

Dr hab. n. med. Piotr Grzelak,

Łódź, dn. 06.09. 2022r

prof. ICZMP Zakład Diagnostyki Obrazowej

Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki

w Łodzi ul. Rzgowska 281/289, 93-338 Łódź

Recenzja Rozprawy Doktorskiej

Lek. medycyny Mariusz Wachowski

pod tytułem;

**„Ocena procesów neuroplastyczności w badaniu rezonansu
magnetycznego u chorych na stwardnienie rozsiane”**

Promotor pracy: Profesor dr hab. n. med. Agata Majos

Zakład Diagnostyki i Terapii Radiologicznej i Izotopowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Zakład Diagnostyki Obrazowej CSK Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Stwardnienie rozsiane (Sclerosis Multiplex – SM) jest przewlekłą, wielogniskową chorobą OUN, w przebiegu której dochodzi do uszkodzenia osłonek mielinowych tkanki nerwowej. Obecnie uważa się, że podłoże tej neurodegeneracyjnej patologii jest wieloczynnikowe. Kluczowe znaczenie przypisuje się roli genów oraz autoimmunologicznej reakcji zapalnej. Dotychczas prowadzone badania nie przyniosły definitywnej odpowiedzi na pytanie, jaki autoantygen odpowiada bezpośrednio za rozwój schorzenia.

SM najczęściej diagnozuje się u młodych dorosłych, czyli u osób między 20 a 40 rokiem życia, ale także u osób młodszych poniżej 18 r. ż oraz u dzieci. Choroba dotyka osoby wchodzące w dorosłe życie osobiste i zawodowe, wpływając na podejmowane decyzje o wyborze drogi życiowej. Choroba dotyka także osoby, które już funkcjonują na rynku pracy, co wpływa na jakość świadczonych usług, jak i na możliwość podjęcia pracy. SM to choroba nieuleczalna, przewlekła, postępująca - powoduje często decyzje o zaniechaniu pracy lub zmusza do przekwalifikowania się w związku z postępującą niepełnosprawnością. Szacuje się, że ponad połowa chorych na SM będzie wymagała pomocy podczas poruszania się w okresie 15 lat od momentu rozpoznania choroby.

Główne bariery, z którymi borykają się osoby chore na stwardnienie rozsiane związane są najczęściej z postępującą lub nagłą utratą sprawności i należą do nich trudności w wykonywaniu najprostszych czynności, zaburzenia funkcji ruchowych, czuciowych oraz sprawności narządów zmysłów. Do najczęstszych objawów SM należą bowiem problemy mózdkowe (zaburzenia równowagi i zawroty głowy), ruchowe (zaburzenia koordynacji ruchowej i drżenia), czuciowe (zespoły bólowe neuropatyczne, mięśniowe, stawowe, nerwobóle i neuralgie), zaburzenia napięcia mięśniowego oraz zaburzenia wzroku, mowy, zaburzenia poznawcze (zaburzenia percepcji i kontroli emocji), męczliwość i zmęczenie, zaburzenia nastroju (objawy depresyjne i lękowe). Specyfika tej choroby czyni życie osób nią dotkniętych nieprzewidywalnym i bardzo trudnym. Wymaga umiejętności radzenia sobie z postępującą niesprawnością fizyczną i ograniczeniami w obszarze kognitywnym. Badania pokazują, że problemy poznawcze dotyczą do 70% osób chorych na SM. Deficyty poznawcze pojawiają się już we wczesnym etapie choroby i mają wpływ przede wszystkim na pracę zawodową.

Choroba przebiega w różnych postaciach, najwięcej, bo ponad 60% chorych zapada na rzutowo-remisyjną postać choroby. Objawy chorobowe występują wtedy przez pewien czas (dni, tygodnie, miesiące) – w momencie tzw. rzutu, a następnie stan pacjenta ulega częściowej lub całkowitej poprawie – tzw. remisja. Wobec takiego przebiegu choroby chorzy często przerywają pracę, biorą dłuższe zwolnienia czy urlopy wypoczynkowe oraz urlopy bezpłatne, ale też często całkowicie rezygnują z pracy wobec utraty sprawności i długotrwałej rehabilitacji wymaganej i potrzebnej po rzucie. Powrót do aktywności zawodowej bywa wtedy bardzo trudny nie tylko dlatego, że wiąże się z ponownym wejściem na rynek pracy, ale może przede wszystkim dlatego, że w związku z utratą sprawności wymaga od osoby chorej na SM ponownego wdrożenia w wykonywane działania, a nierzadko przekwalifikowania się, zmiany rytmu pracy.

