

Prof. dr hab. med. Marek Sasiadek  
Kierownik Katedry Radiologii  
Kierownik Zakładu Radiologii Ogólnej, Zabiegowej i Neuroradiologii  
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
ul. Borowska 213  
50-556 Wrocław

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu DZIEKANAT WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ	
26-01-2024	
I. dz.....	zał.....
znak sprawy:.....	

Wrocław, 22.01.2023

## RECENZJA

### rozprawy doktorskiej lek. wet. Pauliny DROBOT

#### **“Ocena korelacji pomiarów wolumetrycznych mózgowia w badaniach rezonansu magnetycznego z wynikami elektroencefalografii u psów z padaczką idiopatyczną”**

Padaczka należy do najczęstszych chorób neurologicznych u ludzi, jest również często rozpoznawana w medycynie weterynaryjnej u psów. Jednak o ile w medycynie człowieka od dawna opracowane są szczegółowe protokoły diagnostyczne, w których kluczową rolę odgrywają elektroencefalografia (EEG) i rezonans magnetyczny (MRI) to w medycynie weterynaryjnej nie ma jeszcze ogólnie przyjętych standardów postępowania diagnostycznego. Tymczasem potwierdzenie rozpoznania padaczki oraz określenie jej przyczyny jest podstawą do zaplanowania postępowania leczniczego.

Lek. wet. Paulina Drobot w swojej rozprawie doktorskiej podjęła się analizy wolumetrii rezonansu magnetycznego (vMR) całego mózgowia, układu komorowego i płatów skroniowych u psów z padaczką idiopatyczną oraz jej korelacji z badaniami EEG.

Dobór tematu należy uznać za trafny i ważny, zarówno z punktu widzenia poznawczego, gdyż może wnieść nowe dane na temat etiopatogenezy i klasyfikacji padaczki u psów; jak z punktu widzenia klinicznego, ponieważ może doprowadzić do poprawy efektów leczenia choroby.

Rozprawa doktorska lek. wet. Drobot ma postać monografii, liczy 84 strony, ma klasyczny układ, zawiera liczne tabele, ryciny i schematy oraz dokładny spis treści, rycin, tabel i schematów, a także wykaz skrótów, co ułatwia zapoznanie się z tekstem.

Na początku rozprawy Autorka umieściła streszczenie polskie i angielskie, które w mojej opinii wymaga uzupełniania, gdyż zawierają one jedynie skrót wstępu, metodyki i hipotez badawczych, natomiast nie uwzględniono w nim wyników badań ani wniosków z rozprawy.

Właściwą rozprawę otwiera obszerny „Wstęp”, w którym Doktorantka przedstawia najpierw podstawowe informacje na temat etiopatogenezy padaczki, a następnie opisuje klasyfikację

padaczki u psów w oparciu o propozycje grupy *International Veterinary Epilepsy Task Force* (IVETF), z podziałem na postać idiopatyczną (z podtypami padaczki idiopatycznej genetycznej, idiopatyczną z podejrzeniem padaczki genetycznej oraz padaczki całkowicie idiopatycznej) oraz padaczkę strukturalną (spowodowaną zmianami patologicznymi w korze mózgowej). W dalszej części wstępu lek. Drobot przedstawia szczegółową klasyfikację napadów padaczkowych, a następnie schemat postępowania diagnostycznego w padaczce idiopatycznej u psów zaproponowany przez IVETF

Kolejna część wstępu poświęcona jest padaczce skroniowej. Doktoranka omawia etiopatogenezę padaczki skroniowej, z podkreśleniem głównego jej podłoża, jakim jest stwardnienie hipokampa (*mesial temporal sclerosis*- MTLE); opisuje dokładnie anatomie płata skroniowego; klasyfikację oraz przyczyny padaczki skroniowej u ludzi i fazy padaczki skroniowej (przednapadowa, napadowa, ponapadowa). Następnie omawia diagnostykę MTLE, koncentrując się na szczegółowym przedstawieniu objawów w badaniu MRI, w tym zmniejszenia objętości licznych struktur mózgowia, które mogą być mierzone w wolumetrii MR. Autorka opisuje też metody terapeutyczne w padaczce skroniowej: farmakologiczne, chirurgiczne i neurostymulujące.

W kolejnym podrozdziale omówiono metody terapii padaczki idiopatycznej u psów, która opierają się na farmakoterapii; opisano też próby leczenia operacyjnego rozłączeniowego (kalozotomia).

