

Prof. nadz. dr hab. med. Tomasz Gabryelewicz
Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk
02-106 Warszawa, ul. Pawińskiego 5

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Izabeli Winkel pt.:
„Ocena poziomu alfa-synukleiny i innych biomarkerów w płynie mózgowo-
rdzeniowym u pacjentów z chorobą Alzheimerera.”

Promotor: dr hab. n. med. Bogusław Paradowski prof. UM

Charakterystyczne dla przełomu XX i XXI wieku zjawisko demograficzne, szybkie starzenia się populacji ludzkiej związane jest ze wzrostem rozpowszechnienia chorób, w których wiek jest najistotniejszym czynnikiem ryzyka. Wczesna diagnostyka tych chorób ma na celu odkrycie skutecznych metod prewencji i leczenia. W chorobie Alzheimerera (AD) biomarkery oznaczane w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) odzwierciedlają poprzedzającą objawy kliniczne patologię alzheimerowską, nawet u osób prezentujących normę poznawczą i u osób z zespołem *łagodnych zaburzeń poznawczych*. Mogą one zwiastować przyszłą deteriorację poznawczą. Już w fazie przedklinicznej choroby dochodzi do obniżenia stężenia A β 1-42 w PMR i podwyższenia stężeń t-Tau i p-Tau. Badania wskazują, że czułość badania A β sięga 100%, a swoistość 90%. W przypadku Tau czułość i swoistość osiągają poziom 85%. Negatywny wynik badania biomarkerów pozwala wykluczyć AD. Praktycznymi aspektami badania biomarkerów w PMR jest dostępność i cena. Nie wymaga ono tak drogich urządzeń diagnostycznych jak w przypadku obrazowanie amyloidu w badaniu PET. Dzięki rozwojowi badań nad

biomarkerami rozpoczęto oceny kliniczne nowych leków o potencjalnym działaniu przyczynowym, podawanych w fazie przedklinicznej AD. Alfa-synukleina (aSyn) jest białkiem prekursorowym hydrofobowego, 35-aminokwasowego peptydu NAC (ang. non-amyloid b component of Alzheimer's disease plaques). Peptyd NAC stanowi łącznie z amyloidem β ($A\beta$) składnik płytek starczych występujących w AD. Alfa-synukleina w formie zagregowanej bierze udział w procesie obumierania komórek w przebiegu różnych chorób neurozwyrodnieniowych. Zrozumienie procesów prowadzących do agregacji aSyn oraz uwalniania peptydu NAC może mieć istotne znaczenie w wyjaśnieniu patomechanizmu chorób neurodegeneracyjnych i ich terapii.

Przedstawiona do oceny praca została wykonana w Ośrodku Naukowo-Badawczo-Dydaktycznym Chorób Otępiennych w Ścinawie, pod kierunkiem naukowym prof. UM, dr hab. n. med. Bogusława Paradowskiego.

Prezentowana dysertacja, poświęcona ocenie poziomu aSYN i innych biomarkerów w PMR u pacjentów z AD liczy 83 strony maszynopisu A4. Praca została skonstruowana w sposób tradycyjny i przedstawiona w dwunastu rozdziałach. Zawiera ze spisem treści: wykaz skrótów używanych w pracy, wstęp z niezbędnymi informacjami wprowadzającymi w problematykę podjętego badania, jasno przedstawione cele i hipotezy badawcze, dokładny opis metod i materiału, omówienie wyników badania, wnioski i 176 pozycji dobrze dobranego piśmiennictwa. Pracę uzupełniają streszczenia w języku polskim i angielskim, spis rycin i tabel zawartych w tekście oraz trzy załączniki. Metodykę badań oraz wyniki pracy zaprezentowano w 10 rycinach i 6 tabelach. Wymienione części tworzą logicznie powiązaną całość. Założenia i cele pracy są zrozumiałe i prawidłowo sformułowane.

W rozbudowanym i wyczerpującym wprowadzeniu do dalszych części rozprawy, doktorantka przedstawiła dane dotyczące epidemiologii, patogenezы oraz obrazu klinicznego AD i innych chorób neurozwyrodnieniowych. Opisała również znaczenie biomarkerów w procesie diagnostycznym tych chorób oraz rolę aSYN w procesach neurozwyrodnieniowych CUN. W prezentowanych rozdziałach doktorantka ujawniła dobrą znajomość aktualnej wiedzy dotyczącej tematu pracy, a analiza piśmiennictwa stanowi solidne i przejrzyste przedstawienie zagadnień związanych z tematem rozprawy.

Celem prezentowanej pracy była ocena poziomu aSYN i innych biomarkerów w PMR u pacjentów z AD. Doktorantka wyznaczyła również szczegółowe cele badawcze:

1. Zbadanie związku pomiędzy poziomem aSYN w PMR, a poziomami stężenie β -amyloidu, białka TAU i pTAU.
2. Zbadanie potencjalnej wartości praktycznej poziomu stężenia aSYN w PMR w diagnozowaniu i prognozowaniu wystąpienia objawów pozapiramidowych oraz progresji zaburzeń funkcji poznawczych w przebiegu AD.
3. Zbadanie potencjalnej korelacji pomiędzy zmianami neuroradiologicznymi, a poziomem stężenia aSYN w PMR.
4. Zbadanie potencjalnej korelacji pomiędzy poziomem stężenia biomarkerów w PMR, a niektórymi czynnikami ryzyka miażdżycy.
5. Sprawdzenie czy aSYN może odgrywać rolę w patogenezie AD.

