

Recenzje naukowe
w mojej opinii

dr hab. n. med. Anna Przekoracka-Krawczyk, prof. UAM
Laboratorium Fizyki Widzenia i Optometrii
Wydział Fizyki Uniwersytet im. A. Mickiewicza
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 2, 61-614 Poznań

Kierownik
Studiów Doktoranckich
na Wydziale Lekarskim
Poznań, dnia 11.05.2022 r.
Prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska
Prodziekan
Wydziału Lekarskiego

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek.med. Przemysława Zabła
pt. „Porównanie gęstości naczyń siatkówki oraz grubości warstw siatkówki za pomocą optycznej
koherentnej tomografii u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz z jaskrą pierwotnie otwartego
kąta”.**

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska dotyczy analizy porównawczej zmian w mikrokrążeniu oraz strukturze siatkówki u osób z chorobą Alzheimera (AD), w stosunku do zmian towarzyszących jaskrze otwartego kąta.

AD jest bardzo częstym stanem otępienia, która swoje początki ma już nawet 20 lat przed wystąpieniem pierwszych objawów klinicznych. W zaawansowanym stanie prowadzi do silnych zaburzeń poznawczych, uniemożliwiających choremu samodzielne funkcjonowanie w społeczeństwie. Badania socjologiczno-psychologiczne prowadzone w ostatnich latach wykazały, że obecnie ludzie bardziej obawiają się zachorowania na chorobę Alzheimera niż na chorobę nowotworową. Wynika to z faktu braku efektywnego leczenia tej choroby, jeżeli jest ona rozpoznana w stanie objawowym, a w większości przypadków diagnoza stawiana jest na tym właśnie etapie. Obecnie opracowuje się nowatorskie leki, które podane na wczesnym etapie choroby (w fazie bezobjawowej, tzw. prodromalnej), mogą istotnie spowolnić jej postęp, utrzymując pacjenta w dość dobrym stanie nawet przez wiele lat. Dlatego tak istotna jest trafna diagnostyka, która nadal stanowi duże wyzwanie kliniczne. Bardzo ważne jest przede wszystkim poszukiwanie nowych, dostępnych i zarazem tanich metody wykrywania AD. Dotychczasowe metody diagnostyczne opierają się głównie na ocenie psychiatryczno-psychologicznej przy użyciu baterii testów poznawczych, jednakże pozwalają one wykryć chorobę głównie na poziomie objawowym. Aby wykryć chorobę we wczesnych fazach, konieczne jest stosowanie metod neuroobrazowania jak PET, lub ocenę płynu mózgowo-rdzeniowego. Badania te, jak podkreśla również Doktorant, są drogie, inwazyjne i słabo dostępne. Dlatego coraz więcej ośrodków naukowych i klinicznych poszukuje nowych, tanich i dostępnych metod wspomagających diagnostykę AD i wykrycie jej na wczesnych etapach choroby. Jedną z takich metod może być zastosowanie koherentnej tomografii oka (OCT) oraz ocena naczyń siatkówki metodą angio-OCT, które to właśnie wykorzystał w swojej pracy Doktorant. Z faktu, że nerw wzrokowy i siatkówka w fazie embriogenezy rozwijają się z międzymózgowia, można spodziewać się, że pewne zmiany zachodzące w obrębie mózgu, a zwłaszcza jego unaczynieniu,

możliwe będą do obserwacji na poziomie siatkówki. Główną przyczyną AD i jej progresji jest odkładanie się w obrębie komórek nerwowych i naczyń zewnątrzkomórkowego β -amyloidu ($A\beta$) oraz białka tau, co prowadzi do apoptozy komórek nerwowych. Badania z ostatnich lat pokazują, że u dużej części pacjentów z AD obserwuje się zmiany w grubości warstw siatkówki obserwowane w badaniu OCT. Co ciekawe, podobny mechanizm zmian degeneracyjnych komórek nerwowych siatkówki związany z odkładaniem się β -amyloidu ($A\beta$) oraz białka tau, obserwuje się również u osób chorych na jaskrę, co sugeruje wspólne podłoże obu chorób. Jednak jak dotąd nie porównywano bezpośrednio zmian w grubości warstw siatkówki i unaczynieniu siatkówki u osób z AD w stosunku do chorych na jaskrę, a praca p. Zabela jest jedną z pierwszych zgłębiających to zagadnienie. Badania te wydają się być bardzo ważne, ponieważ pozwalają lepiej różnicować te dwie choroby, a także mogą przyczynić się do opracowania nowych biomarkerów AD.

