

**Prof. zw. dr hab. Andrzej Urbanik**  
**Katedra Radiologii**  
**Collegium Medicum UJ**  
**ul. Kopernika 19**  
**31-501 Kraków**

Kraków, dnia 27 października 2014

## **OCENA PRACY DOKTORSKIEJ**

**Lek. Anny Kołtowskiej**

### **Ocena wartości tensora dyfuzji rezonansu magnetycznego w wykrywaniu wczesnych zmian mózgu u pacjentów zakażonych wirusem HIV bez objawów neurologicznych**

Przedstawiona do recenzji praca związana jest z istotnym problemem jakim jest diagnostyka i leczenia pacjentów zakażonym wirusem HIV. Jest to problem występujący w wymiarze globalnym stąd każda próba znalezienia nowych rozwiązań w tym zakresie jest cenna. W zakresie diagnostyki obrazowej szczególna rola, w coraz większym stopniu, przypada zaawansowanym technikom rezonansu magnetycznego - spektroskopii, perfuzji oraz dyfuzji. Autorka wybrała technikę obrazowania tensora dyfuzji (DTI), co było jak dotąd przedmiotem tylko nielicznych doniesień w światowym piśmiennictwie.

Układ pracy jest typowy – obejmuje 6 rozdziałów, liczy 125 stron oraz zawiera 40 rycin i 17 tabel. Piśmiennictwo liczy 157 pozycji.

W rozdziale WSTĘP Autorka szczegółowo opisała problemy związane z tematem pracy a więc: epidemiologie, przebieg zakażenia HIV z patogenezą zakażenia OUN, mechanizm uszkodzenia OUN, zakażenie HIV/HCV, testy neuropsychologiczne służące do wykrywania deficytów neuropoznawczych, leczenie zakażenia HIV/HCV, struktury anatomiczne dróg neuronalnych a przede wszystkim przydatne badania neuroobrazowe ze szczególnym uwzględnieniem dyfuzji rezonansu magnetycznego.

Po bardzo dokładnym, ale wyważonym objętościowo - w stosunku do całej pracy - wstępie wprowadzającym w temat zostały podane ZAŁOŻENIA I CEL PRACY.

Cel główny zdefiniowano jako ocenę przydatności badania DTI mózgowia w wykrywaniu zmian w obrębie dróg neuronalnych istoty białej u pacjentów neurologicznie bezobjawowych zakażonych wirusem HIV oraz ustalenie, czy możliwość rozpoznawania

wczesnych uszkodzeń mogłoby pomóc w podjęciu decyzji o wcześniejszym rozpoczęciu leczenia terapią antyretrowirusową.

W celu realizacji celu głównego wyznaczono następujące cele szczegółowe:

1. Ocena uszkodzeń istoty białej na podstawie pomiarów wartości parametrów tensora dyfuzji FA i ADC w wybranych drogach projekcyjnych, kojarzeniowych i spoidłowych istoty białej.
2. Określenie korelacji parametrów FA i ADC z najniższym poziomem limfocytów CD4n w przebiegu zakażenia oraz poziomem limfocytów CD4a oznaczonym w okresie, w którym było przeprowadzane badanie MR.
3. Ocena korelacji parametrów FA i ADC z wynikami zaawansowanych testów neuropsychologicznych w badanych grupach pacjentów .

W rozdziale MATERIAŁ I METODA opisano grupę badaną składającą się z 46 pacjentów u których na podstawie dwukrotnego testu immunoenzymatycznego EIA stwierdzono infekcję HIV. Wszyscy chorzy prezentowali prawidłowy stan neurologiczny. W badanej grupie było 15 kobiet i 31 mężczyzn; średnia wieku wynosiła 37,32 przy odchyleniu standardowym 9,68. Zastosowano przy tym ściśle określone kryteria wykluczenia.

