

Warszawa 30.07.2023

Prof. dr hab. med. Urszula Demkow

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego

Warszawski Uniwersytet Medyczny

### **Recenzja pracy doktorskiej**

Mgr Krystyny Osztynowicz pt: "Charakterystyka autoprzeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego oraz rozwoju neuroimmunodiagnostyki w ośrodku poznańskim".

Neuroimmunologia jest dynamicznie rozwijającą się dziedziną medycyny. Obserwowany w ostatnich latach postęp w tym obszarze wiedzy przypisuje się przede wszystkim odkryciu nowych przeciwciał antyneuronalnych, które są ważnym narzędziem diagnostycznym m.in. u osób z podejrzeniem autoimmunizacyjnego zapalenia mózgu, neurologicznych zespołów paranowotworowych czy neuropatii. Badanie przeciwciał antyneuronalnych w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym jest kluczowe dla rozpoznania zapalenia mózgu ale zawsze powinno być powiązane z diagnostyką w kierunku chorób zakaźnych i innych przyczyn zapaleń mózgu. Wiele autoprzeciwciał anty-neuronalnych towarzyszy chorobom nowotworowym, a wczesne rozpoznanie nowotworu jest kluczowe dla szybkiego rozpoczęcia właściwej terapii. Neurologiczne zespoły paranowotworowe (NZZ) to rzadkie zaburzenia, które rozwijają się na skutek uruchomienia przez niektóre nowotwory (np. rak płuca) mechanizmów immunologicznych działających na tkankę nerwową. W odpowiedzi na obecność w organizmie komórek nowotworowych układ immunologiczny wytwarza przeciwciała onkoneuronalne, które następnie krzyżowo reagują z antygenami ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Pojawienie się przeciwciał przeciwko antygenom tkanki nerwowej może przebiegać bezobjawowo lub z towarzyszącymi zespołami klinicznymi. Objawy neurologiczne, które towarzyszą NZZ, zwykle wyprzedzają objawy kliniczne typowe dla nowotworu. Wykrycie przeciwciał onkoneuronalnych jest bezwzględnym wskazaniem do szczegółowej diagnostyki onkologicznej. Powyższym zagadnieniom Doktorantka poświęciła swoją pracę, a więc wybór tematu pracy ma więc istotne znaczenie zarówno poznawcze jak i praktyczne.

Przedstawiona praca ma typowy układ rozpraw na stopień doktora nauk medycznych. Starannie przygotowany maszynopis pracy liczy 129 stron, jest podzielony na 8 rozdziałów, opatrzony jest 52 czytelnymi rycinami, oraz 17 tabelą i zawiera zestawienie 85 pozycji piśmiennictwa.

Zasadniczym celem przeprowadzonych badań była analiza wyników autoprzeciwciał przeciwko antygenom neuronalnym w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Retrospektywnie przeanalizowano 12 296 wyników badań, które wykonywano przez okres 16 lat. Badano próbki od 6794 kobiet i 5502 mężczyzn. Niestety brakuje informacji czy w grupie badanej znajdowały się próbki od dzieci i podziału na grupy wiekowej. W pracy nie ma też żadnych informacji o rozpoznaniu klinicznym u badanych chorych. Nawet jeśli we wszystkich przypadkach nie udało się scharakteryzować grupy badań pod kątem rozpoznania klinicznych, warto byłoby, we współpracy z klinicystami opracować dokładniej część dostępnych wyników. Istotnie wzbogaciłoby to przedstawiona do recenzji pracę i ułatwiło publikację otrzymanych wyników. W laboratorium, w którym wykonano badania obowiązuje standaryzacja procesu przedanalizycznego według specjalnej procedury pobrania i transportu materiału co minimalizuje błędy przedanalizyczne. W diagnostyce wykorzystano metodę Western blot, immunoblot, i immunofluorescencji pośredniej na materiale tkankowym i na komórkach transfekowanych. Jako punkt odcięcia przyjęto miano 1:10 dla surowicy i 1:1 dla PMR. Badania wykonywano z zastosowaniem testów renomowanych producentów. Załączona ikonografia pozwoliła na scharakteryzowanie typów świecenia preparatu.

We wstępie Doktorantka przedstawiła szczegółowe informacje dotyczące badanych autoprzeciwciał i ich roli w diagnostyce klinicznej – zarówno w diagnostyce zespołów paranowotworowych jak i zapalenia mózgu i innych chorób autoimmunizacyjnych układu nerwowego. Wstęp dobrze uzasadniał genezę pracy doktorskiej. Starannie i rzetelnie opisano zastosowane testy statystyczne.

