Dr hab. n. med. Joanna Haraźna, prof. UWM
Katedra Fizjologii i Patofizjologii Człowieka
Wydział Lekarski Collegium Medicum
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Olsztyn, 31.05.2023

Opinia promotorska na temat pracy doktorskiej 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"

Rozprawa doktorska Pana lekarza Pawła Białkowskiego poświęcona została porównaniu wyników badań siatkówki oka ludzkiego u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym z wynikami uzyskanymi u zdrowych ochotników. Badania, które prowadził Doktorant, były wykonywane nieinwazyjnie z wykorzystaniem nowej technologii optyki adaptatywnej, opracowanej pierwotnie w astronomii do badań kosmosu w celu wyeliminowania scyntylacji powodowanych drganiami atmosfery i wykorzystanej do badań nieinwazyjnych oka. Technologia ta wykorzystuje możliwość precyzyjnego sterowania kamery / teleskopu przez komputer, korygując w ten sposób jakość skanowanego obrazu. Oko człowieka jest wiodącym narządem zmysłu i zachowanie widzenia u pacjentów jest priorytetowym celem okulistyki. We współczesnej okulistyce słowa wybitnego polskiego oftalmologa Profesora Tadeusza Krwawicza: *"Przywrócić wzrok człowiekowi, nie pozwolić, by do końca swoich dni pozostał niewidomy to nie tylko sprawa humanizmu, ale wyraz najwyższej cywilizacji społeczeństwa"* nabierają nie tylko głębokiego znaczenia, ale i wskazują na ogrom odpowiedzialności, jaka spada na lekarza, który podjął się takiego zadania. W mojej opinii Doktorant wziął na siebie taką odpowiedzialność i wykorzystując nowoczesne, ale także skomplikowane i wymagające ogromnej wiedzy badania, zrealizował cele podjęte w tej pracy.

Ponieważ oko ludzkie wyspecjalizowało w ewolucji na potrzeby zapewnienia jakości procesów widzenia unikalną transparentność od rogówki aż do siatkówki, to przez przezroczystą rogówkę, bezkapilarne zaopatrywanie w składniki pokarmowe wewnętrznych struktur oka przez ciecz wodnistą, transparentną soczewkę i ciałko szkliste nie tylko fotony światła zostają absorbowane przez fotoreceptory, nie tylko ich nadmiar jest pochłaniany przez nabłonek pigmentowy, ale też mogą tworzyć obraz odbity w nowoczesnych, wysokoczułych urządzeniach badawczych, analizujących struktury siatkówki, dokonujących pomiaru grubości każdej jej warstwy, a nawet obrazując komórki czopków. Jest to ogromne osiągnięcie

okulistyki, nieinwazyjne, niewymagające nawet mydriasis, analizujące obrazy automatycznie, dające wyniki w ciągu kilku minut. Obie wybrane przez Doktoranta techniki badania siatkówki oka należą do tej kategorii urządzeń, z czego koherencyjna tomografia optyczna OCT jest stosowana diagnostycznie w okulistyce już od lat 90tych ubiegłego wieku, natomiast kamera rtx1 z adaptatywną optyką znana jest w okulistyce dopiero od dziesięciu lat i wykorzystywana obecnie bardziej do badań naukowych niż diagnostycznych. Kamera ta umożliwia nie tylko wizualizację i analizę czopków, ich liczbę, gęstość, dyspersję na standaryzowanej i zdefiniowanej powierzchni i głębokości, kiedy mierzone są w *fovea centralis,* ale też ich kształt jest automatycznie oceniany. Badania kształtu fotoreceptorów mogą mieć znaczenie w badaniach funkcjonalnych, tak bardzo ważnych we współczesnej diagnostyce nie tylko w okulistyce, ale w każdej specjalizacji medycznej.

Doktorant wybrał bardzo trudne zadanie dla okulisty, ponieważ podjął się badań siatkówki oka w stwardnieniu rozsianym, w ciężkiej, postępującej chorobie neurodegeneracyjnej, której główne zadania diagnostyczne i terapeutyczne leżą w odpowiedzialności neurologów. Jednakże choroba ta w swoim przebiegu manifestuje się utratą wzroku z powodu patomechanizmów powodujących degenerację mielinizowanych części neuronów, w tym aksonów komórek zwojowych - trzeciego neuronu aferentnej drogi wzrokowej -, których neurocyty zlokalizowane są w siatkówce oka, a aksony budują II nerw czaszkowy - nerw wzrokowy - do skrzyżowania wzrokowego i potem do ciała kolankowego bocznego. Być może głównie z tego powodu badania neurookulistyczne w medycynie są również w ostatnich latach często podejmowane i zainteresowanie Doktoranta, który specjalizuje się w okulistyce, pokazują na jego szerokie zainteresowanie problemami zaburzeń widzenia. Tym bardziej jest to istotne, ponieważ nieinwazyjne badania mózgu są w dużej mierze ograniczone brakiem tak wysokiej rozdzielczości obrazu, jaka jest możliwa w okulistyce. Poza tym nieinwazyjne badanie drogi wzrokowej do trzeciego neuronu drogi czuciowej może być w pewnym sensie modelem do rozumienia uszkodzeń w innych drogach nerwowych w tej chorobie.