Przestawiona praca doktorska zawiera 92 strony. Stanowi ona spójny tematycznie cykl artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach posiadających punktację MNiSW (Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego), w tym art.1 ma formę pracy przeglądowej, zaś trzy pozostałe prezentują wyniki badań empirycznych przeprowadzonych przez Doktoranta. Sumaryczny współczynnik IF dla całego cyklu pracy wynosi 8.628, a łączna liczba punktów MNiSW to 350. Są to wysokie wskaźniki, dowodzące wysokiego poziomu naukowego zaprezentowanych badań, zwłaszcza praca przedstawiona w czasopiśmie *Investigative Ophthalmology & Visual Science* (140 pkt.), które w ogólnoswiatowych rankingach czasopism naukowych z zakresu okulistyki i nauk o widzeniu, mieści się w pierwszej dziesiątce (na ponad 120 wymienianych czasopism punktowanych). Rozprawa rozpoczyna się wykazem skrótów, po czym Doktorant wymienia publikacje wchodzące w skład cyklu. We wstępie wprowadza w zagadnienie choroby AD, badań obrazowania OCT oraz na podstawie zebranej dotąd literatury, jak i artykułu przeglądowego (art.1) uzasadnia podjęcie tematu badań. W kolejnych częściach przedstawia cele pracy i prezentuje wyniki badań pod postacią kserokopii wydanych trzech oryginalnych publikacji naukowych. W podsumowaniu, na ośmiu stronach Autor opisuje założenia, metodykę oraz najważniejsze wyniki każdej z publikacji. Całość zakończona jest wnioskami oraz oświadczeniami współautorstwa prac. Na końcu rozprawy umieszczone jest streszczenie w języku polskim i angielskim.

W pierwszym przeglądowym artykule pt. *Diagnosis of Alzheimer's Disease by Assessing Structural and Microvasculature Changes in the Retina Using Optical Coherence Tomography Angiography – a Review of Eye Biomarkers for Alzheimer's Disease.*, Doktorant przedstawił aktualny stan wiedzy na temat patofizjologii w AD, w dużej mierze skupiając się na zmianach w obrębie narządu wzroku zobrazowanych za pomocą OCT. Szeroki przegląd literatury naukowej stanowiący ponad 100 pozycji, świadczy o głębokiej wiedzy Doktoranta w tym zakresie. P. Zabel wykazał duże podobieństwo zmian zachodzących w obrębie siatkówki w oczach osób z AD oraz z jaskrą

pierwotnie otwartego kąta (POAG). W kolejnych publikacjach dokonano bezpośrednich porównań tych zmian u chorych na AD oraz POAG.

W artykule 2 pt. *Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer's disease: a comparison of eyes of patients with Alzheimer's disease, primary open-angle glaucoma, and preperimetric glaucoma and healthy controls*, oceniono grubość okołotarczowej warstwy włókien nerwowych siatkówki u osób z AD, jaskrą pierwotnie otwartego kąta (POAG), jaskrą preperymetryczną (PPG) i porównano je z wynikami uzyskanymi u osób zdrowych (HC) dobranych wiekowo. Każda z badanych grup zawierała 30 uczestników, co pozwoliło na rzetelne analizy statystyczne. Tak jak można było się spodziewać największe uszkodzenia w obrębie warstwy pRNFL zaobserwowano u pacjentów z jaskrą otwartego kąta, jednak również w dwóch pozostałych badanych grupach, czyli w AD oraz PPG stwierdzono istotnie mniejszą grubość tej warstwy w różnych sektorach w stosunku do grupy kontrolnej. Co istotne, nie zaobserwowano istotnych różnic w grubościach pRNFL pomiędzy oczami z AD, a oczami z jaskrą preperymetryczną, co sugeruje podobne zmiany neurodegeneracyjne na poziomie siatkówki u osób z AD, i u pacjentów z początkowym stanem jaskry. Jak Doktorant słusznie zauważył, podobieństwo to nie pozwala zróżnicować początkowego stanu jaskry od zmian zachodzących w efekcie choroby AD, ale może stanowić dodatkowy marker diagnostyczny. Co istotne, wyniki te sugerują również, że u części z pacjentów z rozpoznaną jaskrą preperymetryczną, przyczyną zmian w obrębie tarczy n. li może być początek lub niezdiagnozowana choroba demencyjna, a nie typowa jaskra. Jest to bardzo ważna obserwacja, którą powinno się rozpowszechniać nie tylko na forum naukowym, ale również wśród klinicystów.