Pacjentów podzielono na 3 podgrupy:

- 20 pacjentów niewymagających leczenia cART zgodnie z zaleceniami Europejskiego Klinicznego Towarzystwa AIDS EACS (European AIDS Clinical Society Guidelines 2008, Wersja 3, 6–7), w tym 4 kobiety i 16 mężczyzn; średnia wieku 32,2 przy odchyleniu standardowym 6,65.
- 18 pacjentów leczonych kombinowaną terapią antyretrowirusową cART, w tym 8 kobiet i 10 mężczyzn; średnia wieku 43,0 przy odchyleniu standardowym 8,9
- 8 pacjentów zakażonych HIV/HCV nieleczonych cART, w tym trzy kobiety i pięciu mężczyzn; średnia wieku 34,12 przy odchyleniu standardowym 11,34, z łagodnym uszkodzeniem wątroby, w skali włóknienia Ishaka 0–1 (maks. 6).

Grupę kontrolną stanowiło 19 zdrowych ochotników, w tym 4 kobiety i 15 mężczyzn o dostosowanym do grupy zakażonej HIV przedziale wiekowym.

U wszystkich pacjentów przeprowadzono podstawowe badania neuropsychologiczne: skalę otępienia ADC i skalę Karnofsky'ego a także oznaczono liczbę limfocytów T CD4a we krwi obwodowej w okresie przeprowadzonego badania oraz liczbę limfocytów T CD4n (najniższą w przebiegu zakażenia).

Badania u wszystkich pacjentów i u osób z grupy kontrolnej przeprowadzono przy pomocy aparatu MR o natężeniu pola magnetycznego 1,5 T z zastosowaniem 16-kanalowej cewki nadawczo-odbiorczej. W badaniach obrazowych MR głowy stosowano następujące sekwencje: SE (obrazy T1-zależne), FRFSE (obrazy T2-zależne) oraz FLAIR i DWI-EPI w płaszczyznach czołowych, strzałkowych i poprzecznych. Wykonano również dodatkowe badanie perfuzyjne PWI po podaniu środka kontrastowego a także badania w technice

spektroskopii protonowej oraz z zastosowaniem tensora dyfuzji. Dla wszystkich tych procedur zostały określone ściśle protokoły badawcze – zostały podane w pracy.

Otrzymane surowe dane zostały przetworzone z użyciem stacji roboczej AW 4.4 a następnie dokonano analizy statystycznej przy pomocy: analizy wariancji ANOVA, testu wielokrotnego porównania Scheffego (jako test post-hoc), t-testu oraz z zastosowaniem współczynnika korelacji Pearsona. Wszystkie hipotezy zerowe weryfikowano na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

Rozdział WYNIKI to zestawienie 11 przejrzystych tabel oraz 26 rycin a także bardzo szczegółowo przedstawiona analiza zebranego materiału. Ta część pracy składa się z 12 podrozdziałów co czyni ją przejrzystą i ułatwia ocenę. Podsumowując uzyskane wyniki Autorka wykazała cechy uszkodzenia dróg kojarzeniowych, spoidłowych i projekcyjnych istoty białej, wyrażone spadkiem wartości parametru frakcjonowanej anizotropii (FA) u pacjentów zakażonych HIV bez objawów neurologicznych. Najbardziej nasilone zmiany zaobserwowano w grupie chorych zakażonych HIV i leczonych cART. W obrębie dróg spoidłowych w grupie pacjentów z infekcją HIV, w tym w obrębie podgrupy z koinfekcją HIV/HCV, stwierdzono cechy dezintegracji istoty białej i nasilenie reakcji zapalnej wyrażone wzrostem dyfuzyjności (parametru ADC). Wykazano też, że obniżenie odporności (wyrażone niższym poziomem limfocytów - CD4n) koreluje w niektórych drogach istoty białej ze wzrostem dyfuzyjności (wyższy ADC). W grupie leczonych cART wykazano też wybiórcze deficyty neuropsychologiczne w zaawansowanych testach neuropsychologicznych.

W rozdziale OMÓWIENIE i DYSKUSJA Autorka dokonała przede wszystkim podsumowania uzyskanych wyników własnych. Dokonała także zestawienia własnych wyników z rezultatami badań innych autorów podejmując przy tym rzeczową dyskusję. Warto podkreślić, że Autorka dyskutuje nie tylko z innymi badaczami ale także krytycznie ocenia swoje wyniki.

