Dr hab. n. med. Anna Zaleska-Żmijewska
Katedra i Klinika Okulistyki Wydziału Lekarskiego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

OCENA ROZPRAWY NA STOPIEŃ NAUKOWY DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH
LEKARZA PAWŁA BIAŁKOWSKIEGO

pt. **„Analiza porównawcza parametrów morfologicznych siatkówki oka z użyciem metod Adaptive Optics Retinal Camera i Optical Coherence Tomography u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.”**

Warszawa, 22.08.2023 roku

Stwardnienie rozsiane (SM, *sclerosis multiplex*) jest przewlekłą, postępującą, zapalną autoimmunologiczną chorobą ośrodkowego układu nerwowego. Pierwsze symptomy SM pojawiają się zwykle u młodych dorosłych. Początkowo SM objawia się najczęściej klinicznie izolowanym zespołem objawów neurologicznych, ale przebieg choroby może być zmienny, jednak systematycznie prowadzi do powstania rozsianego, wieloogniskowego uszkodzenia zarówno istoty białej, jak i szarej mózgu oraz rdzenia kręgowego i pnia mózgu. Podstawą rozpoznania SM jest obraz kliniczny i badania dodatkowe. Rutynowo stosowanymi badaniami są: neuroobrazowanie mózgu i rdzenia kręgowego w MRI, badanie płynu mózgowo-rdzeniowego pod kątem obecności prążków oligoklonalnych, badanie funkcjonalne dróg czuciowych, czy badanie wzrokowych potencjałów wywołanych VEP.

W związku z przewidywanym długim czasem życia u osób chorych bardzo ważne jest opracowanie technik umożliwiających monitorowanie postępu choroby. Narząd wzroku często bywa pierwszym organem dotkniętym SM. Siatkówka umożliwia bezinwazyjne badanie 3 pierwszych neuronów drogi wzrokowej. Badanie OCT jest obecnie uważane za złoty standard badania obrazowego warstw siatkówki, a oznaczone w nim parametry określane są mianem biomarkerów zaawansowania procesu chorobowego i skuteczności leczenia SM. Optyka adaptatywna (AORC) jest nową metodą nieinwazyjnego obrazowania siatkówki, która pozwala na precyzyjne pomiary morfologii fotoreceptorów- czopków oraz drobnych naczyń siatkówki.

Lekarz **Paweł Białkowski** w swojej rozprawie doktorskiej podjął próbę analizy zastosowania dwóch nowoczesnych nieinwazyjnych metod obrazujących siatkówkę i mikrokrążenie siatkówkowe w różnych postaciach stwardnienia rozsianego oraz porównanie wyników z grupą osób zdrowych. Dotychczas nie przeprowadzono podobnych badań porównawczych parametrów siatkówki oka uzyskanych w optyce adaptatywnej i w OCT wśród osób chorych na SM.

Przedstawiony mi do oceny egzemplarz pracy doktorskiej liczy, łącznie z piśmiennictwem 186 stron wydruku komputerowego. Układ pracy jest typowy, składa się z 9 rozdziałów: wprowadzenia wraz z przeglądem piśmiennictwa, założeń i celów pracy, materiału i metod, wyników badań, omówienia wyników, podsumowania i wniosków oraz piśmiennictwa. Praca zawiera również streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin, jak też wykaz najczęściej używanych skrótów.

Rozdział 1, liczący 24 strony, dotyczy charakterystyki stwardnienia rozsianego, w którym Autor szczegółowo opisuje epidemiologię, etiologię, objawy i przebieg kliniczny SM oraz diagnostykę różnicową i metody leczenia. Opracowanie jest bardzo szczegółowe i wyczerpuje temat. Godne podkreślenia jest również zwrócenie uwagi, że Polska należy do krajów z największym wskaźnikiem zachorowalności na SM. Podrozdział 1.3.5 dotyczący etiologii SM w podpunktach przedstawia 3 główne grupy czynników mogących odpowiadać za wystąpienie choroby. Doktorant opisuje powyższe grupy w analityczny sposób, cytując najnowsze doniesienia światowej literatury.

