

Prof. dr hab. n.med i n. o zdr. Katarzyna Gruszczyńska  
Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej  
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach  
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	26-08-2024
L. dz. RN-BM/	M62

Wdch  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE  
zastępca przewodniczącego  
M. Podhorska-Okołów  
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów

## RECENZJA

**Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych**

**lek. mgr inż. Aleksandry Rubin-Starczewskiej**

**pt.: „Ocena zmian w mózgowiu pacjentów z rdzeniowym zanikiem mięśni za pomocą zaawansowanych technik rezonansu magnetycznego”.**

**Promotor: Prof. dr hab. n. med. Joanna Bładowska**

**Drugi promotor dr hab. n. med. Magdalena Koszewicz, prof. uczelni.**

Niniejszą recenzję sporządziłam na podstawie pisma zastępcy przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu prof. dr hab. Marzenny Podhorskiej-Okołów z informacją o uchwale nr 1266/IV/2024 z 18 kwietnia 2024r. w/w Rady Dyscypliny o powołaniu mnie na recenzentkę rozprawy doktorskiej lek. mgr inż. Aleksandry Rubin-Starczewskiej pt:

„Ocena zmian w mózgowiu pacjentów z rdzeniowym zanikiem mięśni za pomocą zaawansowanych technik rezonansu magnetycznego.”

Lek. mgr inż. Aleksandra Rubin-Starczewska w przedstawionej do recenzji rozprawie doktorskiej zajęła się niezwykle ważnym tematem. Rdzeniowy zanik mięśni, mimo, że jest uważany za chorobę rzadką, (częstość występowania 5 / 10 tys.), jest jednak najczęstszą chorobą neurodegeneracyjną u dzieci. Szacuje się, że w Polsce żyje około 1000 osób z SMA. Przebieg choroby jest tragiczny. Ok. 70% przypadków ujawnia się we wczesnym dzieciństwie i ma postępujący charakter. Zmiany degeneracyjne komórek ruchowych rogów przednich rdzenia kręgowego prowadzą do stopniowego osłabienia i zaniku mięśni, powodując

niewydolność fizyczną, a w ciężkich postaciach porażenie czterokończynowe i niewydolność oddechową, która może być bezpośrednią przyczyną śmierci. Stan pacjentów komplikują przykurcze stawów, ciężka skolioza, zaburzenia połykania. Choroba po raz pierwszy została opisana w końcu XIX wieku i do ostatniej dekady pozostawała nieuleczalna. Dopiero odkrycie jej genetycznego podłoża tj. biallelicznej delecji eksonu 7 genu SMN1 na długim ramieniu chromosomu 5, odpowiedzialnego za ekspresję białka SMN – białka przeżycia motoneuronu, opisanego w 1995r., doprowadziło do przełomu w diagnostyce i leczeniu choroby. W Polsce w 2022r. wprowadzono program przesiewowej diagnostyki noworodków w kierunku SMA. W 2016r. wprowadzono pierwszy lek - syntetyczny nukleotyd (Nusinersen) podnoszący poziom białka SMN w motoneuronach ruchowych.

Równocześnie rośnie wiedza o samej chorobie, m.in. na temat roli białka SMN. Obecnie wiadomo, że zmiany w przebiegu SMA nie dotyczą jedynie uszkodzenia motoneuronu ruchowego, ale mają charakter wielonarządowy, w tym dotyczą ośrodkowego układu nerwowego. Doktorantka w swojej dysertacji zajęła się właśnie tym, mało jeszcze opracowanym, problemem. Głównym celem jej pracy jest ocena OUN u chorych z SMA nowoczesną metodą diagnostyczną - wolumetrią rezonansu magnetycznego.

