

Dr hab. n. med. Joanna Wierzbowska, prof. WIM

Klinika Okulistyki

Centralny Szpital Kliniczny Ministerstwa Obrony Narodowej

Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. Przemysława A. Zabła

„Porównanie gęstości naczyń siatkówki oraz grubości warstw siatkówki za pomocą optycznej koherentnej tomografii u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz z jaskrą pierwotnie otwartego kąta” – cykl publikacji monotematycznych

W świetle współczesnych poglądów neuropatia jaskrowa jest chorobą neurodegeneracyjną, mającą związek z zaburzeniami biomechaniki tarczy nerwu wzrokowego, czynnikami genetycznymi, zaburzeniami naczyniowymi oraz czynnikami immunologicznymi. U chorych z jaskrą wykazano typowe dla chorób neurodegeneracyjnych występowanie nieprawidłowego białka tau at8 i beta-amyloidu. Gupta i wsp. w 2006 r. po raz pierwszy potwierdzili u ludzi z jaskrą degenerację neuronów przekaźnikowych ciała kolankowatego bocznego i kory wzrokowej. Badania ostatnich lat z wykorzystaniem techniki wielomodalnego rezonansu magnetycznego mózgu i spektralnej optycznej koherentnej tomografii siatkówki wykazały związek między zanikiem warstw wewnętrznych siatkówki a obniżoną aktywnością pierwotnej kory wzrokowej. Procesy neurodegeneracji w jaskrze są złożone i nie do końca poznane. Mogą w niej uczestniczyć takie mechanizmy, jak: niedobór neurotrofin, toksyczność glutaminianu, dysfunkcja mitochondriów, niedotlenienie, stres oksydacyjny, aktywacja gleju, neuroinfekcja i czynniki genetyczne.

Choroba Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease*, AD) jest chorobą neurodegeneracyjną, związaną z stopniowym odkładaniem się w mózgu patologicznych białek, głównie beta-amyloidu i białka tau, co prowadzi do śmierci komórek nerwowych. Molekularne podstawy neurodegeneracji w AD obejmują m.in. apoptozę, stres oksydacyjny i neuroinfekcję. Choroba Alzheimera jest najczęstszą przyczyną otępienia u osób po 65. roku życia i w Europie dotyka ponad 5% osób w tej grupie wiekowej. Wspólnymi mianownikami AD i neuropatii jaskrowej są mechanizm śmierci komórki nerwowej na drodze apoptozy i podstępny wieloletni przebieg procesu neurodegeneracyjnego przed ujawnieniem się objawów klinicznych. Od dwóch dekad

trwa dyskusja na temat wspólnych dla tych schorzeń czynników ryzyka i mediatorów odpowiedzialnych za ich powstanie i rozwój.

Pomimo ogromnego postępu medycyny jaskra i AD są nadal nieuleczalne. U wielu chorych z jaskrą wcześniej postawione rozpoznanie i włączenie odpowiedniego leczenia obniżającego ciśnienie wewnątrzgałkowe, pozwalają kontrolować przebieg neuropatii i zachować użyteczne widzenie. Dlatego szczególne znaczenie mają badania strukturalne siatkówki i nerwu wzrokowego, z wykorzystaniem optycznej koherentnej tomografii (ang. optical coherent tomography, OCT), które pozwalają wykryć zanik tkanki nerwowej nawet kilka lat przed wystąpieniem zmian w polu widzenia.

U chorych z jaskrą występuje obniżony oczny przepływ krwi, choć wciąż nie wyjaśniono, czy jest on następstwem zaniku tkanki nerwowej i gleju, czy też sam jest pierwotną przyczyną neuropatii. Brak jest pojedynczej metody diagnostycznej umożliwiającej pomiar wszystkich istotnych dla jaskry łożysk naczyń w oku. Najnowocześniejszą techniką pozwalającą na szybką, powtarzalną i nieinwazyjną ocenę mikrokrażenia ocznego jest angiografia optycznej koherentnej tomografii (ang. *optical coherent tomography angiography*, OCTA), która opiera się na wykorzystaniu czerwonych krwinek jako naturalnego środka kontrastowego do tworzenia trójwymiarowych obrazów sieci mikronaczyniowych.