Do badań Doktorant wybrał adekwatne klinicznie grupy chorych ze stwardnieniem rozsianym i osób z wykluczonym stwardnieniem rozsianym (generalnie zdrowych ochotników, stanowiących grupę kontrolną do badań), co zostało potwierdzone w analizie parametrów klinicznych i środowiskowych, opracował plan badań, formularze ankiety do wywiadu, zgody pisemnej pacjenta na badania i informację pisemną dla pacjenta o badaniu. Następnie uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Collegium Medicum UWM w Olsztynie na podjęcie badań. Parametry kliniczne w kierunku badania układu krążenia były wykonane wg. złotego standardu

badania ciśnienia centralnego i prędkości fali tętna oraz zaleceń *European Hypertension Society*. Kolejnym krokiem była rekrutacja osób spełniających założone kryteria i badania pacjentów oraz grupy kontrolnej. Z powodu wybuchłej w tym czasie pandemii Doktorant w trosce o bezpieczeństwo epidemiologiczne badanych podjął decyzję o zaprzestaniu badań na czas jej trwania. W tym trudnym dla lekarzy czasie Doktorant nie zaprzestał pracować nad doktoratem, pogłębiał swoją wiedzę, wyszukiwał adekwatną literaturę do poznawania zarówno metod badawczych, jak i opracowania wstępu do swojej pracy. Po ukończeniu części badawczej podjął się analizy statystycznej uzyskanych wyników. Doktorant wybrał właściwe metody analityczne, wyniki przedstawił systematycznie i zrozumiale. Część wyników przedstawił graficznie, co bardzo ułatwia ich interpretację.

W wyniku badań i analiz wyników Doktorant opisał wnioski adekwatne do postawionych celów badawczych. W tej analitycznej części pracy widać, jaki rozwój naukowy osiągnął Doktorant i jaką ogromną pracę wykonał. Metodą rtx1 zbadał 6 parametrów dla analizy czopków w czterech lokalizacjach oraz 5 parametrów opisujących morfologię tętniczek górnych skroniowych siatkówki w obu oczach. Również w obu oczach badał metodą OCT 9 parametrów strukturalnych siatkówki w 4-5 lokalizacjach. Wszystkie te parametry porównywał między grupami chorych na stwardnienie rozsiane a grupą kontrolną. W trakcie analiz Doktorant zaproponował porównanie miedzy pacjentami ze stwardnieniem rozsianym z zaburzeniami widzenia i bez takich zaburzeń. Ponieważ wiele z badanych parametrów istotnie różniło się w obu porównanych grupach chorych, zanalizował różnice między chorymi bez zaburzeń wzrokowych i grupą kontrolną, wykazując wysoce prawdopodobne zanikanie komórek zwojowych w siatkówce oka na bardzo wczesnym etapie choroby, jeszcze bez widocznych zmian zapalnych w nerwie wzrokowym, typowych diagnostycznie w obrazowaniu rezonansem magnetycznym mózgu w tej chorobie.

Doktorant wykazał między badanymi grupami brak różnic w ocenianych parametrach fotoreceptorów, których do tej pory nie badano w stwardnieniu rozsianym, natomiast wykazał zgodnie z literaturą istotne różnice nie tylko w warstwie komórek zwojowych, gdzie grubość warstwy tych komórek i ich aksonów w stwardnieniu rozsianym jest istotnie i znacznie niższa niż w grupie kontrolnej, zarówno w porównaniach wszystkich pacjentów z grupą kontrolną, jak i podgrupy bez zaburzeń wzroku, ale też komórek bipolarnych, które zgodnie z literaturą tworzyły mierzalnie i istotnie grubsze warstwy u chorych. W badaniach korelacji grubości warstw neurocytów komórek zwojowych i bipolarnych w grupie kontrolnej wykazał silną i wysoce istotną pozytywną korelację, której nie ma w grupie chorych. Jest to kolejny

matematyczny dowód na to, że neuropatia aksonów komórek zwojowych w stwardnieniu rozsianym powoduje śmierć neurocytów tych komórek w siatkówce.

