

**Zakład Diagnostyki Biochemicznej**  
**Zakład Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych**  
**Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**  
ul. Waszyngtona 15A, 15-269 Białystok  
tel. (85) 746-85-87 fax (85) 746-85-85

---

Białystok, 03-07-2023

**Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgr Krystyny Osztynowicz**

**p.t.: „Charakterystyka autoprzeciwciał przeciw antygenom układu  
nerwowego oraz rozwoju neuroimmunodiagnostyki w ośrodku  
poznzańskim“**

Tematyka przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej dotyczy aktualnego zagadnienia, związanego z neuroimmunologią. Na podstawie danych literaturowych wiadomo, że diagnostyka wielu schorzeń neurologicznych, w tym np. autoimmunologicznych zapaleń mózgu, chorób demielinizacyjnych z obszaru zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego, zespołu Guillain-Barre, czy też wielogniskowej neuropatii ruchowej odbywa się aktualnie w oparciu o wykrywanie autoprzeciwciał i są one bardzo istotnym wsparciem w procesie diagnostycznym pacjenta, a niekiedy stanowią jedyny element wskazujący na obecność określonej choroby, w tym np. rozwijającego się nowotworu.

W związku z faktem, iż problem zaburzeń neuroimmunologicznych dotyczy coraz większej i coraz młodszej wiekowo grupy osób, należy podkreślić, iż poruszane zagadnienie jest istotne nie tylko z naukowego, ale też praktycznego punktu widzenia.

Rozprawa doktorska mgr Krystyny Osztynowicz obejmuje 129 stron maszynopisu i zawiera 17 tabel oraz imponującą ilość, bo aż 52 ryciny, a także 85 pozycji piśmiennictwa. Rozpoczyna się ciekawym, 23. stronicowym wstępem, który Autorka dzieli na 8 zasadniczych działów, bezpośrednio związanych z badanymi problemami. W pierwszej części Doktorantka przedstawia bardzo interesującą tematykę, dotyczącą rozwoju neuroimmunologii, w tym w ośrodku poznzańskim, a następnie opisuje zagadnienia, związane z neurologicznymi zespołami paranowotworowymi, a także autoimmunologicznym zapaleniem mózgu, zapaleniem nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego oraz chorobą z przeciwciałami anty-MOG. W dalszej części pracy Autorka przechodzi do opisu neuropatii

zapalnych oraz zapalenia pnia mózgu Bickerstaffa. Ostatnia część wstępu jest poświęcona tematyce wykrywania autoprzeciwciał przeciw układowi nerwowemu, w tym przeciwciał onkoneuralnych, z uwzględnieniem podziału na przeciwciała dokładnie określone oraz nie określone dokładnie przeciwciała onkoneuralne, a następnie przeciwciał antyneuralnych, przeciwciał przeciw powierzchniowym antygenom neuronalnym, przeciwciał przeciw antygenom mieliny oraz przeciwciał przeciwko antygenom płytki nerwowo-mięśniowej, a także przeciwciał przeciwko gangliozydom. Przedstawiona we wstępie wiedza jest wzbogacona przejrzystymi tabelami i rycinami oraz oparta na aktualnej literaturze światowej.

Cel pracy został przedstawiony w sposób klarowny. Obejmował on analizę wyników oznaczeń autoprzeciwciał skierowanych przeciw układowi nerwowemu oraz rozwoju immunodiagnostyki w ośrodku poznańskim poprzez ocenę profilu zleczanych analiz przeciwciał onkoneuralnych, przeciwciał antyneuralnych, przeciwciał przeciw akwaporynie 4, przeciwciał anti-MOG, przeciwciał przeciwko gangliozydom, przeciwciał przeciw powierzchniowym antygenom neuronalnym, przeciwciał przeciwko antygenom płytki nerwowo-mięśniowej, a także określenie skuteczności diagnostycznej w zakresie autoprzeciwciał przeciw układowi nerwowemu, identyfikację typu ośrodków zlecających analizy oraz charakterystykę potrzeb w zakresie diagnostyki chorób autoimmunologicznych.

Rozdział „Materiał i metody” rozpoczyna się od opisu grupy badanej, obejmującej 6794 kobiet i 5502 mężczyzn, którzy byli hospitalizowani lub konsultowani z powodu podejrzenia neurologicznych zespołów paranowotworowych (NZZ) lub innych chorób neurologicznych. Badania były prowadzone od 21.10.2002 do 31.12.2018 roku. Materiał do badań stanowiła surowica i/lub płyn mózgowo-rdzeniowy, przy czym zgodnie z opinią Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu przeprowadzenie badań nie wymagało zgody ww. Komisji.

Oznaczenia wszystkich przeciwciał, tj. przeciwciał onkoneuralnych, przeciwciał antyneuralnych, przeciwciał przeciw akwaporynie 4, przeciwciał anti-MOG, przeciwciał przeciwko gangliozydom, przeciwciał przeciw powierzchniowym antygenom neuronalnym, przeciwciał przeciwko antygenom płytki nerwowo-mięśniowej, wykonano w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (ZNN). Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w trosce o jakość uzyskanych wyników stworzono procedurę pobrania, obróbki wstępnej oraz transportu materiału do badań wraz z istotnymi danymi pacjentów zawartymi w zleceniu na wykonanie badania.