Aktualnie diagnostyka AD opiera się głównie na ocenie zaburzeń funkcji poznawczych i rzadziej, wykonaniu badań neuroobrazowych; od lat poszukuje się nowych, nieinwazyjnych i tanich biomarkerów, mogących stać się dodatkowym klasyfikatorem tego schorzenia, przydatnym także w jego monitorowaniu.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa naukowa na stopień doktora nauk medycznych lek. Przemysława A. 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” zawiera ocenę porównawczą zmian strukturalnych, mierzonych za pomocą domeny spektralnej OCT (SD-OCT) oraz mikrokrażenia siatkówki, mierzonych za pomocą OCTA, u pacjentów z AD oraz z jaskrą pierwotnie otwartego kąta (ang. *primary open angle glaucoma*, POAG).

Już na wstępie pragnę podkreślić, że dysertacja lek. Przemysława A. Zabła jest opracowaniem nowatorskim a obserwacja porównawcza materiału badawczego została przeprowadzona w ośrodku klinicznym uczelni, która dzięki osiągnięciom zespołu Profesora Andrzeja Kowalczyka i Profesora Macieja Wojtkowskiego, współpracującego z zespołem

Profesora Józefa Kałużnego miała potężny wpływ na powstanie i rozwój techniki spektralnej OCT na świecie.

Na rozprawę doktorską lek. Przemysława A. Zabła składa się cykl czterech publikacji, obejmujących jedno zagadnienie naukowe, ujęty w sposób systematyczny i wzajemnie się uzupełniający oraz pozwalający na traktowanie ich jako jednej pracy naukowej.

Pracę do recenzji przedstawiono w formie oprawionego, zwarteo wydania, liczącego 92 strony i obejmującego omówienie dysertacji oraz opublikowane prace, ponadto wykaz skrótów, notę informacyjną i wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, oświadczenia autorów o udziale w publikacjach oraz streszczenia w jęz. polskim i angielskim.

Przedmiotem analizy jest cykl czterech publikacji anglojęzycznych, w których Doktorant jest pierwszym autorem - artykułu przeglądowego, opublikowanego w czasopiśmie polskim z listy MNiSW w 2020 r. i trzech prac oryginalnych, opublikowanych w czasopismach ze współczynnikiem oddziaływania *Impact Factor* w latach 2019-2021:

1. Przemysław Zabel, Jakub J. Kałużny, Katarzyna Zabel, Martyna Gębska-Tołoczko, Klaudia Ołownia, Monika Wiłkość-Dębczyńska. *Diagnosis of Alzheimer's Disease by Assessing Structural and Microvascular Changes in the Retina Using Optical Coherence Tomography Angiography*. *Klinika Oczna/Acta Ophthalmologica Polonica* 2020;121(4): 238-246.
2. Przemysław Zabel, Jakub J. Kałużny, Monika Wiłkość-Dębczyńska, Martyna Gębska-Tołoczko, Karolina Suwała, Robert Kucharski, Aleksander Araszkiwicz. *Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer's disease: a comparison of eyes with Alzheimer's disease, primary open-angle glaucoma, and preperimetric glaucoma and healthy controls*. *Medical Science Monitor: international medical journal of experimental and clinical research* 2019;25,1001.
3. Przemysław Zabel, Jakub J. Kałużny, Monika Wiłkość-Dębczyńska, Martyna Gębska-Tołoczko, Karolina Suwała, Katarzyna Zabel, Robert Kucharski, Aleksander Araszkiwicz. *Comparison of retinal microvasculature in patients with Alzheimer's disease and primary open-angle glaucoma by optical coherence tomography angiography*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2019;60(10):3447-3455.
4. Przemysław Zabel, Jakub J. Kałużny, Katarzyna Zabel, Martyna Kałużna, Aleksander Lamkowski, Damian Jaworski, Jarosław Makowski, Martyna Gębska-Tołoczko, Robert Kucharski. *Quantitative assessment of retinal thickness and vessel density using optical coherence tomography angiography in patients with Alzheimer's disease and glaucoma*. *PLoS One* 2021;16(3):e0248284.