Następnie Doktorantka przechodzi do omówienia roli MRI głowy w padaczce idiopatycznej u psów. Opisuje protokół badania MRI w padaczce oraz wskazania do MRI zgodnie z kryteriami IVETF, a także najczęstsze zmiany w badaniu MRI głowy psów w padaczce idiopatycznej.

Lek. Drobot omawia też dokładnie rolę EEG w padaczce podając podstawowe informacje na temat techniki i interpretacji tego badania. Zwraca uwagę, że badanie EEG u psów jest stosunkowo mało rozpowszechnione z powodów ograniczeń logistyczno-finansowych oraz że brak jest ogólnie przyjętych standardów techniki wykonywania tego badania.

Ostatni podrozdział „Wstępu” poświęcony jest zastosowaniu wolumetrii MR (v MR) w padaczce u zwierząt. Autorka podkreśla trudności techniczne analizy wolumetrycznej u psów związane z brakiem standardów zastosowania zautomatyzowanych metod wolumetrycznych.

Podsumowując „Wstęp” rozprawy doktorskiej, stwierdzam, że stanowi on dokładnie przedstawienie zagadnień będących przedmiotem rozprawy i wskazuje na dobre przygotowanie Doktorantki do przeprowadzenia zaplanowanych badań.



Te zaplanowane elementy lek. Drobot przedstawia jako „Hipotezy badawcze” i „Cele pracy”. Autorka formułuje dwie hipotezy: 1. obecność zmian strukturalnych w mózgu w padaczkę idiopatyczną u psów niewykrywalnych w konwencjonalnych protokołach MRI; 2. korelacja lokalizacji tych zmian strukturalnych z lokalizacją w badaniu EEG.

Cele pracy to: 1. porównanie objętości mózgu oraz komór bocznych i stosunku ich objętości pomiędzy grupą psów ze zdiagnozowaną padaczką idiopatyczną grupą kontrolną. 2. stworzenie półautomatycznej metody wolumetrii z zastosowaniem dostępnych atlasów mózgu psów 3. analiza wolumetryczna płatów skroniowych u psów z padaczką idiopatyczną. 4. ocena korelacji wyników EEG z wynikami analizy wolumetrycznej płatów skroniowych.

W rozdziale „Materiał i metody” Doktorantka przedstawia koncepcję badań z podziałem ich na 4 etapy zgodne z powyższymi Celami rozprawy.

Pierwszy etap, dotyczący porównania objętości mózgu i komór bocznych u psów z padaczką idiopatyczną i w grupie kontrolnej, został zrealizowany na grupie 20 psów ze zdiagnozowaną padaczką idiopatyczną (IE) oraz grupie kontrolnej (N) 10 psów skierowanych na badanie MRI z powodu innych chorób neurologicznych, niewpływających na objętość mózgowia. Psy zostały dobrane bardzo starannie, z precyzyjnymi kryteriami kwalifikacji i wykluczenia oraz z porównywalnymi parametrami wieku i wagi w obu grupach. Następnie Autorka przedstawia protokół badań MRI oraz wolumetrii MR, która została przeprowadzona w oparciu o cienkowsarstwową sekwencję 3D T1-zależną i półautomatyczną wolumetrię przy użyciu oprogramowania 3D Slicer (wersja 4.5.0). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

W drugim etapie Doktorantka opracowała własną metodę obliczania objętości płatów skroniowych, w postaci półautomatycznej segmentacji mózgu przy użyciu oprogramowania MRICron v1.0.20190902 w oparciu o *Stereotactic Cortical Atlas of the Domestic Canine Brain*, a następnie postprocesing za pomocą oprogramowań Statistical Parametric Mapping 12 (SPM12) i 3D Slicer.

W trzecim etapie zastosowano opracowaną w drugim etapie metodę do analizy wolumetrycznej płatów skroniowych u psów z padaczką idiopatyczną. Zastosowano ją u 31 psów z drgawkami uogólnionymi lub ogniskowymi. Obliczono u nich porównawczo objętość płatów skroniowych, przyjmując różnicę  $> 6\%$  jako jednostronny zanik mniejszego płata skroniowego. Mam wrażenie, że ten został określony arbitralnie, gdyż Doktorantka nie podała żadnych źródeł literaturowych.