#### **Ocena układu i wartości merytorycznej pracy:**

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska jest manuskrytem o typowym układzie. Liczy 98 stron, 14 tabel i 12 rycin. Po spisie treści i wykazie skrótów, Doktorantka zamieściła wstęp, liczący 22 strony, rozpoczynający się krótkim wprowadzeniem w temat. We wstępie Autorka kolejno definiuje SMA, opisuje podłoże genetyczne i molekularne choroby, jej diagnostykę genetyczną oraz elektrofizjologiczną (EMG i ENG). Następnie przedstawia trzy główne typy kliniczne choroby: objawiający się najwcześniej SMA typ 1, niemowlęcy, (ch. Werniga-Hoffmanna) - najczęściej letalny przed upływem 2 lat; SMA typ 2 – ch. Dubowitz, objawiający się pomiędzy 6 a 18 m-cem., obarczony dużą śmiertelnością i skróceniem przeżycia oraz SMA typ 3 (ch. Kugelberga-Welander), objawiający się po 18 r.ż. gdzie średnia długość przeżycia nie odbiega od średniej, jednak chorzy tracą zdolności motoryczne w 2 lub 3 dekadzie życia. Ta tradycyjna klasyfikacja jest uzupełniona przez Kandydatkę o nowe typy, wynikające z postępu wiedzy: SMA typ 0 – typ prenatalny oraz SMA typ 4, rozpoznawany w wieku dorosłym. Najważniejsze cechy poszczególnych typów SMA wraz z podtypami Doktorantka zawarła w odpowiedniej tabeli. Tradycyjny, kliniczny

podział SMA Autorka w kolejnych podrozdziałach wstępu uzupełniła o najnowszą wiedzę. Zgodnie z nią, białko SMN ma charakter wielofunkcyjny. Odgrywa rolę w metabolizmie RNA, bierze udział w metabolizmie komórkowym i oddziałuje z innymi białkami. Ten charakter białka SMN odpowiada za wielonarządowe objawy SMA m.in. w zakresie OUN. Doktorantka po przeprowadzeniu przeglądu dostępnej literatury na temat zmian w mózgu i rdzeniu kręgowym u pacjentów z SMA, (uzupełnionego o tabelę), zwraca uwagę na niedostatek wiedzy w tym zakresie.

Kolejna część wstępu poświęcona jest zaawansowanym metodom obrazowania OUN - wolumetrii mózgowia opartej na MR. Autorka opisuje kolejno morfometrię MR opartą na jednostkach objętości – Voxel-based morphometry – VBM, która umożliwia porównywanie objętości całych struktur pomiędzy dwiema grupami. Doktorantka opisuje metodykę VBM, przybliży jej poszczególne etapy, zwraca uwagę na statystyczny charakter metody i związane z tym ograniczenia. Kolejna stosowana w przedstawionej dysertacji metoda, to morfometria powierzchniowa – Surface-Based Morphometry. Polega ona na analizie powierzchni mózgu: pomiarze grubości kory i głębokości bruzd mózgu oraz analizie ukształtowania zakrętów – gyryfikacji, co umożliwia wizualizacje trójwymiarowe oraz analizę statystyczną. Doktorantka oparła wstęp na najnowszej literaturze, uzupełniła go zestawieniami prezentowanymi w tabelach, oraz rysunkami, prezentując swoją dogłębną wiedzę w sposób przystępny. Wstęp nie jest nadmiernie rozbudowany, jest kompilacją najnowszej wiedzy na temat SMA oraz nowoczesnych metod morfometrycznych mózgowia w MR, przez co jego wartość dydaktyczna jest znaczna.

Kolejny rozdział to cele i założenia pracy, gdzie lek. mgr inż. A. Rubin-Starczewska formułuje hipotezę badawczą: „Istnienie specyficznych zmian strukturalnych w mózgowiu u osób z SMA w porównaniu do zdrowej populacji”. Aby zweryfikować tę hipotezę Autorka zaplanowała 4 cele w swojej pracy:

1. Identyfikacja zmian wolumetrycznych w mózgowiu u pacjentów z SMA.
2. Dokładne zdefiniowanie obszarów mózgu, w których zachodzą zmiany w przebiegu SMA.
3. Analizę korelacji pomiędzy zmianami morfometrycznymi a wynikami badań laboratoryjnych u pacjentów z SMA.



4. Ocenę zastosowania wolumetrii jako potencjalnego narzędzia do diagnostyki, monitorowania skuteczności terapii oraz prognozowania przebiegu klinicznego SMA.

Postawione przez Doktorantkę cele uważam za bardzo ambitne.