<u>Uwagi do rozdziału 1:</u>

- Opis objawów SM (strony 14-17) jest według mnie zbyt szczegółowy i nie odnosi się do celu pracy.
- W opisie objawów okulistycznych Doktorant zastosował niejednorodne nazewnictwo dotyczące pozagałkowego zapalenia nerwu wzrokowego (strona 19, raz skrót w języku polskim, a w dalszej części w języku angielskim).
- W podrozdziale opisującym zmiany w badaniach dodatkowych u pacjentów chorych na SM Doktorant wymienił jedynie: badanie w lampie szczelinowej (zwracam uwagę na nieścisłość w opisach, ponieważ samo badanie w lampie szczelinowej nie pozwala na obejrzenie siatkówki. Jedynie jest to możliwe z wykorzystaniem soczewek Volka), wzrokowe potencjały wywołane i OCT. Brakuje bardzo ważnych badań obrazujących funkcje nerwu wzrokowego jakimi są: badanie ostrości wzroku oraz badanie pola widzenia. Perymetria to jedno z podstawowych badań zlecanych przy podejrzeniu pozagałkowego zapalenia nerwu wzrokowego. Uważam, że należy uzupełnić podrozdział 1.3.3.4 o opis powyższych badań okulistycznych.
- W opisie zmian w badaniu OCT w przebiegu SM występują powtórzenia. Należałoby skrócić tekst i poprawić składnię zdań (strona 24).

Rozdział 2 obejmuje szczegółowy opis siatkówki i drogi wzrokowej.

Rozdział 3 przedstawia cele pracy, którymi była analiza porównawcza warstw komórek fotoreceptorowych siatkówki, parametrów morfologicznych tętniczek siatkówki oka mierzonych przy pomocy kamery rtx1 oraz wszystkich warstw siatkówki mierzonych przy pomocy OCT, między chorymi ze stwardnieniem rozsianym, a grupą kontrolną z wykluczonym SM. Poniżej autor w punktach opisuje 6 celów szczegółowych pracy.

W rozdziale 4 Autor przedstawia materiał i metody swojej pracy badawczej. Załącza również zgodę komisji Bioetycznej z 2019 roku.

Grupę badaną, z rozpoznanym stwardnieniem rozsianym, stanowiły 43 osoby. Średni czas od rozpoznania choroby wynosił 7,83 ± 5,13 lat. U 31 spośród nich występowały w wywiadzie zaburzenia widzenia, to jest: podwójne lub nieostre widzenie, zaburzenia widzenia barwnego, drżenie obrazu w wyniku oczopląsu. Grupę kontrolną stanowiły 34 osoby. Grupy pacjentów włączonych do badania były w podobnym wieku. Średnia wieku wynosiła 36,54 ± 11 lat w grupie kontrolnej oraz 40,16 ±10 lat w grupie ze stwardnieniem rozsianym. W grupie chorych 74,4% osób brało udział w programach lekowych.

Uwagi do rozdziału 4:

- Uważam, że brakuje w pracy badania ostrości wzroku do dali i bliży, będącego podstawowym badaniem oceniającym funkcje widzenia, a także badania zaburzeń widzenia barwnego i pola widzenia, które są standardowymi badaniami wykonywanymi przy podejrzeniu zapalenia n. wzrokowego.

- Z opisu grupy badanej wynika, że najlepsza skorygowana ostrość wzroku wynosiła 0.7, ale brak informacji jaka była najniższa wartość.
- Brakuje również informacji ile rzutów choroby było wśród osób chorych na SM i czy przebyli oni zapalenie pozagałkowe nerwu wzrokowego.
- Uważam, że wcześniejsze bardzo szczegółowe opisanie różnych postaci SM, patomechanizmów choroby, czynników ryzyka i objawów przy jednoczesnym bardzo skromnym opisie grupy pacjentów włączonych do badania pozostawia duży niedosyt. Jest to duże niedociągnięcie metodologiczne.
- Zwraca uwagę fakt, że nie u wszystkich pacjentów z grupy kontrolnej przeprowadzono badanie OCT (jedynie u 56% z nich). Uważam, że jest to również błąd metodologiczny. Brak badania OCT u wszystkich pacjentów może rodzić wątpliwości, czy rzeczywiście jest to jednorodna grupa spełniająca kryteria SM (-).
- Zastrzeżenia budzi stwierdzenie,

cyt.: „Osoby zdrowe i z SM przyjmowały najczęściej okresowo w równym stopniu różne leki, które nie miały wpływu na wyniki badań, a ich działania niepożądane nie obejmowały narządu wzroku."
Brak informacji jakie leki i czy na pewno nie miały wpływu na wyniki badania, przede wszystkim naczyń siatkówki oraz pomiary ciśnienia tętniczego?