Zgodnie ze standardami dotyczącymi identyfikacji autoprzeciwciał skierowanych przeciwko antygenom układu nerwowego zastosowane zostały metody takie jak test Western blot (WB), test immunofluorescencji pośredniej (IIFT), test CBA, test Line Blot (LB), przy czym bardzo cenne jest podanie w treści pracy zasad oznaczania autoprzeciwciał w ZNN, aczkolwiek wydaje się, iż rozdział poświęcony tej tematyce mógłby być zdefiniowany jako rozdział III.1.2, czyli jako część rozdziału III.1, który został poświęcony metodom.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu licencjonowanej wersji oprogramowania MedCalc, zaś analiz różnic wieku pacjentów dokonano stosując test Manna-Whitney'a. Różnice liczebności analiz poszczególnych autoprzeciwciał oceniano z wykorzystaniem analizy ANOVA i w teście Kruskalla-Walisa przy założeniu istotności statystycznej na poziomie  $p=0,05$ . Potrzeby w zakresie zmian ilości analiz autoprzeciwciał weryfikowano wykorzystując teorię fal Elliotta.

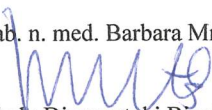
Wyniki badań zostały starannie zaprezentowane w kolejnym rozdziale rozprawy i są zgodne z wytyczonymi wcześniej celami. Na uwagę zasługuje fakt, iż do analizy włączono bardzo reprezentatywną liczbę osób, tj. aż 12296 pacjentów, przy czym nie wykazano różnic w liczbie kobiet i mężczyzn wśród pacjentów, u których oznaczano przeciwciała przeciw antygenom układu nerwowego. Jednakże w obu grupach trend wzrostu liczby analiz był istotny, zaś wiek pacjentów w latach 2022 do 2018 obniżał się. Wykazano m.in., iż najczęściej wykrywanym typem autoprzeciwciał skierowanych przeciw układowi nerwowemu były przeciwciała antyneuralne, następnie onkoneuralne i przeciwciała przeciw powierzchniowym antygenom neuronalnym. Wśród przeciwciał antyneuralnych najczęściej wykrywano przeciwciała anty-neuroendothelium, następnie anty-MAG i anty-mielina. Na uwagę zasługuje fakt, iż przeciwciała anty-neuroendothelium oraz anty-mielina były najczęściej współwystępującymi z innymi przeciwciałami przeciw antygenom układu nerwowego. Z kolei najczęściej wykrywanymi wśród przeciwciał przeciw powierzchniowym antygenom neuronalnym były anty-NMDA, a następnie anty-LGI1 i anty-AMPA.

W kolejnej części pracy Autorka analizuje własne wyniki badań w ciekawy i przejrzysty sposób, porównując rezultaty własnych badań z danymi literaturowymi, a na koniec tych rozważań dochodzi do wniosków, będących odpowiedzią na wcześniej postawione cele. Jednym z nich jest stwierdzenie, iż zapotrzebowanie kliniczne na oznaczenia autoprzeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego systematycznie wzrasta i dotyczy coraz młodszej populacji. Ponadto Doktorantka słusznie wnioskuje, że w miarę zwiększania dostępności analiz autoprzeciwciał przeciw układowi nerwowemu maleje ich skuteczność diagnostyczna w przypadkach diagnostyki zespołów o różnorodnym obrazie klinicznym, zaś

wzrasta w przypadkach zespołów przyjmujących jednorodną postać. Bardzo istotna jest też konkluzja wskazująca, że wraz ze wzrostem liczby zleceń narasta liczba wykrywanych niespecyficznych narządowo autoprzeciwciał – przeciw antygenom nukleosomu. Bardzo ważny z punktu widzenia praktycznego jest wniosek, iż oszacowane roczne potrzeby w zakresie analiz autoprzeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego wskazują na fazę wzrostu immunodiagnostyki i wynoszą około 3 tysiące, przy czym ich wahania mogą obejmować ponad tysiąc oznaczeń.

Podsumowując przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską należy podkreślić, iż jest ona rzetelnie zaplanowaną i wykonaną pracą uwzględniającą imponującą liczbę pacjentów. Badania zostały zrealizowane w jednym z najlepszych europejskich ośrodków neuroimmunodiagnostyki pod kierownictwem wybitnego fachowca w tej dziedzinie, tj. Pana Profesora Sławomira Michalaka. W recenzowanej dysertacji Doktorantka podjęła się bardzo istotnego i aktualnego nie tylko ze względów naukowych, ale też praktycznych, tematu, dotyczącego charakterystyki autoprzeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego, wykazując się przy tym znajomością warsztatu badawczego oraz umiejętnością interpretacji uzyskanych wyników. Prezentowaną pracę, która spełnia wymogi ustawowe, oceniam bardzo dobrze i przedkładam Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej oraz nadanie Pani mgr Krystynie Osztynowicz stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne.

Prof. dr hab. n. med. Barbara Mroczko



Kierownik Zakładu Diagnostyki Biochemicznej  
i Zakładu Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych,  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku