona do recenzji rozprawa odpowiada w pełni wymogom stawianym pracom na stopień naukowy doktora zgodnie z art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych oraz art.251 Ustawy z dnia 27 lipca 2005 roku. Doktorantka potrafi korzystać z piśmiennictwa, posiada znaczną wiedzę teoretyczną oraz umiejętność samodzielnego rozwiązywania wybranych problemów naukowych, a także odpowiedniego planowania, przygotowania oraz organizacji pracy naukowej. W związku z powyższym przedstawiam Radzie Wydziału Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioski o **wyróżnienie pracy** oraz dopuszczenie lek. Annę T Filipek-Gliszczyńską do kolejnych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. nadzw. dr hab. med. Tadeusz Pamowski
specjalista psychiatra
9044721