- W opisie metodologii badań występują błędy językowe, ale i merytoryczne. Zastrzeżenia moje budzi stwierdzenie, że pomiary czopków w rtx1^{TM} wykonywano w , cyt; „ plamce żółtej". Pomiary wykonuje się w określonej odległości od dołka, ponieważ obraz z samego centrum, ze względu na dużą gęstość czopków, jest nieczytelny.

- Całość rozdziału dotyczącego metodologii pracy jest nieco chaotyczna. Powinna zostać skrócona i przedstawiona w uporządkowany sposób.

Rozdział 4.5 opisuje narzędzia statystyczne zastosowane w pracy. Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość $p<0,05$.

Rozdział 5 to analiza wyników badań. Wyniki przedstawiono bardzo szczegółowo, ilustrując je 63 tabelami i 27 rycinami, na 65 stronach.

Badani pacjenci z SM nie różnili się od grupy kontrolnej parametrami badanymi w układzie krążenia. Obie badane grupy nie różniły się także wartościami ciśnienia wewnątrzgałkowego i długości gałek. Nie wykazano również różnic między grupami w analizowanych danych z ankiety. Na podkreślenie zasługuje przeprowadzenie wstępnego badania powtarzalności pomiarów czopków i naczyń mierzonych w AO. Autor pokazał dobrą powtarzalność pomiarów.

W kolejnych tabelach Autor przedstawia wyniki z pomiarów siatkówkowych z rtx1 i OCT. W badaniu OCT wartości średniej grubości siatkówki w dołku w grupie SM(+) były istotnie mniejsze od grupy kontrolnej o 4-6% w obu oczach we wszystkich lokalizacjach. Również wartości GCL były istotnie niższe w grupie osób chorych na SM. Nie wykazano różnic w grubości warstwy komórek nabłonka

barwnikowego RPE w obu oczach między grupami. W badaniu włókien okołotarczowych RNFL w OCT stwierdzono znamiennie niższe wartości w oczach prawych i niższe, ale nieznamiennie w oczach lewych wśród osób chorych na SM.

W analizie wyników pomiarów czopków w rtx1 Autor nie wykazał różnic między badanymi grupami. W badaniu tętniczek skroniowych górnych siatkówki w rtx1 wykazano mniejsze średnice, zarówno wewnętrzną, jak i zewnętrzną tych naczyń w grupie SM(+) w porównaniu do grupy kontrolnej.

W kolejnej części pracy Autor podzielił grupę SM+ na osoby z zaburzeniami widzenia w wywiadzie (31 osób) i bez zaburzeń widzenia (12 osób).

W badaniu OCT jedynie RNFL okołodołkowo w kwadrancie skroniowym w oku prawym był istotnie większy w SM(+) bez zaburzeń wzrokowych niż w grupie kontrolnej, poza tym nie stwierdzono istotnych różnic w RNFL między badanymi grupami w żadnej innej lokalizacji. Grupa SM(+) bez zaburzeń wzroku i grupa kontrolna nie różniły się wartościami badanych parametrów strukturalnych tętniczki skroniowej górnej siatkówki.

Uwagi:

- Błąd- według danych z tabeli 35 wartości GCL w OP różniły się znamiennie między grupami w lokalizacjach S (górnej) i I (dolnej). Autor w opisie tabeli zaznaczył jedynie różnice istotne statystycznie w OL. Opis tabeli wymaga poprawy.

> *cyt; „W obu oczach mediany GCL w lokalizacjach I, S oraz N w oku lewym były istotnie niższe w SM(+) bez zaburzeń wzroku niż w grupie kontrolnej. W pozostałych lokalizacjach wartości mierzonego parametru nie różniły się istotnie w obu grupach."*

W grupie SM (+) z zaburzeniami widzenia w oku prawym wykazano istotnie mniejsze wartości parametrów naczynia siatkówki w porównaniu do SM(+) bez zaburzeń widzenia. W badaniu OCT średnia grubość siatkówki w dołku oraz okołodołkowa grubość RNFL i GCL były mniejsze w grupie SM(+) z zaburzeniami wzrokowymi w porównaniu do grupy SM(+) bez zaburzeń wzrokowych w oku prawym istotnie, w oku lewym z wyraźną tendencją. Średnia grubość warstwy okołotarczowych włókien nerwowych w obu oczach, poza lokalizacją nosowo-dolną, była cieńsza u pacjentów z SM(+) z zaburzeniami wzrokowymi.

Autor wykazał korelację zmian w parametrach OCT i morfologii naczyń siatkówki mierzonych w rtx1 z czasem trwania choroby w grupie SM+.

Rozdział 6 to dyskusja i obejmuje strony od 135 do 151.

