

Prof. zw. dr hab. n. med. Edward Wylęgała
Katedra i Oddział Kliniczny Okulistyki
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Okręgowy Szpital Kolejowy
ul. Panewnicka 65, 40 - 765 Katowice

Katowice 07.06.2022 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pod tytułem „Analiza mikrokrążenia i wybranych parametrów morfologii tarczy nerwu wzrokowego i plamki u chorych na jaskrę pierwotną otwartego kąta za pomocą angiografii optycznej koherentnej tomografii”.

Badania zostały wykonane i praca napisana przez lek. Monikę Spychałę pod kierownictwem dr hab. n. med. Michała Wilczyńskiego w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Optyczna tomografia koherentna (ang. OCT) jest techniką diagnostyczną umożliwiającą obrazowanie morfologiczno - morfometryczne przezroczystych tkanek oka. Została wynaleziona przez Jamesa Fujimoto (Boston, USA) w latach 90. ubiegłego stulecia. Od tego czasu została ulepszona poprzez wprowadzenie analizy matematycznej Fouriera (Maciej Wojtkowski, Toruń, Polska) oraz nowych źródeł światła. David Huang (Boston, USA) wprowadził do okulistyki kolejną generację tego badania z możliwością obrazowania naczyń siatkówki, bez konieczności stosowania kontrastu podawanego dożylnie. Od 2014 roku wprowadzono do zastosowania klinicznego aparaty angio-OCT. Jaskra jest postępującą neuropatią nerwu wzrokowego rozpoczynającą się od apoptozy komórek zwojowych. Nadal zbyt mało wiemy na temat patogenezy jaskry dlatego nie możemy tej choroby skutecznie leczyć. W związku z powyższym tematyka dysertacji jest niezwykle aktualna, a narzędzie pomiarowe jakim jest aparat angio-OCT innowacyjne.

Rozprawa liczy 175 stron i ma typowy układ edytorski. Praca dzieli się na: **spis treści** - trzy strony, **wstęp** napisany na czterdziestu ośmiu stronach, **założenia i cele pracy** – jedna strona, **materiał i metodyka badań** wraz z opisem zastosowanych metod statystycznych to kolejne 16 stron, **wyniki** opisane na czterdziestu czterech stronach oraz **dyskusja wyników** na dwudziestu siedmiu stronach. Kolejno pracę kończą **wnioski** (jedna strona), **piśmiennictwo** jedenaście stron, indeks skrótów cztery strony, spis tabel i rycin – dwie strony, **streszczenia** w języku polskim i angielskim - trzy strony. Praca została wykonana za

zgodą Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr RNN/283/17/KE z dnia 05.09.2017 roku. Treść pracy jest zgodna z tytułem pracy, a treść rozdziałów z ich nagłówkami. Występują prawidłowe proporcje pomiędzy poszczególnymi rozdziałami. Pracę cechuje pragmatyzm naukowy przejawiający się w logicznie układającą się kolejność następujących po sobie rozdziałów. Treść rozdziału następnego wynika z treści poprzedzającego.

Wstęp rozpoczyna się od opisu optycznej tomografii koherentnej z rysem historycznym, zasadą działania OCT, zastosowaniem w okulistyce z podziałem na przedni i tylny segment oka. Osobny podrozdział dotyczy opisu zastosowania OCT w jaskrze. Jest to spojrzenie bardzo szerokie wprowadzające w tematykę dysertacji. W rysie historycznym brakuje mi wkładu polskich uczonych w rozwój techniki OCT. Rozdział dotyczący jaskry zawiera wszystkie elementy konieczne do analizy wyników diagnostycznych. Są to definicje i klasyfikacje, patogeneza, diagnostyka ze szczególnym uwzględnieniem badań obrazowych. Doktorantka szczegółowo opisała leczenie farmakologiczne oraz chirurgiczne laserowe i klasyczne. Taka prezentacja ma duży aspekt dydaktyczny i bardzo dobrze wprowadza w tematykę dysertacji. Wstęp jest bardzo dobrze ilustrowany licznymi rycinami które ułatwiają przyswojenie napisanej treści.