Łączny współczynnik IF cyklu wynosi 8,628, zaś łączna liczba punktów MNiSW to 350. Na podkreślenie i uznanie zasługuje wysoki łączny współczynnik oddziaływania, związany z

publikacjami dwóch prac w należących do najbardziej prestiżowych międzynarodowych czasopism okulistycznych (IOVS) i interdyscyplinarnych (PLoS One).

We **wstępie**, liczącym 4 strony, Doktorant przedstawił podstawy patogenezы AD i jaskry oraz podsumował stan wiedzy dotyczący zastosowania technik OCT i OCTA w diagnostyce tych schorzeń. Jednocześnie podkreślił, że badania porównujące obie choroby neurodegeneracyjne pod względem unaczynienia siatkówki z wykorzystaniem OCTA, nie były dotychczas przeprowadzone i fakt ten był impulsem naukowym do podjęcia badań własnych.

Tematyka przydatności OCT i OCTA u pacjentów z AD była poruszana w pracy przeglądowej Doktoranta, składającej się na pierwszą w cyklu prac, zatytułowanej „*Diagnosis of Alzheimer’s Disease by Assessing Structural and Microvascular Changes in the Retina Using Optical Coherence Tomography Angiography*”. Autorzy tej pracy podkreślili, że połączenie oceny ilościowej warstw siatkówki z oceną mikrokążenia w poszczególnych splotach siatkówki z wykorzystaniem OCTA może potencjalnie zwiększać zdolność diagnostyczną AD.

Założenia i cele pracy zostały właściwe i precyzyjne sformułowane w trzech punktach.

Za **cele pracy** przyjęto:

1. Porównawczą analizę grubości poszczególnych warstw siatkówki w biegunie tylnym gałki ocznej u pacjentów z AD oraz POAG z pomocą OCT.
2. Ilościową ocenę gęstości oraz jakościową analizę mikronaczyń siatkówki u pacjentów z AD oraz POAG za pomocą OCTA.
3. Bezpośrednią ewaluację procentowej utraty gęstości naczyń siatkówki oraz grubości wewnętrznych i zewnętrznych warstw siatkówki w tych samych obszarach plamki u pacjentów z AD i POAG.

Cele 1, 2 i 3 były przedmiotem 2, 3 i 4 publikacji cyklu.

Otrzymane wyniki zostały przedstawione w sposób czytelny i staranny w liczącym 8 stron **Podsumowaniu**.

Do badania będącego przedmiotem publikacji nr 2 cyklu, zatytułowanej „*Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer’s disease: a comparison of eyes with Alzheimer’s disease, primary open-angle glaucoma, and preperimetric glaucoma and healthy controls*”, włączono po 30 osób z AD, POAG i z jaskrą preperymetryczną oraz 30 osób zdrowych. Wykazano istotnie najmniejszą okołotarczową grubość warstwy włókien nerwowych siatkówki (pRNFL) wśród pacjentów z POAG w porównaniu z pozostałymi grupami badanymi i grupą zdrowych. Średnia grubość pRNFL u

pacjentów z AD była statystycznie niższa w porównaniu z grupą zdrowych i istotnie wyższa niż u pacjentów z POAG, natomiast nie różniła się w porównaniu z oczami pacjentów z jaskrą preperymetryczną.