W kolejnym rozdziale pt.: Materiał i metody Autorka zaprezentowała kryteria włączenia i wyłączenia do i z grupy badanej i kontrolnej. **Jeżeli chodzi o kryteria włączenia to uważam, że punkt „brak współistniejących chorób OUN” stanowi raczej kryterium wyłączenia.** Do grupy badanej włączono 27 osób, (15 kobiet, średnia wieku ok. 40 lat), z SMA typ 5q z mutacją w genie SMN2. Klinicznie u 4 osób stwierdzono SMA typ 2, u 12 osób SMA typ 3a oraz u 11 osób SMA typ 3b. Grupa kontrolna składała się z 27 osób, zgodnych pod względem płci i wieku. Dużą wartością pracy jest dogłębna ocena kliniczna pacjentów z grupy badanej, za pomocą rozszerzonej skali motorycznej Hammersmith, oraz testu CHOP = Intend (Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders) u osób nie chodzących. Funkcje poznawcze sprawdzono testem MoCA (Montreal Cognitive Assessment). Lek. mgr inż. Aleksandra Rubin-Starczewska uzyskała pozytywną opinię komisji bioetycznej WUM na przeprowadzenie swojego projektu.

W kolejnym rozdziale przedstawiono parametry MR, następnie szczegółowo przedstawiono opis metodologii pomiarów wolumetrycznych. Metodą VBM oceniono objętość istoty szarej, istoty białej oraz płynu m-r. Morfometria powierzchniowa polegała na ocenie głębokości bruzd, grubości kory mózgu, wymiaru fraktalnego, oraz stopnia pofałdowania mózgu - gyryfikacji w 150 lokalizacjach atlasu korowego opracowanego przez Destrieux. Ocenione parametry porównano w stosunku do grupy kontrolnej. Realizując kolejny cel pracy Doktorantka przeanalizowała korelację między obrazami radiologicznymi a parametrami klinicznymi, genetycznymi i laboratoryjnymi. Osobno w podrozdziale przedstawiona jest odpowiednia metodyka analizy statystycznej.

Wyniki przedstawiono na 24 stronach zawierających ryciny i tabele. Zaawansowane metody obrazowania w MR zastosowane przez Doktorantkę ujawniły zmiany strukturalne w mózgowiu u chorych z SMA. Analiza VBM wykazała istotny statystycznie spadek objętości istoty szarej w lewym wzgórzu w porównaniu do grupy kontrolnej. Analiza SBM wykazała zwiększoną, w stosunku do grupy kontrolnej, głębokość bruzd w różnych regionach mózgu, przede wszystkim w lewej bruzdzie oczodołowej. W innych regionach stwierdzono

zmniejszenie głębokości bruzd w porównaniu z grupą kontrolną, w lokalizacji lewego bieguna potylicznego i lewego zakrętu klinowego stwierdzono z kolei zwiększoną grubość kory mózgu, jednak bez spełnienia warunku istotności statystycznej. Wyniki badań przedstawione są w szczegółowych tabelach, wykresach oraz na rysunkach, które ułatwiają ich interpretację.

Następnie Doktorantka przedstawiła wyniki korelacji kliniczno-radiologicznej. Stwierdziła istotną statystycznie zależność głębokości w lokalizacji lewej i prawej bruzdy oczodołowej od płci, (była ona niższa u kobiet) oraz od wieku – była ona wyższa u osób przed 40 r.ż. Stwierdziła również zależności pomiędzy głębokością bruzd w różnych lokalizacjach a liczbą kopii genu SMN2 oraz typami klinicznymi SMA.

Oceniając zależności pomiędzy parametrami radiologicznymi a stanem klinicznym pacjentów Autorka stwierdziła istotne w sensie statystycznym różnice w wynikach SBM w zależności od oceny zdolności motorycznych w skali HFMSE oraz zdolności do chodzenia. Nie stwierdzono natomiast takiej zależności w stosunku do skoliozy. Badając zależność między parametrami radiologicznymi a laboratoryjnymi wykazano istotną zależność pomiędzy głębokością bruzdy skroniowej dolnej lewej a poziomem kinazy kreatynowej.

Uzyskane przez siebie wyniki Doktorantka omówiła w liczącej 10 stron dyskusji. Omawiając wyniki VBM przedstawiła również anatomię, fizjologię i objawy patologiczne uszkodzenia wzgórza, co wynikało z odkrytej istotnej zależności w tej właśnie lokalizacji. Doktorantka zinterpretowała odkryte różnice w objętości wzgórza jako zwiększenie zaangażowania lewego wzgórza w realizację skomplikowanych funkcji mózgowych u praworęcznych pacjentów z SMA. Przedyskutowała swoje wyniki w kontekście istniejącej literatury – badań autopsyjnych, immunohistochemicznych oraz jednego opisu przypadku, gdzie stwierdzono zmiany degeneracyjne wzgórz w MR u dziewczynki z SMA. Ponieważ wyniki korelacji obrazów radiologicznych w z typami SMA w grupie badanej różnią się w stosunku do istniejącej literatury, Doktorantka sugeruje złożony charakter zmian degeneracyjnych w OUN.