Cele pracy Doktorantka przedstawiła w dwóch punktach :

1. Zbadanie możliwości zastosowania angiografii OCT u chorych na jaskrę pierwotną otwartego kąta
2. Ocena porównawcza wybranych parametrów mikrokrażenia oraz morfologii tarczy nerwu wzrokowego i plamki przy pomocy angiografii OCT u pacjentów chorujących i niechorujących na jaskrę pierwotną otwartego kąta

Przedstawiona praca ma charakter prospektywny z jasno przedstawionymi kryteriami włączenia i wyłączenia. W badaniu wzięło udział 42 pacjentów 65 oczu. W tym 31 kobiet i 11 mężczyzn. Badanych podzielono na dwie grupy: badaną (1) i porównawczą (2). Grupa 1. to dwanaście kobiet i dziewięciu mężczyzn o średniej wieku 66 lat +/- 12 lat chorujących na jaskrę otwartego kąta. Grupa 2. to zdrowi ochotnicy - 19 kobiet i dwóch mężczyzn o średnim wieku 52 lata +/- 9 lat. W obu grupach wybrano do badań prawidłowe proporcje prawych i lewych oczu. Uczestnicy badania mieli wykonane konieczne badania okulistyczne. Kluczowym badaniem jednak było wykonanie skanów Angio-OCT. Do badań użyto aparatu RTVue XR Avanti Optovue USA.

W trybie „*angioflow*” na czterech głębokościach wykonano następujące skany:

1. Skan *Vitreous* - skany ukazują naczynia na głębokości od 50 μm powyżej błony granicznej wewnętrznej (ILM) do samej ILM.
2. Skan *Optic Nerve Head* - skany ukazują naczynia na powierzchni siatkówki i nerwu wzrokowego (tętnica i żyła środkowa siatkówki i jej gałęzie), obejmujący głębokość całego obszaru ILM do 150 μm poniżej ILM.
3. Skan *Radial Peripapilar Capillaries* (RPC) - skany ukazują kapilary przy tarczy, czyli naczynia wplecione w głębokie warstwy okołotarczowych włókien nerwowych i znajdujące się bezpośrednio pod nimi. Rozciąga się między ILM a RNFL na szerokości 0,75 mm wokół tarczy nerwu wzrokowego.
4. Skan *Choroid* - skany ukazują naczynia 75 μm poniżej nabłonka barwnikowego.

Każdy ze skanów miał wymiar 4,5 x 4,5 mm, a tarcza nerwu wzrokowego była na nich umieszczona centralnie. Ryciny 13 do 15 bardzo dobrze obrazują metodykę badań. Doktorantka podaje 16 parametrów które poddała analizie w tym 12 dotyczących angio-OCT, oraz ośmiu OCT. W sumie daje to ogromną liczbę 1300 badań poddanych analizie w przedstawionej dysertacji. Obróbka danych została wykonana dzięki zastosowaniu programu Image J. **Opracowanie statystyczne** nie budzi zastrzeżeń i jest przeprowadzone wszechstronnie zawierając klasyczne opracowanie. Do analizy statystycznej danych liczbowych Doktorantka zastosowała kolejno testy. Dla oceny rozkładu analizowanych zmiennych obliczono typowe miary położenia i rozproszenia dla cech mierzalnych - średnią arytmetyczną (\bar{x}), medianę (Me) i odchylenie standardowe (SD), wartość minimalną i maksymalną. Z powodu na małą liczebność prób w dalszej analizie statystycznej stosowano testy nieparametryczne. Do testowania istotności różnic wartości średnich zmiennych ilościowych w dwóch próbach niezależnych stosowano test U Manna-Whitney'a, natomiast w celu testowania istotności różnic wartości średnich w dwóch próbach zależnych stosowano test kolejności par Wilcoxona. W celu oceny zależności między badanymi zmiennymi stosowano test korelacji Spearmana. Za istotne statystycznie uznano te różnice pomiędzy średnimi oraz te zależności pomiędzy cechami, dla których obliczona wartość testu była równa lub większa od wartości krytycznej odczytanej

z odpowiednich tablic przy właściwej liczbie stopni swobody przy prawdopodobieństwie błędu $p < 0,05$. Obliczenia wykonano dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$ przy pomocy programu Microsoft Excel z pakietem statystycznym Addinsoft XLSTAT 2008. Wartości P mniejsze od 0,05 uznano za statystycznie istotne. Doktorantka bardzo dobrze wyjaśnia liczebności grup, które dają wiarygodne wyniki badań.

Wyniki pracy są bogato ilustrowane tabelami oraz przejrzystymi wykresami z odnotowanymi danymi statystycznymi.