Plastyczność mózgu jest złożonym zagadnieniem, które było przedmiotem licznych badań już od drugiej połowy XIX wieku. Po raz pierwszy pojęcie plastyczności zostało użyte przez Williama James'a, który analizował wpływ stymulacji behawioralnej na organizację układu nerwowego oraz procesy zachodzące w jego obrębie. Plastyczność mózgu to wrodzona właściwość układu nerwowego, umożliwiająca adaptację do otaczających warunków środowiskowych. Fizjologiczne zmiany plastyczne zachodzą przez całe życie człowieka, jednak ich intensywność spada z wiekiem. Mechanizmy

odpowiedzialne za zdolność ośrodkowego układu nerwowego (OUN) do poddawania się procesom reorganizacji dokonują się poprzez zmiany adaptacyjne na poziomie strukturalnym oraz funkcjonalnym - pod wpływem bodźców zewnętrznych lub wewnętrznych. Współczesna definicja określa neuroplastyczność jako „trwałe zmiany własności komórek nerwowych, zachodzące pod wpływem działania bodźców ze środowiska lub uszkodzenia układu nerwowego. Zapewnia ona zmienność, uczenie się i pamięć, zdolność samo naprawy oraz możliwości adaptacji do warunków środowiskowych”.

Rehabilitacja ruchowa, w tym trening aerobowy jest formą nowoczesnej terapii mającą pozytywny wpływ na procesy neurobiologiczne mózgu, w tym przede wszystkim na motorykę i zdolności poznawcze. Istnieją doniesienia naukowe mówiące o korzystnym wpływie treningu aerobowego na poprawę siły mięśniowej i sprawności funkcjonalnej - zarówno w populacji zdrowych ochotników, jak i w grupie pacjentów cierpiących na różne jednostki chorobowe, w tym również na SM.

Diagnostyka SM jest zagadnieniem złożonym i opiera się na badaniu neurologicznym, obserwacji postępu choroby oraz analizie badań dodatkowych, wśród których istotne znaczenie odgrywają: ocena płynu mózgowo-rdzeniowego oraz wyniki badań obrazowych zwłaszcza badań RM. Do oceny stanu klinicznego pacjentów chorych na SM stosuje się różne skale, w ramach których ewaluacji poddawane mogą być zarówno funkcje motoryczne jak i poznawcze. Najczęściej wykorzystywanymi w praktyce klinicznej są; skala niesprawności EDSS Kurtzkiego, skala MSFC (ang. MS Functional Composite) oraz wiele innych.

Badanie przy użyciu rezonansu magnetycznego ma obecnie kluczowe znaczenie w diagnostyce większości patologii OUN, w tym również SM. Ma to m.in. związek z udoskonaleniem metody oraz wprowadzeniem nowych zaawansowanych technik obrazowania opartych o techniki RM. Do rozpoznania SM konieczne jest stwierdzenie w obrazach rezonansu magnetycznego dwóch cech odnoszących się do zmian demielinizacyjnych w obrębie OUN, które są typowe dla tej jednostki chorobowej tj: rozsiania czasowego (ang. Dissemination In Time, DIT) i przestrzennego (ang. Dissemination In Space, DIS). Powyższe elementy zawarte zostały w kryteriach McDonald, które od 2001 uznawane są za podstawowe kryterium diagnostyczne SM i które na przestrzeni ostatnich lat były kilkakrotnie aktualizowane. Ostatnia aktualizacja została opublikowana w roku 2017. Zgodnie z zaleceniami PLTR protokół konwencjonalnego badania rezonansu magnetycznego mózgowia powinien umożliwiać w sposób zunifikowany i powtarzalny zarówno postawienie rozpoznania SM jak i ocenę postępu choroby w badaniach kontrolnych. W każdym przypadku zaleca się podanie dożylnego środka kontrastującego w dawce 0,1 mmol/kg masy ciała, a badanie powinno być wykonane przy użyciu aparatu o natężeniu pola elektromagnetycznego minimum 1,5 T. Zmiany zachodzące w przebiegu SM manifestują się w postaci blaszek demielinizacyjnych nazywanych także plakami, które przybierają postać owalnych ognisk podwyższonego sygnału w sekwencjach: T2-zależnej oraz FLAIR. Mogą one lokalizować się w każdym obszarze mózgu, natomiast typowo obserwuje się je w jednej z czterech okolic tj: okołokomorowo, podkorowo, podnamiotowo oraz w obrębie rdzenia kręgowego. Aktywne zmiany demielinizacyjne, ulegają wzmocnieniu po dożylnym podaniu środka kontrastowego w okresie pierwszych 6 tygodni. (czynna reakcja zapalna oraz zaburzeń w barierze krew – mózg).