Należy podkreślić, że praca doktorantki jest pierwszym doniesieniem, gdzie korelowano objętość mózgowia w zaawansowanym MR z liczbą kopii genu SMN2. Omawiając wyniki przeprowadzonej przez siebie analizy SBM Doktorantka zinterpretowała je jako możliwe

współistnienie zmian degeneracyjnych oraz kompensacyjnego przerostu. Bardzo interesujący jest rozdział na temat komplementarności analizy VBM i SBM.

W końcowym rozdziale dyskusji Doktorantka prawidłowo definiuje ograniczenia swojej pracy, co dobrze świadczy o jej zmyśle krytycznym. Wyniki swojej pracy Doktorantka podsumowała w czterech wnioskach, odpowiadających celom pracy. Manuskrypt kończy się wyszczególnieniem 117 pozycji literatury, zawierającej najważniejsze, nowe prace z zakresu obranego przez Kandydatkę tematu. Zamieszczono również streszczenia w języku polskim i angielskim.

Podsumowując wartość merytoryczną i układ przedstawionego do recenzji manuskryptu, jego wartość naukową oceniam bardzo wysoko. **Mam zastrzeżenia jedynie do dwóch ostatnich punktów w celach pracy i odpowiednio, do tych samych punktów wniosków.** Doktorantka udowodniła, że wolumetria MR jest czułą metodą wykrywającą zmiany strukturalne mózgowia u pacjentów z SMA. Co za tym idzie może być potencjalnie użytecznym narzędziem w monitorowaniu postępów choroby oraz ocenie efektów leczenia. Jednak, aby to udowodnić należałoby uzupełnić przeprowadzone badania o randomizowane porównanie wyników radiologicznych w grupie leczonej w stosunku do grupy leczonej placebo. Praca Doktorantki została poza tym przeprowadzona w jednym punkcie czasowym i nie prezentuje wyników oceny prospektywnej. W związku z tym ostatnie zdanie wniosku 4 w mojej ocenie pozostaje jedynie możliwością, wymagającą dalszych badań.

Z drugiej strony punkt 3 celów zakładał jedynie porównanie obrazowania MR i wyników laboratoryjnych, natomiast Autorka przeprowadziła poza tym dogłębne porównanie stanu klinicznego i wyników badań genetycznych z rezultatami wolumetrii MR. Uważam, że punkt 3 celów powinien być rozszerzony, a punkt 3 wniosków zmodyfikowany.



**Wniosek końcowy:**

Reasumując, uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska

Aleksandry Rubin-Starczewskiej pt:

**„Ocena zmian w mózgowiu pacjentów z rdzeniowym zanikiem mięśni za pomocą zaawansowanych technik rezonansu magnetycznego”**

spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1 – 4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1668). Przedstawiony do recenzji manuskrypt spełnia wszystkie wymogi formalne oraz ma dużą wartość naukową.

Doktorantka wykazała się umiejętnością formułowania hipotez badawczych i opanowała projektowanie i realizację pracy naukowej. Metodyka i wyniki pracy są nowe w odniesieniu do literatury światowej. Po raz pierwszy w dużej grupie pacjentów z SMA Autorka zastosowała nowoczesne metody wolumetrii MR do oceny zmian strukturalnych mózgu. Wykazała w badaniach obrazowych istnienie takich zmian w dużej grupie pacjentów z SMA. Udowodniła istotną korelację zmian w MR z wynikami klinicznymi, badaniami laboratoryjnymi i genetycznymi. Zgłoszone przeze mnie drobne uwagi redakcyjne nie zmniejszają mojej wysokiej oceny pracy.

Pozytywnie oceniam przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską lek. mgr inż. Aleksandry Rubin-Starczewskiej. Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Równocześnie, uwzględniając przedstawione powyżej znaczenie kliniczne, nowatorstwo i zastosowanie nowych metod diagnostycznych do rozwiązania badanego problemu naukowego, **wnoszę o wyróżnienie** przez Radę Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im Piastów Śląskich we Wrocławiu ocenianej przeze mnie rozprawy doktorskiej.

Katowice, 14.08.2024r.

Przesyłam wyrazy szacunku.

Katarzyna Gruszczyńska