Ostrość wzroku pomiędzy Grupą 1. i 2. różniła się bez istotności statystycznej natomiast średnie ciśnienie wewnątrzgałkowe w Grupie 1. wynosiło 17.5 mm a w Grupie 2. 14.3 mm i były to różnice statystycznie znamienne.

Badania naczyń krwionośnych

Powierzchnia naczyń krwionośnych na tarczy nerwu wzrokowego

Średnia łączna powierzchnia naczyń krwionośnych na skanie *Vitreous* w Grupie 1. wyniosła 13181 pikseli, a w Grupie 2. wyniosła 18024 pikseli ($p < 0,05$). Średnia łączna powierzchnia naczyń krwionośnych na skanie *Optic Nerve Head* była podobna w obu grupach - w Grupie 1. wyniosła 30633 pikseli, natomiast w Grupie 2. wyniosła 30576 pikseli. Różnica ta nie była istotna statystycznie ($p > 0,05$). Średnia łączna powierzchnia naczyń krwionośnych na Skanie *Radial peripapillary capillaries* w Grupie 1. wyniosła 20118 pikseli, natomiast w Grupie 2. wyniosła 24675 pikseli. Były to różnice statystycznie znamienne ($p < 0,05$). Średnia łączna powierzchnia naczyń krwionośnych na skanie *Choroid* w Grupie 1. wyniosła 33175 pikseli, a w Grupie 2. wyniosła 35418 pikseli. Stwierdzona różnica była znamienne statystyczną.

Średnia łączna długość naczyń krwionośnych tarczy nerwu wzrokowego

Średnia łączna długość naczyń krwionośnych na skanie *Vitreous* w Grupie 1. wyniosła 6796 pikseli, a w Grupie 2. wyniosła 9699 pikseli. Różnica ta była statystycznie znamienne ($p < 0,05$).

Średnia łączna długość naczyń krwionośnych na skanie *Optic Nerve Head* w Grupie 1. wyniosła 16321 pikseli, a w grupie 2 wyniosła 16141 pikseli. Różnica ta nie była statystycznie znamienne ($p > 0,05$). Średnia łączna długość naczyń krwionośnych na skanie *Radial peripapillary capillaries* w Grupie 1. wyniosła 8880 pikseli, a w Grupie 2. wyniosła 11111 pikseli. Różnica ta była statystycznie znamienne ($p < 0,05$). Średnia łączna długość naczyń krwionośnych na skanie *Choroid* w Grupie 1. wyniosła 18244 pikseli, a w Grupie 2. wyniosła 18115 pikseli. Różnica ta nie była statystycznie znamienne ($p > 0,05$).

Gęstość naczyń krwionośnych na tarczy nerwu wzrokowego

Średnia łączna gęstość naczyń krwionośnych na skanie *Vitreous* w Grupie 1. wyniosła 0,14, natomiast w Grupie 2. wyniosła 0,20. Stwierdzono statystycznie znamienne różnicę

między badanymi grupami ($p < 0,05$). Średnia łączna gęstość naczyń krwionośnych na skanie *Optic Nerve Head* w Grupie 1. wyniosła 0,33, natomiast w Grupie 2. wyniosła 0,33.

Średnia łączna gęstość naczyń krwionośnych na skanie *Radial Peripapillary Capillaries* w Grupie 1. wyniosła 0,22, natomiast w Grupie 2. wyniosła 0,27. Stwierdzono statystycznie znamiennej różnicę między badanymi grupami ($p < 0,05$). Średnia łączna gęstość naczyń krwionośnych na skanie *Choroid* w Grupie 1. wyniosła 0,36, natomiast w Grupie 2. wyniosła 0,38. Stwierdzono statystycznie znamiennej różnicę między badanymi grupami ($p < 0,05$).