Badaniami objęto 114 pacjentów hospitalizowanych w Ośrodku Naukowo-Badawczo-Dydaktycznym Chorób Otępiennych w Ścinawie. Osiemdziesięciu pacjentów miało rozpoznanie AD, a 34 bez otępienia włączono do grupy kontrolnej. Protokół badawczy obejmował wywiad chorobowy, ocenę stopnia zaawansowania otępienia oraz ocenę stanu neurologicznego. Wszyscy uczestnicy zakwalifikowani do badania mieli wykonane badania MR lub TK głowy, a po uzyskaniu pisemnej zgody pobrano im próbki PMR. Analiza uzyskanego materiału została przeprowadzona zgodnie z obowiązującymi procedurami w laboratorium w Erlangen. Doktorantka uzyskała zgodę komisji bioetycznej (nr KB-380/2017) na przeprowadzenie badania. Przy opracowywaniu wyników użyto rzetelne metody statystyczne, z uwzględnieniem rodzaju analizowanych danych.

Z uzyskanych wyników autorka pracy wyciągnęła następujące wnioski:

1. Poziom stężenia aSYN w PMR był znacząco wyższy u pacjentów z AD, w porównaniu do grupy kontrolnej, co może wskazywać na jej udział w toczącym się procesie neurodegeneracyjnym, ale ocena poziomu stężenia aSYN nie może być wykorzystana diagnostycznie jako biomarker w AD ze względu na swoją niewielką czułość i specyficzność.

2. Niższy poziom stężenia aSYN u chorych z AD z zaawansowanym zanikiem płata skroniowego ocenianego w skali MTA, potencjalnie może posłużyć jako parametr postępującego zaniku, ale wymaga to potwierdzenia w badaniach na większej grupie chorych.
3. Poziom aSYN nie korelował z wizualną oceną zaniku mózgu w skali GCA i zmianami naczyniopochodnymi w skali Fazekas.
4. Poziom aSYN nie korelował z obecnością objawów pozapiramidowych w przebiegu AD.
5. Poziom aSYN również nie korelował z czasem trwania choroby oraz niską punktacją w teście MMSE.
6. Nie wykazano, aby cukrzyca i nadciśnienie tętnicze korelowały z obecnością procesu alzheimerowskiego i podwyższonym poziomem aSYN w PMR.

Uwagi

Wątpliwość budzi ocena sprawności funkcji poznawczych tylko przy pomocy przesiewowej skali MMSE. Można było pogłębić ocenę włączając do protokołu badania bardziej precyzyjne narzędzia. Badanie tych funkcji powinno mieć kompletniejszy wymiar, to znaczy obejmować wszystkie procesy składające się na pełny obraz funkcjonowania danego pacjenta. Doktorantka nie ustrzegła się błędów językowych, co nieco razi, szczególnie w przypadku nazwy choroby lub użytej w badaniu skali oceny - nie umniejsza to jednak wartości merytorycznej rozprawy.

Od wielu lat przedmiotem dyskusji naukowej jest rola aSyn w patogenezie AD. W jednej z hipotez zakłada się związek aSyn z agregacją białka amyloidu beta w płytkach starczych. Zwraca się również uwagę na podobne mechanizmy zmian patologicznych dotyczących aSYN i białka Tau. Dokładniejsze zrozumienie tych mechanizmów może doprowadzić do zidentyfikowania nowych celów interwencji terapeutycznej w różnych chorobach neurodegeneracyjnych.

Uważam, że wyniki recenzowanego badania pozwolą nieco pogłębić wiedzę dotyczącą patogenezy AD. Są one kolejnym, małym elementem układanki, która pozwoli nam na tyle zrozumieć AD, żeby znaleźć skuteczne metody jej zapobiegania i leczenia.

Gorąco rekomenduję długofalową obserwację badanej grupy i poszukiwanie kolejnych, potencjalnych czynników mogących mieć znaczenie w diagnostyce

różnicowej chorób neurozwyrodnieniowych oraz czynników, które mogą odgrywać rolę w przyspieszaniu agregacji aSYN.

Podsumowanie

Po analizie wartości merytorycznych i poznawczych tematu badawczego podjętego przez autorkę mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu dwa wnioski:

1. Rozprawa doktorska lek. Izabeli Winkel pt.: „Ocena poziomu alfa synukleiny i innych biomarkerów w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z chorobą Alzheimera” spełnia warunki konieczne do uznania jej za rozprawę na stopień doktora nauk medycznych 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. poz. 882 z późn.zm.).
2. Wniosuję o dopuszczenie lek. Izabelę Winkel do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa, 24 lipca 2020 roku



Prof. nadz. dr hab. med. Tomasz Gabryelewicz