Dynamiczny rozwój metod diagnostyki obrazowej m.in. badań z oceną dyfuzji (ang. Diffusion Weighted Imaging, DWI), obrazowanie tensora dyfuzji (ang. Diffusion Tensor Imaging, DTI),

obrazowanie wykorzystujące zjawisko transferu magnetyzacji (ang. Magnetization Transfer Imaging, MTI), badania spektroskopii rezonansu magnetycznego, badania podatności magnetycznej (ang. Susceptibility Weighted Imaging, SWI), technika podwójnego odwrócenia magnetyzacji (ang. Double Inversion Recovery, DIR) oraz sekwencje z rekonstrukcją obrazu uwzględniającą czynnik fazowy sygnału (ang. Phase Sensitive Inversion Recovery, PSIR), czy wreszcie badania funkcjonalnego rezonansu magnetycznego (ang. functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI) i wolumetrii MRI, umożliwia obecnie nie tylko ocenę morfologii mózgu, lecz pozwala również na dokładniejszą analizę jego objętości, metabolizmu oraz struktury funkcjonalnej. Dzięki badaniu fMRI możliwa staje się bezinwazyjna ocena neuroplastyczności mózgu, która umożliwia wizualizację reorganizacji czynnościowej OUN. Dzięki temu ww. nowoczesne metody obrazowe mogą stanowić narzędzie, umożliwiające głębsze poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za różnice w obrazie klinicznym pomiędzy osobami zdrowymi i chorymi na SM oraz mogą przyczynić się do opracowania skutecznych metod terapeutycznych.

Autor pracy wybrał sobie ważny z punktu widzenia klinicznego temat, ponieważ chorzy na SM są grupą szczególnie narażoną na występowanie ogniskowych uszkodzeń mózgowia o ściśle określonej lokalizacji, występujących rzutami, a postęp choroby i podanie ich terapii i obserwacji pozwala na śledzenie zmiany w czasie, również zmian wynikających z plastyczności tkanki mózgowej. Kryteria rozpoznania i monitorowania przebiegu choroby oparte są o diagnostykę obrazową w RM, co umożliwia uzupełnienie standardowego protokołu diagnostycznego o nowe techniki obrazowe; fMRI i wolumetrię. Dzięki wykorzystaniu wolumetrii RM Doktorant mógł wykonać precyzyjne pomiary objętości całego mózgowia, istoty białej i szarej, płynu mózgowo - rdzeniowego, jak również objętości wybranych podkorowych struktur OUN. Wybrana technika t-fMRI pozwalają na wizualizację reakcji na bodźce ośrodków korowych, podkorowych i wpływu zmian ogniskowych typowych dla SM na aktywację badanych ośrodków. Technika rs-fMRI pozwalają na ocenę spoczynkowej aktywacji mózgowia. Ambitnym założeniem pracy było wykazanie wpływu treningu aerobowego na parametry badań fMRI oraz na parametry wolumetrii w grupie chorych na SM.