Autor wykazał się dobrą znajomością tematu i szeroko omawia doniesienia z literatury światowej poświęcone badanemu zagadnieniu. Praca napisana jest poprawnym językiem, niestety zawiera dosyć liczne błędy językowe, w większości stanowiące drobne pomyłki nie mające wpływu na kontekst zdania. Jednakże wpływają one na swobodę i jasność czytania pracy.

Uwagi:

- Na stronie 144- nie bardzo wiem do czego odnosi się cytowana publikacja nr 114, w miejscu, gdzie autor opisuje swoje wyniki badań naczyń siatkówki w rtx1.

- Strona 145- w jednym zdaniu autor opisuje badanie naczyń siatkówki z zastosowaniem rtx1 i SDLF. Są to dwa różne urządzenia pomiarowe. Należy rozbić zdanie na dwa odrębne.

- Autor sugeruje, że zmniejszenie światła i średnicy wybranego do analizy naczynia siatkówki ma związek ze wsteczną degradacją komórek zwojowych siatkówki w odpowiedzi na utratę mieliny. Wydaje mi się, że zgodnie z wcześniejszymi opisami, zmiany w naczyniach siatkówki odzwierciedlają przede wszystkim zaburzenia mikrokrążenia na poziomie gałki ocznej. Degeneracja mieliny w układzie nerwowym i rdzeniu kręgowym jest odpowiedzialna za objawy neurologiczne w przebiegu SM.

cyt:"Dlatego prawdopodobną przyczyną różnic między grupą kontrolną i SM(+) mogą być następcze zaburzenia związane z degradacją mieliny na poziomie mózgowych dróg wzrokowych, które powodują śmierć komórek zwojowych siatkówki oka i obniżają zapotrzebowanie z układu mikrokrążenia na poziomie fizjologicznej lokalnej autoregulacji przepływu krwi w siatkówce oka".

Rozdział 7 wnioski

Nie stwierdzono zmian w badanej grupie w parametrach opisujących pierwszy neuron drogi wzrokowej, reprezentowany w rtx1 przez czopki a w OCT przez analizę grubości RPE i fotoreceptorów. Na podstawie wyników prezentowanych badań stwierdzono natomiast w grupie chorych na SM zmiany w warstwie II i III neuronu drogi wzrokowej. Zmiany te korelowały z czasem trwania choroby. Zmiany w tętniczkach skroniowych górnych siatkówki w rtx1 sugerują ograniczenie objętości krwi, zaopatrującej III neuron u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

Poddanie analizie parametrów morfologicznych siatkówki z użyciem dobrze poznanej metody OCT, w zestawieniu z nową metodą badania za pomocą optyki adaptatywnej warstwy czopków i morfologii tętniczek siatkówki, pozwala na oszacowanie uszkodzeń pierwszych trzech neuronów czuciowych siatkówki oraz ustalenie ich korelacji z innymi parametrami klinicznymi.

Uwagi do rozdziału Wnioski

- Pierwszy akapit w rozdziale Wnioski nie wynika z celów i z wyników pracy badawczej.

Na podstawie przedstawionych przez Autora wyników badań nie jesteśmy w stanie wysnuć takiego wniosku, ponieważ nie przeprowadzono badań ostrości wzroku.
Według mnie należy usunąć pierwszy akapit z rozdziału Wnioski i ewentualnie przenieść go do działu Dyskusja.

cyt: „Większa część chorych na SM w przebiegu choroby lub jako jej pierwszy objaw doświadcza zaburzeń widzenia, które w miarę trwania choroby prowadzą do upośledzenia widzenia lub jego całkowitej utraty. Niepełnosprawność ruchowa w połączeniu z zaburzeniami widzenia prowadzi do szybszego braku samodzielności dotkniętych stwardnieniem rozsianym."

- Kolejne zdanie również nie jest wnioskiem wynikającym z wyników pracy badawczej. Nie analizowano w niej liczby i częstości występowania zapaleń pozagałkowych nerwu wzrokowego.

cyt:" Wykazano natomiast, że nie, jak wcześniej zakładano, proces degeneracyjny siatkówki zachodzi niezależnie od wystąpienia zapalenia nerwu wzrokowego, głównie w pozagałkowej postaci, a wystąpienie ON może prowadzić tylko do postępu zaawansowania zmian w przednim odcinku drogi wzrokowej."

cyt.: Wyniki badań pozwalają na postulowanie, że zachowanie warstwy receptorowej siatkówki oka w SM może stanowić szansę w przyszłości do częściowej lub całkowitej odbudowy przewodzenia bodźców do kory wzrokowej i uzyskanie poprawy widzenia u chorych ze zmianami neurodegeneracyjnymi narządu wzroku w stwardnieniu rozsianym.