Przyglądając się analizom statystycznym, mam pewne uwagi i sugestie, które Doktorant mógłby wyjaśnić w czasie obrony. Jak można wyczytać w art. 2 oraz jego opisie, analizie statystycznej poddano jedno oko wybrane losowo. Interesującym byłoby porównanie wyników również z drugiego oka. Oczywiście pod względem statystycznym i przy niezachowanym rozkładzie normalnym danych, dla części porównań konieczne było użycie testów nieparametrycznych i dlatego zapewne analizowano tylko jedno oko każdego uczestnika. Z opisów statystycznych nie da się jednoznacznie ocenić, które z danych miały rozkład normalny. W tekście wspomniane są testy parametryczne i nieparametryczne, a w opisie tabel podane są nazwy testów parametrycznych, więc trudno na tej podstawie ustalić, które parametry miały rozkład normalny i można by dla nich wykonać analizę wariancji z dodatkowym czynnikiem jakim byłoby oko. Wiadome jest, że w jaskrze zwykle pojawia się asymetria w wyglądzie tarczy n. wzrokowego i jedno z oczu charakteryzuje się większymi zmianami niż drugie. W związku z powyższym ustalając analizę na jednym przypadkowym oku, u części mogło być to oko z większymi zmianami, a u innych z mniejszymi. Interesujące byłoby porównanie osobno wyników pomiędzy grupami (zwłaszcza jeśli chodzi o



porównanie grupy PPG z HC) oka lepszego w stosunku do oka gorszego (pod względem wyglądu tarczy i zmian w grubości warstw siatkówki). Takie porównanie grubości warstwy pRNFL pomiędzy oczyma dla danego badanego mogłoby się okazać pomocne w różnicowaniu grup. Możliwe, że Autorzy dokonali tego typu porównań lub porównali oczy ze sobą i nie zaobserwowali istotnych różnic, lecz na podstawie opisów z publikacji nie da się tego wywnioskować. Wskazane byłoby, aby Doktorant w czasie obrony odniósł się do tego typu porównań i skomentował takie analizy.

W artykule 3, pt. „*Comparison of retinal microvasculature in patients with Alzheimer’s disease and primary open-angle glaucoma by optical coherence tomography angiography*” oceniono sieć unaczynienia siatkówki przy pomocy aparatu angio-OCT (OCTA) u osób chorych na AD, u pacjentów z jaskrą pierwotnie otwartego kąta (POAG), a dane ponownie porównano z osobami zdrowymi w podobnym wieku (HC). Podobnie jak w badaniu przedstawionym w art.2, grubość pRNFL u osób z AD oraz z POAG była istotnie mniejsza niż w grupie kontrolnej. Wykazano, że u pacjentów z AD gęstość naczyń w głębokim splocie naczyniowym (DVP) była mniejsza, a wielkość dołkowej strefy awaskularnej większa niż u osób z POAG czy HC. Natomiast osoby z POAG charakteryzowały się zmianami w unaczynieniu głównie powierzchniowego spłotu naczyniowego, co odróżnia chorobę AD od jaskry. Wyniki tych badań są bardzo obiecujące, ponieważ mogą faktycznie sugerować poszukiwanie zmian charakterystycznych dla AD na poziomie zmian w mikrokrążeniu siatkówki. Podobne badania nad AD robił Lahme i wsp. (o czym Autorzy piszą w art. 3), jednak nie znalazł on korelacji pomiędzy gęstością naczyń siatkówki, czy wielkością FAZ a poziomem białka tau, czy β -amyloidu, a istotne zmiany w unaczynieniu znaleziono tam głównie w warstwie powierzchniowej. Różnice w uzyskanych pomiarach mogą wynikać z nieco innej metodyki pomiarowej, co zauważył Doktorant, ale również z zaawansowania choroby osób z AD. W pracy Lahme et al. badano głównie osoby w łagodnym stanie choroby, a w art.3 opisana grupa badana osiągała punktację w teście MMSE między 10 a 23, co odpowiada łagodnemu i średniemu otępieniu. W analizie Doktorant nie dzieli jednak pacjentów wg stanu zaawansowania choroby. Bardzo ciekawe byłoby dowiedzieć się, czy Autorzy robili również analizy z podziałem na poziom zaawansowania choroby (traktując zakres punktów 19-23 jako łagodna faza choroby, a 18-10 jako średnie/umiarkowane stadium). Możliwe, że zmiany w poziomie unaczynienia korelują ze stanem zaawansowania choroby.