Śmiałe tezy praca Doktoranta wymagała znalezienia odpowiedniego modelu badawczego, który został właściwie dobrany z zachowaniem właściwej metodyki. Systematyczna obserwacja pacjentów chorych na SN pozwala na uzyskanie danych, których otrzymanie byłoby trudne w innych grupach pacjentów, a ich analiza umożliwia dalsze wykorzystanie wyników do monitorowania a zwłaszcza terapii pacjentów. Z tego powodu trafny wybór ambitnego modelu badawczego i staranne opracowanie protokołu badania są godne podkreślenia. Podjęty zatem przez Doktoranta temat rozprawy jest istotnym, aktualnym problemem, zarówno klinicznym, jak i istotnym wkładem badawczym w proces optymalizacji procedur diagnostyki obrazowej w SM.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska ma strukturę typową dla rozpraw doktorskich. Praca liczy 146 strony, ma układ typowy, podzielony na 11 rozdziałów i zawiera 27 tabel i 29 rycin. Piśmiennictwo zawiera 157 pozycji, rozważne dobranych i aktualnych.

Wstęp (41 stron) napisany jest jasno i czytelnie, w sposób wystarczający charakteryzuje pojęcia: neuroplastyczności OUN, zawiera szczegółowy opis omawianej w pracy jednostki chorobowej, uwzględniając dane epidemiologiczne, istotę i przebieg choroby oraz jej leczenie. Ważnym elementem tego rozdziału jest omówienie standardowych i pozastandardowych metod diagnostycznych

pozwalających na obserwację zmian morfologicznych występujących w przebiegu SM. W tej części pracy Autor pracy omawia też metody leczenia i rehabilitacji pacjentów chorych na SM.

Głównym celem pracy (z wyznaczonymi 6-ma celami szczegółowymi) jest określenie wpływu treningu aerobowego na parametry badań funkcjonalnego rezonansu magnetycznego: t-fMRI i rs-fMRI, oraz na parametry wolumetryczne MRI w grupie chorych na stwardnienie rozsiane. Z pośród 6 celów szczegółowych zwłaszcza istotne klinicznie wydają się cele trzeci i szósty:

3. Ocena wpływu treningu aerobowego na ośrodki korowe dla ruchu u pacjentów chorych na SM w oparciu o badanie t-fMRI oraz na spoczynkową aktywność mózgu w oparciu o badanie rs-fMRI. Opracowanie i standaryzacja tej analizy stwarza szansę na opracowanie nowych metod monitorowania rehabilitacji osób chorych na SM.

6. Ocena korelacji pomiędzy wynikami badań t-fMRI a parametrami wolumetrycznymi mózgowia w grupie chorych na SM w porównaniu z osobami zdrowymi. Opracowanie i standaryzacja tej tych pomiarów otwiera nowe kierunki diagnostyczne osób chorych na SM.

Postawiony cel główny, jak cele szczegółowe, wyrażone są w sposób jasny i jednoznacznie. Z perspektywy znaczenia klinicznego cele są bardzo ambitne i stanowią istotny wkład w naukową polemikę w tym temacie, a obszar w którym porusza się Autor nie został jeszcze dostatecznie zbadany.

Kolejny rozdział Materiały (4 stron) charakteryzuje grupę 29 chorych na SM i 20 zdrowych ochotników. Zakwalifikowane osoby chore na SM zostały podzielone na dwie podgrupy: 15 pacjentów zostało poddanych rehabilitacji ruchowej, 14 pacjentów nie było poddawanych rehabilitacji ruchowej. Dobór osób do poszczególnych grup i podgrup nie budzi zastrzeżeń, zwłaszcza że Doktorant bardzo pieczołowicie omówił w tym rozdziale kryteria włączenia i wyłączenia do badania. Jedyny, drobny mankament tego aplitu jest błąd zliczania pacjentów grupy zbiorczej SM (strona 52), gdzie zaprezentowano liczbę 28 badań, a w rzeczywistości badań było 29 badań (15+14=29).