W rozdziale tym Autorka starała się z powodzeniem uporządkować obecne poglądy dotyczące omawianej problematyki, wykazując się przy tym bardzo dobrą znajomością tematu. I ten rozdział pracy został podzielony na tematyczne podrozdziały co znakomicie ułatwia ocenę.

W rozdziale WNIOSKI Autorka przedstawiła 9 wniosków:

1. U pacjentów zakażonych HIV bez objawów neurologicznych występują cechy uszkodzenia wszystkich dróg neuronalnych, zarówno asocjacyjnych, projekcyjnych i spoidłowych wyrażone spadkiem parametru FA w badaniu DTI.

2. Największą degradację dróg neuronalnych wykazuje grupa chorych zakażonych HIV leczonych cART.

3. W całej badanej grupie zakażonej HIV, a w tym w obrębie grupy z koinfekcją HIV/HCV występują cechy dezintegracji istoty białej i nasilenie reakcji zapalnej w obrębie dróg spoidłowych wyrażone wzrostem dyfuzyjności (parametru ADC) w badaniu DTI.

4. U pacjentów zakażonych HIV nieleczonych większe upośledzenie odporności (niższy poziom CD4n) koreluje ze stopniem uszkodzenia drogi projekcyjnej (spadek FA) w prawym MCP.

5. U wszystkich chorych zakażonych HIV obniżenie odporności (niższy poziom CD4n) koreluje ze wzrostem dyfuzyjności (wyższy ADC) w drodze kojarzeniowej w obrębie lewego pęczka czołowo-potylicznego dolnego.

6. U pacjentów zakażonych HIV nieleczonych wzrost dyfuzyjności (wyższy ADC) koreluje z niższym poziomem CD4n w drogach projekcyjnych w obu odnogach tylnych torebek wewnętrznych i w drodze kojarzeniowej SLF oraz z niższym poziomem CD4a w drogach projekcyjnych: ILF, IFOF, SLF i CG.

7. U pacjentów zakażonych HIV leczonych cART występują wybiórcze deficyty neuropoznawcze w zaawansowanych testach neuropsychologicznych.

8. Badanie DTI jest doskonałą czułą metodą pozwalającą na ocenę uszkodzeń istoty białej mózgu we wczesnej fazie zakażenia HIV zanim pojawią się wykrywalne w testach przesiewowych zaburzenia neuropoznawcze.

9. Włączenie badania DTI do standardowego protokołu badania MR u pacjentów zakażonych HIV mogłoby pomóc w ocenie zagrożenia wystąpienia zaburzeń neuropoznawczych, w podjęciu decyzji o wcześniejszym wdrożeniu terapii antyretrowirusowej oraz zdefiniowaniu nowych schematów leczenia.

Wnioski 1-3 odpowiadają 1. celowi szczegółowemu pracy

Wnioski 4-6 odpowiadają 2. celowi szczegółowemu pracy

Wniosek 7 odpowiada 3. celowi szczegółowemu pracy

Wnioski 8 i 9 są wnioskami podsumowującymi.

Wnioski odpowiadają postawionym celom pracy.

PIŚMIENNICTWO składa się ze 157 pozycji z tego 24 (15%) pochodzi z ostatnich 5 lat. Jest ono właściwie dobrane i koresponduje z tematem pracy.

Uzupełnieniem całości są STRESZCZENIA w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin oraz wykaz skrótów, terminów i symboli.

OCENIAJĄC OGÓLNIE przedstawioną do recenzji rozprawę doktorską chciałbym zwrócić uwagę na następujące aspekty:

1. Praca dotyczy ważnego problemu klinicznego.
2. W pracy dokonano analizy zastosowania DWI w zakażeniach HIV w przypadku pacjentów w okresie sublinicznym.
3. Dysertacja jest napisana poprawnie i zrozumiałym językiem co świadczy o dojrzałości Doktorantki.
4. Pracę cechuje nowatorstwo - jedno z pierwszych tak kompleksowych opracowań wartości DTI w bezobjawowym zakażeniu HIV.