W okresie 16 lat zaobserwowano znaczący wzrost zleceń wszystkich ocenianych autoprzeciwciał. Świadczy to o rosnącym znaczeniu diagnostyki w neuroimmunologii oraz rosnącej świadomości lekarzy co do występowania autoimmunizacyjnych chorób układu nerwowego. Stopniowo obniżała się również średnia wieku badanych pacjentów. Przedstawiono typy świecenia charakterystyczne dla danych autoprzeciwciał. W pracy oceniono częstość występowania poszczególnych rodzajów autoprzeciwciał. Najczęściej wykrywane były przeciwciała przeciwko neuroendotelium, anty MAG i anty-mielina. Drugą grupą najczęściej wykrywanych autoprzeciwciał były przeciwciała onkoneuronalne. Spośród przeciwciał onkoneuronalnych najczęściej występowały anty-YO, anty-Hu i anty-Ri. Często

obserwowano współistnienie 2-3 rodzajów autoprzeciwciał w jednej próbce. Spośród przeciwciał antyneuronalnych najczęściej stwierdzono występowanie przeciwciał anti-NMDA i anti-LGI i anti-AMPA.

W pracy Doktorantka przeanalizowała również trudności diagnostyczne. Problemy w ocenie typu świecenia pojawiały się w wypadku towarzyszących autoprzeciwciał innego typu np. ANA czy endomysium. Rozdział wyniki kończy analiza potrzeb w zakresie diagnostyki autoprzeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego. Metodą oscylatora potwierdzono narastające zapotrzebowanie na test diagnostyczne w zakresie neuroimmunologii.

W dyskusji Doktorantka przedstawiła historię oznaczeń autoprzeciwciał i ich znaczenie w diagnostyce klinicznej. Autorka przedstawia również przegląd wyników badań innych autorów w relacji do rozpoznań klinicznych. Doktorantka dyskutuje trudności w interpretacji i porównywaniu otrzymanych wyników związane z zastosowaniem różnych metod diagnostycznych. W tabeli przedstawione zostały zależności pomiędzy typem autoprzeciwciał a rodzajem nowotworu. Niestety z powodu braku informacji klinicznych Doktorantka nie dyskutuje wyników własnych w odniesieniu do diagnozy postawionej w toku postępowania klinicznego. W dalszej części dyskusji Autorka ocenia skuteczność diagnostyczną badanych testów. Na przestrzeni lat obserwowano zmniejszanie się skuteczności diagnostycznej testów definiowanej jako liczna pozytywnych wyników w stosunku do liczby zleceń. Doktorantka słusznie wiąże te obserwacje ze zmianą zasady zlecenia testów. Zamiast diagnostyki celowanej specjalistyczne testy stosowane są do celów przesiewowych, co niepotrzebnie zwiększa koszty diagnostyki. Dodatkowo przeprowadzona analiza wykazała, że w ośrodku, w którym prowadzono badania przewidywany jest dalszy wzrost liczby badań. Inna ciekawą obserwacją jest fakt, że badania zlecają głównie ośrodki akademickie. Zatem, o ile w przypadku ośrodków uniwersyteckich mamy do czynienia z nadmiernym/niepotrzebnym zlecaniem badań, o tyle mniejsze ośrodki nie mają dostępu do tego typu diagnostyki lub wiedza lekarzy w tym zakresie jest mniejsza. Przeprowadzona analiza jest bardzo ciekawa. Pokazuje, że wiele badań jest zlecanych niepotrzebnie, bez wskazań klinicznych, a ta tendencja się pogłębia. Z drugiej strony lekarze zatrudnieni w mniejszych ośrodkach nie są świadomi posiadania dodatkowych narzędzi, które mogłyby ułatwić diagnostykę rzadkich zespołów. To bardzo ważne spostrzeżenie w kontekście ograniczonych środków na opiekę zdrowotną w naszym kraju. Doktorantka zwraca uwagę na problemy powiązane ze zlecaniem badań dodatkowych w sposób niewłaściwy. Dotyczy to zarówno niezlecenia potrzebnych jak i zlecenia niepotrzebnych badań. Bardzo istotny wniosek, jaki nasuwa się na podstawie wyników pracy, to konieczność prowadzenia stałego dialogu pomiędzy diagnostami wykonującymi badania a lekarzami opiekującymi się chorymi. Wzajemna współpraca może zarówno pomóc w szybkim

rozpoznaniu choroby, jak również zmniejszyć koszty postępowania medycznego. Pracę doktorską kończą prawidłowo sformułowane wnioski końcowe odzwierciedlające wyniki pracy.

Podsumowując, przedstawioną mi do recenzji pracę doktorską oceniam bardzo dobrze. Niewątpliwie praca stanowi oryginalny dorobek naukowy Doktorantki i stanowi istotny wkład do diagnostyki chorób autoimmunizacyjnych układu nerkowego. Przedstawiona do oceny rozprawa niewątpliwie zachęca do kontynuowania badań dotyczących opisywanych problemów. Do najbardziej istotnych osiągnięć Doktorantki zaliczam krytyczne myślenie dotyczące nieprawidłowości w korzystaniu z tej diagnostyki przez klinicystów. Wyniki pracy warte są szerokiego rozpowszechnienia w środowisku lekarskim.

W oparciu o przedstawioną analizę stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Mgr Krystyny Osztynowicz pt: "Charakterystyka autoprzeciwciał przeciw antygenom układu nerwowego oraz rozwoju neuroimmunodiagnostyki w ośrodku poznańskim" spełnia kryteria uprawniające do nadania stopnia doktora w obszarze nauk biologicznych. Tym samym zwracam się do Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie mgr Krystyny Osztynowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab n. med. Urszula Demkow