Metodyka zbierania danych (15 stron) została szczegółowo zaprezentowane zarówno w zakresie diagnostyki rezonansu magnetycznego jak i rehabilitacji ruchowej (trening aerobowy na ergometrze rowerowym). Chorzy z grupy SM - badawczej zostali poddani 4 tygodniowemu programowi rehabilitacji ruchowej w Oddziale Rehabilitacji Diennej lub Oddziale Rehabilitacji Neurologicznej w Szpitalu Miejskim im. dr Karola Jonschera. Wszystkie badania diagnostyczne RM wykonano z Zakładzie Diagnostyki Obrazowej, SPZOZ Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi przy użyciu 1,5T aparatu Siemens Avanto Tim, a protokół badania jest spójny i nie budzi zastrzeżeń. Celem oceny aktywacji ośrodków korowych dla ruchu wykonano sekwencję t-fMRI wykorzystując narzędzie SynchroBox, umożliwiające synchronizację opracowanego schematu badania t-fMRI ze skanerem MRI oraz prezentację osobom badanym obrazów na ekranie monitora w czasie rzeczywistym. Badanie zostało przeprowadzone przy użyciu schematu blokowego, składającego się z następujących po sobie 30 sekundowych etapów: zadaniowego (ruch ręki mniej sprawnej) oraz kontrolnego (spoczynkowego). Z uwagi na różnice w stopniu niepełnosprawności chorych na SM włączonych do badania, Doktorant świadomie zrezygnował z narzucenia określonej częstotliwości ruchu indywidualizując ocenę. Po badaniu t-fMRI wykonano sekwencję rs-fMRI, celem oceny mózgu w stanie spoczynku. W trakcie jej trwania ekran monitora był wyłączony a osoby badane instruowano o konieczności zachowania stanu czuwania (przytomności), a zamknięte oczy i słuchawki zapewniały izolację od bodźców zewnętrznych.

Podsumowując metodyka rejestracji i zbierania danych nie budzi zastrzeżeń. Dodatkowym walorem pracy jest precyzyjny opis analiza danych funkcjonalnych. Ważnym elementem pracy jest analiza statystyczna, która w przypadku badań fMRI jest wyzwaniem i świadczy o jakości badania. Zastosowane bardzo wyrafinowane metody analizy statystycznej nie budzą zastrzeżeń.

Najciekawszy i najbardziej wartościowy fragment rozprawy to Wyniki (27 stron). Zawartość merytoryczna tej części jest na tyle obszerna, że szczegółowe jej omówienie nie jest możliwe w tak krótkim opracowaniu jakim jest przedłożona recenzja. Przedstawię zatem wybrane, najbardziej istotne stwierdzenia.

W grupie SM badawczej zastosowany trening aerobowy w przeciwstronnej korze pierwszorzędowej skutkowało istotnym statystycznie obniżeniem wartości Cluster level (średnia wartość w bad. I - 72,42 vs średnia wartość w bad. II - 38,35) oraz Peak level (10,89 w badaniu I vs 7,64 w badaniu II) pomiędzy badaniami. Zastosowany trening aerobowy miał wpływ na poprawę stanu klinicznego chorych w grupie SM badawczej. Wśród chorych z grupy SM kontrolnej nie stwierdzono podobnych różnic aktywności pomiędzy pomiarami.

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w aktywności spoczynkowej mózgu pomiędzy grupą pacjentów chorych na stwardnienie rozsiane oraz grupą zdrowych ochotników w oparciu o wyniki badania rs-fMRI, co może być przesłanką adaptacji mózgowia do procesu chorobowego (neuroplastyczności). W badaniu drugim (po rehabilitacji), w grupie SM badawczej zaobserwowano istotne zmniejszenie korelacji funkcjonalnej pomiędzy sieciami stanu spoczynku. Podobnych zmian pomiędzy pierwszym i drugim badaniem nie obserwowano w grupie SM kontrolnej, wynik ten sugeruje pozytywny wpływ rehabilitacji.

Stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą zdrowych ochotników a chorymi na SM w całkowitej objętości mózgowia (1197cm³ vs. 1150 cm³). Istotne statystycznie różnice w objętościach dotyczyły: istoty szarej (517 cm³ vs. 481 cm³), mózdzku (150 cm³ vs. 136 cm³), wzgórza (16,3 cm³ vs. 12,6 cm³), skorupy (8,9 cm³ vs. 7,7 cm³), gałki bladej (4,57 cm³ vs. 3,57 cm³). Nie wykryto różnic istotnych statystycznie w objętościach istoty białej i jądra ogoniastego.