W czwartym etapie oceniono korelację wyników wolumetrii płatów skroniowych z wynikami badań EEG. Doktorantka opisuje szczegółową technikę wykonanych badań EEG, zarówno spoczynkowych, jak przy zastosowaniu lampy stroboskopowej. Porównanie wyników w EEG i vMR zostało dokonane za pomocą analizy statystycznej.

Całość rozdziału „Materiał i metody” oceniam wysoko. Autorka starannie zaplanowała warsztat badawczy, umożliwiającą realizację celów pracy. Szkoda jedynie, że Doktorantka nie połączyła choćby części obu grup psów z padaczką idiopatyczną z pierwszego i trzeciego etapu (odpowiednio 20 i 31 psów) poprzez zastosowanie wszystkich obliczeń wolumetrycznych w obu grupach.

W kolejnym rozdziale przedstawiono wyniki etapów zaplanowanych w „Materiale i metodach”

Obliczenia objętościowe wykonane w pierwszym etapie wykazały statystycznie istotne różnice pomiędzy grupami IE i N w objętości komór bocznych i w stosunku objętości komór bocznych do objętości mózgu (LV/B). Objętość mózgu była niższa w grupie IE niż w grupie N, jednak bez istotności statystycznej. Wynika z tego, że powiększenie komór bocznych miało ograniczony wpływ na zmniejszenie objętości całego mózgu. Ponownie żałuję, że Doktorantka nie pokusiła się tu o bardziej pogłębioną analizę wolumetryczną, chociażby o obliczenia objętości płatów skroniowych, takie jak w trzecim etapie badań.

Z kolei zamieszczone na końcu wyników tego etapu informacje o zależności między parametrem LV/B a odstępem badania MRI od wystąpienia napadów niewiele wniosła, z uwagi na małą liczebność podgrup ze zwiększonym i niezwiększonym stosunkiem LV/B.

Wyniki pozostałych trzech etapów zaplanowanych w „Materiale i metodach” zostały przedstawiony łącznie jako etap II, co jest pewną niekonsekwencją edytorską, ale jest o tyle logiczne, że etapy 2 i 3 w „Materiale i metodach” stanowiły w zasadzie przygotowanie do najistotniejszego etapu 4 czyli porównania wyniku wolumetrii MR płatów skroniowych z wynikami badań EEG.

31 psów badanych w tej części projektu badawczego, podzielono na podgrupy A, B i C w zależności od tego, czy w EEG stwierdzono wyładowania w odprowadzeniach T3, w odprowadzeniach T4, czy też w obu tych odprowadzeniach. Z kolei w badaniu MRI wzięto pod uwagę wzrokową ocenę symetrii komór bocznych i analizę wolumetryczną płatów skroniowych, której najistotniejszym elementem był współczynnik asymetrii AR. W tej analizie psy zostały podzielono na podgrupy 1, 2 i 3 w zależności czy komory boczne były symetryczne, czy też szersza była prawa lub lewa komora boczna. Szkoda, że Autorka nie zastosowała wolumetrii komór bocznych, tak jak w pierwszej części projektu doktorskiego. Zauważyłem też drobny błąd w tabeli 3, gdzie współczynnik AR 5,68% został zaznaczony na żółto jako znacząca asymetria, podczas gdy przyjęto próg  $>6\%$ .

Doktorantka przeprowadziła dwie analizy statystyczne tej części wyników. W pierwszej analizie oceniono korelację objętości lewego i prawego płata skroniowego w vMR a



wynikami badania EEG, nie wykazując statystycznie istotnych różnic w objętości płatów skroniowych i współczynnika AR między podgrupami A, B i C badania EEG.

W drugiej analizie statystycznej oceniono korelację pomiędzy współczynnikiem AR oraz objętością lewego i prawego płata skroniowego a asymetrią komór bocznych. Stwierdzono statystycznie istotną różnicę w wartości współczynnika AR pomiędzy podgrupą 2 (prawa komora boczna szersza od lewej) a podgrupą 3 (komory boczne symetryczne). Nie wykazano innych statystycznych różnic między podgrupami 1, 2 i 3.

Ponadto stwierdzono że spośród 12 psów z  $AR > 6\%$  u połowy wystąpiła korelacja między stroną zmian w EEG a stroną zmniejszenia objętości płata skroniowego i poszerzenia komory bocznej. Ze względu na małe liczby wyniki te jednak muszą być ocenione ostrożnie.