Nie wiem na jakiej podstawie Autor wyciąga taki wniosek. Nie znajduje to odzwierciedlenia w wynikach przeprowadzonych badań, nie było również hipotezą badawczą. Wydaje mi się, że to stwierdzenie należy przenieść do działu Dyskusja.

- cyt." Badania rtx1 w mojej grupie badanej wykluczają zanikanie czopków w przebiegu SM do ok. 20 lat od postawionej diagnozy".

Nie wiem na jakiej postawie postawiono taki wniosek, skoro średni czas od postawienia rozpoznania SM do badania wynosił 7,83 ± 5,13 lat, z medianą 8,00 lata.
Według mnie jest to błędny wniosek, nie znajdujący odzwierciedlenia w wynikach badań.

- Większość tekstu z rozdziału Wnioski powinna zostać zawarta w rozdziale Dyskusja.
Autor powinien wyszczególnić wnioski w punktach i powinny one odpowiadać założonym celom pracy. Wnioskuję o poprawę w całości rozdziału Wnioski.

Streszczenie napisano w języku polskim i angielskim, po 3 strony każde.

Uwagi do rozdziału Streszczenie:

- Pierwsza strona streszczenia to ogólny opis stwardnienia rozsianego i występujących w jego przebiegu niepełnosprawności. Nie jest to streszczenie odnoszące się do tematu badań podjętych przez Doktoranta. Według mnie należy skrócić opisy, ponieważ są powtórzenia zdań.

- Streszczenie powinno odzwierciedlać cele pracy, a w nich nie było priorytetem jedynie badanie fotorecptorów siatkówki, co możemy mylnie odczytać, czytając poniższe zdanie:

cyt." Praca doktorska miała na celu dokonanie analizy parametrów morfologicznych siatkówki oka w przebiegu stwardnienia rozsianego, a w szczególności komórek fotoreceptorowych – czopków, które stanowią swoistą kamerę do odbioru bodźców wzrokowych ze świata zewnętrznego".

- Brakuje rozwinięcia co to znaczy że grupa chorych na SM była na różnym etapie choroby i z różnym czasem jej trwania. – brak takich danych w pracy.

- Badania naczyń nie są wykonywane w celu uzyskania wartości, a pozwalają na obrazowanie/obliczenia- błąd językowy, według mnie należy zmienić poniższe zdanie:

cyt. „Badania tętniczki skroniowej górnej wykonywane były w celu uzyskania wartości:…"

Piśmiennictwo

Piśmiennictwo obejmuje 161 pozycji, uszeregowanych w porządku alfabetycznym. Na podkreślenie zasługuje fakt, że są w nim dość liczne pozycje polskich autorów oraz że publikacje zawierają najnowsze pozycje, nawet z bieżącego roku 2023.

Od strony 178 rozpoczyna się spis tabel zawartych w pracy. Według spisu jest ich 55, ale w pracy numeracja tabel kończy się na 63 tabeli. Proszę o ujednolicenie zapisu i poprawę spisu.

Podsumowując:

Lekarz **Paweł Białkowski** sformułował założenia i oryginalne cele badawcze. Zasadnym i istotnym jest przeprowadzenie nieinwazyjnych badań siatkówki u chorych na stwardnienie rozsiane, ponieważ uzyskane wyniki mogą pozwolić na ocenę zmian w poszczególnych warstwach siatkówki oraz w morfologii drobnych naczyń tętniczych siatkówki.

Wszelkie moje uwagi odnoszące się do powyższej rozprawy doktorskiej nie zmieniają mojej pozytywnej jej oceny.

Reasumując, stwierdzam, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lekarza Pawła Białkowskiego pt. **„Analiza porównawcza parametrów morfologicznych siatkówki oka z użyciem**

metod Adaptive Optics Retinal Camera i Optical Coherence Tomography u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.” jest cennym, aktualnym i rzetelnym opracowaniem podjętego tematu, w którym Doktorant wykazuje umiejętność samodzielnego poruszania się w zawiłej problematyce. Praca wymaga jednak poprawek, zwłaszcza w rozdziałach dotyczących metodologii badań i wniosków.

Jednakże dysertację tę oceniam pozytywnie, stąd też zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie lekarza Pawła Białkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. n. med. Anna Zaleska-Żmijewska