Pomiary morfometryczne tarczy nerwu wzrokowego

Pomiar średniego stosunku cup do disc c/d. wykazał w Grupie 1.- 0,69, a w Grupie 2. - 0,32 i różnica ta była statystycznie znamiennej. Średnia powierzchnia tarczy nerwu wzrokowego w Grupie 1. wynosiła 2,37 mm kwadratowych, a w Grupie 2. - 2,07 i były to różnice statystycznie znamiennej. Średnia powierzchnia pierścienia nerwowo -siatkówkowego w Grupie 1. wynosiła 0,75 milimetra kwadratowego natomiast w Grupie 2. - 1,37 milimetra kwadratowego. Różnica ta była statystycznie znamiennej. Średnia objętość zagłębienia tarczy nerwu wzrokowego w Grupie 1. wynosiła 0,59 mm sześciennego, a w Grupie 2. 0,12 milimetra sześciennego i były to różnice statystycznie znamiennej. Średnia grubość włókien nerwowych siatkówki w Grupie 1. Wynosiła 74 mikrometry, a w Grupie 2. - 103 mikrometry. Różnice były statystycznie znamiennej. Średnia grubość naczyńki w plamce w Grupie 1. wynosiła 216 mikrometrów, a w Grupie 2. - 316 mikrometrów i różnice te były statystycznie znamiennej. Średnia powierzchnia strefy beznacyniowej plamki w Grupie 1. wynosiła 3479 pikseli, a w Grupie 2. - 2977. Różnica ta nie wykazywała znamiennej statystycznej.

Ocena korelacji badanych czynników. Doktorantka przeprowadziła wieloczynnikową analizę korelacji powyższych wyników co zostało uwzględnione we wnioskach oraz w dyskusji. Są to badania pionierskie mogące być podstawą do wprowadzenia nowych algorytmów rozpoznawania i monitorowania leczenia jaskry.

Dyskusja poświęcona jest porównaniu uzyskanych wyników z doniesieniami innych autorów. Dyskusja jest dojrzała ponieważ przedstawia skrajne wyniki z piśmiennictwa umiejętnie powiązując je z własnymi obserwacjami. Dyskusja dowodzi dużej znajomości zagadnień, które opracowała Doktorantka. Cytuje Ona 140 pozycji piśmiennictwa, głównie anglojęzycznego. Rozprawa została napisana bardzo starannie, piękną polszczyzną oraz bardzo przejrzysto udokumentowana.

Wnioski

1. Istnieją istotne różnice szeregu parametrów w badaniu OCT, między pacjentami z jaskrą pierwotną otwartego kąta i osobami zdrowymi. W grupie pacjentów z jaskrą pierwotną otwartego kąta wyższe są wartości: powierzchni C/D, powierzchni tarczy n.II oraz objętość zagłębienia. W grupie pacjentów z jaskrą pierwotną otwartego kąta niższe są: średnia gęstość i powierzchnia naczyń krwionośnych na tarczy nerwu wzrokowego, średnia łączna długość naczyń krwionośnych, powierzchnia pierścienia nerwowo-siatkówkowego, grubość warstwy włókien nerwowych siatkówki RNFL, grubość kompleksu komórek zwojowych siatkówki w plamce (GCC) oraz średnia grubość naczyniówki w plamce.

2. Istnieją liczne wzajemne korelacje szeregu parametrów badania OCT oraz angiografii OCT.

3. Angiografia OCT jest bardzo użytecznym narzędziem diagnostycznym w wykrywaniu zmian w unaczynieniu tarczy nerwu wzrokowego u pacjentów z jaskrą pierwotną otwartego kąta.

Wszystkie wnioski wynikają z przedstawionych w pracy wyników badań. Wniosek pierwszy jest moim zdaniem zbyt rozbudowany w liczne informacje wynikowe.

Na podstawie oceny całości pracy stwierdzam, że lek. Monika Spychała wykazała umiejętność wyboru bardzo ciekawego i aktualnego zagadnienia naukowego. Doktorantka dobrała właściwą metodykę pracy i rzetelnie przeprowadziła badania. Wnioski pracy zredagowała jasno w oparciu o przedstawione wyniki i zgodnie z założeniami pracy. Dysertacja pt: „Analiza mikrokrążenia i wybranych parametrów morfologii tarczy nerwu wzrokowego i plamki u chorych na jaskrę pierwotną otwartego kąta za pomocą angiografii optycznej koherentnej tomografii” spełnia wszystkie kryteria wymagane ustawowo. Wnoszę zatem prośbę do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. Moniki Spychały do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W związku z wysoką wartością naukową przedstawionej do oceny dysertacji składam również wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. Moniki Spychały ponieważ:

1. Praca wyróżnia się dużą wartością poznawczą.
2. Zawiera prekursorskie badania ważnego problemu klinicznego.
3. Rokuje na publikację wyników w czasopiśmie z dużym IF.

KIEROWNIK
Katedry i Oddziału Klinicznego Okulistyki
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
prof. dr hab. n. med. Edward Wyęgała