Całość rozdziału „Wyniki” oceniam pozytywnie. Uzyskane wyniki są interesujące i przedstawione przejrzysto. Mam jednak lekki niedosyt, gdyż jak już wspomniałem analiza mogłaby być bardziej pogłębiona, gdyby w obu grupach psów zastosowano te same lub poszerzone o inne struktury anatomiczne obliczenia wolumetryczne. Mam jednak nadzieję, że Doktorantka z pomocą Promotora, będzie kontynuowała analizę badań i poszerzała materiał badawczy, co powinno skutkować wartościowymi publikacjami.

W rozdziale „Dyskusja” Autorka szczegółowo analizuje wyniki swoich badań, konfrontując je z piśmiennictwem. Podkreśla, że wykazanie poszerzenia komór bocznych i stosunek LV/B u psów z padaczką świadczy o zaniku mózgowia w tej grupie pacjentów i potwierdza podobne wyniki u ludzi. Doktorantka dokładnie analizuje możliwe przyczyny, wiążąc je podobnie jak w wielu doniesieniach z piśmiennictwa, z przebytymi napadami drgawkowymi. Na uznanie zasługuje krytyczna analiza Doktorantki możliwych innych przyczyn poszerzenia komór, np. różnic związanych z rasą czy wiekiem psów oraz innych czynników mogących mieć na to wpływ, np. różnego odstępu między wystąpieniem napadów drgawkowych a badaniem MRI. Te ograniczenia skłaniają Autorkę do deklaracji ostrożnego traktowania wyników, które jednak mogą odegrać istotną rolę w diagnostyce padaczki u psów.

W drugiej części Dyskusji lek. Drobot analizuje swoje wyniki analizy wolumetrycznej płatów skroniowych. Podkreśla, że jest to pierwsze badanie, w którym zastosowano automatyczną wolumetrię mózgowia u psów. Zwraca rolę na znaczenie zmian w płatach skroniowych, zwłaszcza w hipokampach, w patogenezie padaczki. W tym kontekście wyniki badań Doktorantki mają istotne znaczenie, gdyż wykazują u znacznej liczby psów asymetrię objętości płatów skroniowych, częściowo korelującą z asymetrią komór bocznych i lokalizacją zmian w EEG. W ten sposób, dzięki lokalizacji ogniska padaczkorodnego vMR może przyczynić się do rozwoju leczenia neurochirurgicznego padaczki skroniowej u psów, choć Autorka wskazuje na konieczność dalszych badań na większych grupach.



Autorka formułuje 4 wnioski z przeprowadzonych badań, które są zgodne z celami rozprawy. Wskazuje z nich kolejno na zmiany strukturalne mózgu u psów z padaczką wyrażone zwiększeniem objętości układu komorowego; na znaczenie opracowanej w rozprawie półautomatycznej wolumetrii mózgu dla diagnostyki padaczki u psów; na wykryte różnice w objętości płatów skroniowych u psów z padaczką idiopatyczną; wreszcie na związek między obecnością wyładowań w EEG a zmniejszeniem objętości płata skroniowego po tej samej stronie. Ten ostatni wniosek w mojej opinii jest zbyt daleko idący, gdyż wyniki badań potwierdzają to tylko częściowo.

Oprócz „Wniosków” Doktorantka przedstawia „Podsumowanie”, w którym podkreśla nowatorstwo podjętych badań i ich potencjalny wpływ na praktykę kliniczną leczenia padaczki u psów.

Rozprawę kończy „Bibliografia”, która liczy 119 pozycji, jest dobrze dobrana, z uwzględnieniem najnowszych doniesień.

Podsumowując uważam, że rozprawa doktorska lek. wet. Pauliny Drobot jest wartościowym i rzetelnym opracowaniem ważnego zagadnienia, przynoszącego wyniki istotne pod względem poznawczym i potencjalnie klinicznym. Niewielkie zastrzeżenia, które zgłosiłem w tekście recenzji powyżej, nie mają wpływu na całościową pozytywną ocenę pracy. Mam nadzieję, że badania Doktorantki, mające pionierski charakter, ale oparte na stosunkowo niewielkich grupach, będą kontynuowane i zostaną opublikowane w wartościowych czasopismach.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca lek. wet. Pauliny Drobot pt. “Ocena korelacji pomiarów wolumetrycznych mózgowia w badaniach rezonansu magnetycznego z wynikami elektroencefalografii u psów z padaczką idiopatyczną” spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z 20.07.2018 „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”.

W związku z tym zwracam się do Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie lek. Pauliny Drobot do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Marek Sasiadek