Zatem dzięki dobrze zaplanowanemu projektowi badawczemu, starannej realizacji i wnikliwej ocenie uzyskano bardzo dobre, oryginalne wyniki o istotnym znaczeniu poznawczym i wartości klinicznej.

Kolejny rozdział – Dyskusja (16 stron), jest napisany kompetentnie, krytycznie, ze swadą. Wiele z wątków poruszonych w dyskusji jest przedmiotem aktualnych badań stąd bardzo dobra polemika z autorami wielu prac. Na pewno znaczącym utrudnieniem wyciągnięcia jednoznacznych wniosków z obserwacji są niskie liczebnie grupy badane i różny poziom niepełnosprawności pacjentów kwalifikowanych do badań pacjentów chorych na SM. Pewnie w przyszłości wyciągnięcie bardziej jednoznacznych wniosków będzie wymagało bardziej rozbudowanych meta analiz. Autor świadomie przedstawił w tej części pracy również problemy, gdzie interpretacja nie może być jednoznaczna.

Pracę kończy 10 wniosków, będących bezpośrednią, acz rozbudowaną odpowiedzią na postawione szczegółowe cele badawcze. Jest do pewne utrudnienie w percepcji pracy, ponieważ wnioski nie odpowiadają wprost na postawione cele, a odpowiedzi na cele trzeba szukać w kilku wnioskach. To utrudnienie warto skorygować w ewentualnych, planowanych publikacjach.

Ostatnie części rozprawy to streszczenie pracy w jęz. polskim i w jęz. angielskim oraz wspomniany już wykaz piśmiennictwa.

Do zasłużonych słów uznania chciałbym dołożyć szczyptę krytycyzmu; moje zastrzeżenia dotyczą tytułu pracy, który wydaje mi się „ciut” uproszczony. Brak w tytule zawężenia obszaru badania, którym jest tylko mózgowie i dodanie tego przymiotnika pozwala osobie mniej zorientowanej w szybsze percepcji obszaru zainteresowania pracy. W tytule brak mi też odniesienia do pomiarów wolumetrii, która stanowi ważny element pracy. Ogólną wartość pracy obniża też stosunkowo mała grupa badanych, ale z własnego doświadczenia wiem, że badanie fMRI, zwłaszcza w grupach pacjentów objawowych neurologicznie stanowią duże wyzwanie zarówno co do doboru paradygmatów, jak i logistyki zbierania danych. Myślę, że Autor nie porzuci ciekawego tematu, co zaowocuje dalszymi projektami i publikacjami. W pracy występują też drobne błędy językowe, jak „zaobserwowano” zamiast zaobserwowano (str. 78) czy „sień” zamiast sieć (str. 105), są to jednak drobne nieprawidłowości, nie mające wpływu na znakomite meritum pracy.

Przechodząc do końcowej oceny recenzowanej rozprawy Pana Mariusza Wachowskiego, stwierdzam, że jest to bardzo wartościowa, dobrze udokumentowana praca naukowa z elementami nowości, mająca ważne znaczenie praktyczne i kliniczne. Na podkreślenie zasługuje wybór tematu, pomysłowość w planowaniu modelu badawczego, konsekwencja w realizacji celów, umiejętność właściwej interpretacji wyników oraz postawienie logicznych wniosków. Wartość pracy podkreśla zawarta w pracy żywa dyskusja osadzona w aktualnym przeglądzie dokonań innych badaczy.

Stwierdzam więc, że praca stanowi samodzielny dorobek naukowy a Doktorantka posiada ogólną wiedzę i umiejętności prowadzenia badań naukowych, w tym współpracy naukowej z innymi jednostkami badawczymi.

Upoważnia mnie to do przedstawienia Wysokiej Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosku o dopuszczenie Pana Mariusza Wachowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na walory ocenianej rozprawy jak: aktualność zagadnienia, nowoczesność metod badawczych, wagę kliniczną problemu oraz wzorowe przedstawienie wyników pracy i dyskusji, zwracam się do Wysokiej Rady z prośbą o wyróżnienie tej rozprawy.