W badaniach opisanych artykule 4, pt. „*Quantitative assessment of retinal thickness and vessel density using optical coherence tomography angiography in patients with Alzheimer’s disease and glaucoma*”, celem było porównanie gęstości naczyń siatkówki z grubością wewnętrznych i zewnętrznych warstw siatkówki w obrębie plamki, u osób z chorobą AD, POAG oraz osób zdrowych (HC). Do badań wykorzystano ponownie aparaturę OCT i OCTA. Zaprezentowana tu bardzo szczegółowa analiza potwierdziła wcześniejsze obserwacje o zmianach sieci unaczynienia w

głębokich spłotach naczyniowych w chorobie AD, czemu towarzyszyło ścięczenie zewnętrznych warstw siatkówki (ORL). Odmienne obserwacje uzyskano w oczach osób z jaskrą, w których dochodzi do zmian przede wszystkim w powierzchniowych spłotach naczyniowych oraz siatkówce wewnętrznej (IOL). Badania te wykazały, że znacznie bardziej wartościowym wskaźnikiem zmian typowych dla choroby AD, różnicujących ją od POAG jest grubość warstw siatkówki i jej unaczynienie, niż grubość warstwy pRNFL.

Doktorant jasno określił cele poszczególnych badań opisanych w osobnych artykułach (art. 2-4), przeprowadził poprawne analizy danych oraz wysunął stosowne wnioski. Poziom naukowy zaprezentowanych badań jest bardzo wysoki, jednak w czasie pisania Autorowi nie udało się również uniknąć pewnych drobnych stylistycznych czy formalnych błędów. Przykładowo, w Podsumowaniu do art. 4 na stronie 62 podaje, że badane były osoby z AD o łagodnym i umiarkowanym nasileniu otępienia (10-23 pkt. w skali MMSE), zaś w art. 4 w Tabeli 1 podany jest zakres 18.5 do 24.5, co oznacza łagodny, ale nie umiarkowany stan otępienia. Doktorant na str. 7 podaje, że praca ma formę zbioru 4 artykułów opublikowanych, a czasopismach naukowych wymienionych w części A listy czasopism punktowanych MNiSW. Gdy jeszcze dzielono czasopisma na listę A i B, to Klinika Oczna była na liście B. Jednak od kilku lat podział ten nie istnieje, zatem podane listy A nie było konieczne. Ponadto, każda z zaprezentowanych publikacji jest wieloautorska. W przypadku badań interdyscyplinarnych ten fakt jest oczywisty, jednak zwykle wymagane jest przedstawienie oświadczeń wszystkich współautorów pracy, a nie tylko ich części. Sumując wszystkich współautorów było ich 13, a dostarczono oświadczenia tylko 6 z nich. Możliwe, że wkład pozostałych 7 współautorów był minimalny i ograniczał się jedynie do zadań technicznych, jednak warto było poprosić ich o dostarczenie oświadczeń, lub Doktorant sam powinien oświadczyć o ich wkładzie, aby nie budzić żadnych wątpliwości co do głównego wkładu Doktoranta w powstanie każdej z publikacji. Powyższe uwagi mają charakter formalny i nie wpływają na wysoki poziom naukowy zaprezentowanej rozprawy.

Podsumowując, przedstawione w niniejszej rozprawie badania mają bardzo duże znacznie naukowe i kliniczne, które oceniam bardzo wysoko. Wszystkie procedury zostały przygotowane i przeprowadzone bardzo rzetelnie, a analizy statystyczne zostały prawidłowo wykonane. Liczba uczestników w każdym z badań była dość wysoka pomimo, że nie jest łatwe zorganizowanie tak homogenicznych grup badanych, zwłaszcza wśród chorych na demencję. Cele pracy zostały jasno sformułowane, a wnioski odpowiednio wysunięte. Praca ma charakter w dużej mierze nowatorski i zarazem interdyscyplinarny, poruszając bardzo ważny temat zarówno z punktu widzenia okulistyki jak i neurologii oraz psychiatrii. Pomimo, że praca ma charakter interdyscyplinarny i wymagała zdobycia szerokiej wiedzy z obszarów innych niż okulistyka, widać, że Doktorant bardzo swobodnie porusza się w omawianych tematach. Praca stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego,



a sposób zaprezentowania badań świadczy o szerokim zakresie wiedzy w dyscyplinie nauki medyczne oraz potwierdza przygotowanie Doktoranta do dalszej samodzielnej pracy naukowej.

Rozprawa Pana Przemysław Zabła pt. „Porównanie gęstości naczyń siatkówki oraz grubości warstw siatkówki za pomocą optycznej koherentnej tomografii u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz z jaskrą pierwotnie otwartego kąta” spełnia warunki określne w art. 187.1. ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce), w związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie lek. Przemysław Zabła do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim. Jednocześnie, ze względu na wysoki walor naukowy zaprezentowanych badań, wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Przekazanie - Krewany k

Podpis