W swojej pracy Doktorant wskazał na reaktywne ograniczenie objętości tętniczek, zaopatrujących siatkówkę w stwardnieniu rozsianym. Jest to teoretycznie w pełni zrozumiałe, siatkówka ma własne autoregulacyjne możliwości kontrolowania przepływu krwi, praktycznie jednak po raz pierwszy udokumentowane badawczo. Jest to bardzo istotne odkrycie, ponieważ stawia pod znakiem zapytania podobne wyniki udokumentowane w jaskrze z normalnym ciśnieniem wewnątrzgałkowym. W tej jednostce chorobowej patomechanizmy jaskry nie są poznane. Podejrzewa się zaburzenia mikroprzepływu krwi. Jednakże wyniki ograniczonego przepływu w jaskrze mogą być również wtórne, bo właśnie w jaskrze również giną komórki zwojowe siatkówki, ale inaczej niż w stwardnieniu rozsianym, przez niezdefiniowany patomechanizm. Doktorant wysuwa tu ciekawą propozycję badania pacjentów z jaskrą z normalnym ciśnieniem wewnątrzgałkowym pod kątem wykluczenia stwardnienia rozsianego. Jest to kolejny dowód na otwarte i kompetentne podejście Doktoranta do badanych zagadnień i odpowiedzialność wobec pacjentów.

Doktorant nie wykrył różnic w parametrach badanych fotoreceptorów zarówno w badaniu czopków metodą rtx1 z optyka adaptacyjną, jak i przy zastosowaniu technologii OCT. Co prawda zaobserwował dyskretne zmiany ich regularności u badanych pacjentów, nie wykluczył też, że wraz z postępem choroby może dojść do ich uszkodzeń. Proponuje więc jak najszybsze wprowadzanie leczenia u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, nawet wymienia w terapiach przyszłe leczenie komórkami macierzystymi, aby zapobiec neurodegeneracji siatkówki i ubytku trzeciego neuronu przy zachowanych fotoreceptorach i komórkach bipolarnych. Poza tym Doktorant dokonał ciekawej obserwacji przedstawiając brak korelacji między liczbą czopków badanych w rtx1, a grubością warstwy czopków mierzonej w OCT, uśrednionych z pomiarów we wszystkich, ale tych samych lokalizacjach w obu oczach. Jak słusznie to uzasadnił, przy ubytku czopków grubość ich warstwy się nie zmieni w OCT, ponieważ fotoreceptory budują pojedynczą warstwę komórek w siatkówce oka. Dlatego w OCT można prawdopodobnie z ubywaniem czopków obserwować spadek jasności tej warstwy, ale nie jej grubości. Jest to ciekawa obserwacja, która może przyczynić się do rozwoju analizy obrazu w OCT. W każdym razie Doktorant słusznie wskazał na przewagę technologii rtx1 o wysokiej rozdzielczości nad OCT w badaniu warstwy fotoreceptorów w siatkówce oka.

Praca doktorska lekarza Pawła Białkowskiego jest kontynuacją jego zainteresowań naukowych. Doktorant jest współautorem pracy "How to measure retinal microperfusion in

patients with arterial hypertension" opublikowanej w 2001 roku w Blood Press 30(1):4-19 przez Szulc i in., pracy Osowickiej-Kondratowicz i in. "Specyfika pracy oraz rola logopedy w interdyscyplinarnym modelu opieki nad chorym po udarze mózgu" wydanej w 2018 w Pracach Językoznawczych XX(4): 181-196, publikacji Białkowska i in. wydanej w Sztuka Leczenia nr 1: 45–52 w 2017 roku pt. "Rola stylu życia i systemu opieki nad seniorem w procesie pomyślnego starzenia się". Jest również współautorem rozdziału "Ocena nawyków żywieniowych 2" w monografii Zdrowie. Diagnostyka, profilaktyka, bezpieczeństwo, wydanej w 2021 przez wydawnictwo Impuls.

W mojej opinii praca Doktoranta zasługuje na bardzo wysoka ocenę. Jest napisana przejrzyście, wyniki badań zostały przedstawione w sposób usystematyzowany. Wyniki tych badań mają duży potencjał kliniczny, są jednocześnie odpowiedzią na postawione w celach pracy pytania, ale też budzą szereg nowych pytań poznawczych. To był ogromny zaszczyt dla mnie móc obserwować rozwój naukowo-badawczy młodego, odpowiedzialnego i zaangażowanego w pracę w medycynie lekarza. Doktorant wykazał się samodzielnością, umiejętnością planowania i realizacji pracy na wysokim poziomie, w trakcie doktoratu poszerzył i ugruntował wiedzę, co jednoznacznie wynika z przedstawionej pracy, a także w relacji z pacjentami zachował się nienagannie i nikomu nie odmówił pomocy.

Uważam, że praca spełnia wszelkie wymogi stawiane pracom doktorskim, stąd wnoszę do Rady Dyscypliny Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko Mazurskiego w Olsztynie wniosek o dopuszczenie lekarza Pawła Białkowskiego do dalszych etapów przewodu.

Dr hab. n. med. Joanna Haraźna, prof. UWM