5. W toku przeprowadzonych badań Autorka zrealizowała cele pracy i przedstawiła słuszne wnioski.
6. Przeprowadzona dyskusja świadczy o znajomości i zrozumieniu poruszanego tematu.
7. Wymiernym rezultatem pracy jest udokumentowany postulat wprowadzenia techniki DTI do protokołu badań MR a także konieczność uwzględniania wyników badań DTI przy podejmowaniu decyzji o wdrożeniu terapii antyretrowirusowej.

Recenzent ma także obowiązek wypunktowania niedociągnięć:

1. Brak w spisie treści zaznaczenia podrozdziału 5.6
2. W rozdziale 1.7.2 (strona 27) Autorka – pisząc o technice HMRS - przywołuje pozycje 96. Jest to stare wydanie obarczone istotnymi błędami w dziale opisującym spektroskopie MR.
3. Pisząc o zastosowaniu HMRS w diagnostyce OUN pacjentów z zakażeniem HIV (rozdział 1.7.2, strona 27) warto wspomnieć o pracy Liliany Podsiadło (Polish Journal of Radiology, 2003;3:5-9)
4. W opisie materiału podano, że grupa kontrolna liczyła 19 ochotników. W tabelach konsekwentnie podawana jest liczba 17 (CG)?
5. W tytułach 4.2 – 4.4 brak słowa „grupy”
6. Sposób opisu poszczególnych pozycji piśmiennictwa jest niejednorodny.

Zauważone niedociągnięcia mają głównie charakter edycyjny i nie wpływają na bardzo wysoką ocenę merytoryczną pracy. Jest to bowiem bardzo szczegółowe i rzetelne opracowanie o charakterze nowatorskim a także praktycznym wymiarze.

**Oceniając pozytywnie, tak pod względem formalnym jak i merytorycznym pracę doktorską lek. Anny Kotłowskiej „Ocena wartości tensora dyfuzji rezonansu magnetycznego w wykrywaniu wczesnych zmian mózgu u pacjentów zakażonych wirusem HIV bez objawów neurologicznych” zwracam się do Pani Dziekan oraz Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o przyjęcie pracy i dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Chciałbym także postawić wniosek o wyróżnienie pracy.**

5. W toku przeprowadzonych badań Autorka zrealizowała cele pracy i przedstawiła słuszne wnioski.
6. Przeprowadzona dyskusja świadczy o znajomości i zrozumieniu poruszanego tematu.
7. Wymiernym rezultatem pracy jest udokumentowany postulat wprowadzenia techniki DTI do protokołu badań MR a także konieczność uwzględniania wyników badań DTI przy podejmowaniu decyzji o wdrożeniu terapii antyretrowirusowej.

Recenzent ma także obowiązek wypunktowania niedociągnięć:

1. Brak w spisie treści zaznaczenia podrozdziału 5.6
2. W rozdziale 1.7.2 (strona 27) Autorka – pisząc o technice HMRS - przywołuje pozycje 96. Jest to stare wydanie obarczone istotnymi błędami w dziale opisującym spektroskopie MR.
3. Pisząc o zastosowaniu HMRS w diagnostyce OUN pacjentów z zakażeniem HIV (rozdział 1.7.2, strona 27) warto wspomnieć o pracy Liliany Podsiadło (Polish Journal of Radiology, 2003;3:5-9)
4. W opisie materiału podano, że grupa kontrolna liczyła 19 ochotników. W tabelach konsekwentnie podawana jest liczba 17 (CG)?
5. W tytułach 4.2 – 4.4 brak słowa „grupy”
6. Sposób opisu poszczególnych pozycji piśmiennictwa jest niejednorodny.

Zauważone niedociągnięcia mają głównie charakter edycyjny i nie wpływają na bardzo wysoką ocenę merytoryczną pracy. Jest to bowiem bardzo szczegółowe i rzetelne opracowanie o charakterze nowatorskim a także praktycznym wymiarze.

**Oceniając pozytywnie, tak pod względem formalnym jak i merytorycznym pracę doktorską lek. Anny Kołtowskiej „Ocena wartości tensora dyfuzji rezonansu magnetycznego w wykrywaniu wczesnych zmian mózgu u pacjentów zakażonych wirusem HIV bez objawów neurologicznych” zwracam się do Pani Dziekan oraz Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o przyjęcie pracy i dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Chciałbym także postawić wniosek o wyróżnienie pracy.**