Do badania będącego przedmiotem publikacji nr 3 cyklu, zatytułowanego „*Comparison of retinal microvasculature in patients with Alzheimer's disease and primary open-angle glaucoma by optical coherence tomography angiography*”, włączono po 27 osób z AD, POAG i zdrowych a ocenie poddano oko, w którym uzyskano lepszą jakość angiogramu. Wykazano istotnie mniejszą gęstość naczyń w głębokim splocie naczyniowym siatkówki (DVP) i większą powierzchnię dołkowej strefy beznaczyniowej FAZ w oczach pacjentów z AD w porównaniu z oczami pacjentów z POAG i w grupie oczu zdrowych. Autorzy nie stwierdzili istotnych korelacji pomiędzy stopniem zaburzeń poznawczych (demencji) mierzonych za pomocą testu MMSE a gęstością naczyń w SVP i DVP i obszarze FAZ u pacjentów z AD. Wykazano, że najczulszymi klasyfikatorami OCTA, dyskryminującymi chorych z AD i chorych z jaskrą są: średnia gęstość radialnych okołotarczowych kapilar (AUROC pRPC 0,96) oraz średnia całkowita gęstość spłotu powierzchniowego (AUROC SVP 0,92). Autorzy podkreślili, iż pomimo, że w obu chorobach neurodegeneracyjnych stwierdza się zaburzenia gęstości mikrokrazenia siatkówki, to dotyczą one różnych spłotów – powierzchniowego (SVP) u chorych z jaskrą i głębokiego (DVP) u chorych z AD, co może świadczyć o innej etiopatogenezie powstawania tych chorób.

W czwartej z recenzowanej prac, zatytułowanej „*Quantitative assessment of retinal thickness and vessel density using optical coherence tomography angiography in patients with Alzheimer's disease and glaucoma*” analizie porównawczej poddano 49 oczu 31 chorych z AD, 71 oczu 46 pacjentów z POAG i 48 oczu 31 osób zdrowych. Doktorant i Współautorzy wykazali, że pacjenci z AD prezentowali statystycznie większą utratę gęstości naczyń w głębokim splocie naczyniowym siatkówki (DVP) oraz grubości warstw zewnętrznych siatkówki (ORL) w porównaniu do pacjentów z POAG, u których stwierdzono istotnie większą procentową utratę gęstości naczyń w powierzchniowym splocie naczyniowym (SVP) oraz grubości warstw wewnętrznych (IRL) w porównaniu od pozostałych grup. Jednocześnie w analizach wielomianowych ocenie poddano związek między obecnością danej choroby neurodegeneracyjnej – AD lub POAG a ilościowymi zmianami strukturalnymi w obrazach OCT i OCTA. Wykazano, że 1% spadek grubości ORL wiązał się z 24-29% wzrostem prawdopodobieństwa wystąpienia AD, zaś 1% spadek gęstości naczyń w DVP – z 4-9% wzrostem ryzyka wystąpienia AD. Autorzy podsumowali, że analiza zewnętrznych warstw

siatkówki i gęstości naczyń w splocie głębokim może potencjalnie poprawić możliwości diagnostyczne i stanowić cenne podejście w przewidywaniu rozwoju AD.

Do analizy uzyskanych wyników w publikacjach nr 2, 3 i 4 zastosowano adekwatne testy statystyczne. Wyniki tych prac zostały szczegółowo ilustrowane w 11 tabelach i 8 rycinach.

Omówienie wyników w publikacjach jest dogłębne, zawiera rzeczową i dojrzałą interpretację wyników badań własnych, popartą cytowaniami z opracowań innych autorów. Na szczególne uznanie, zdaniem Recenzenta zasługują publikacje nr 3 i nr 4 cyklu, w których omówieniu Doktorant i Współautorzy, w oparciu o wyniki własne, przeprowadzili dojrzałą dyskusję naukową nad hipotetycznymi sekwencjami utraty tkanki nerwowej i naczyniowej w jaskrze oraz chorobie Alzheimerera.

W omówieniu cyklu, wyniki publikacji oryginalnych nr 2, 3 i 4 zostały podsumowane dziewięcioma, prawidłowo sformułowanymi **wnioskami**.

W recenzowanym cyklu publikacji wykorzystano łącznie 274 pozycji **piśmiennictwa**, w tym 2 autocytowania. Dobór literatury jest właściwy, treść cytowanych prac odpowiada omawianym zagadnieniom.

Przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską oceniam z najwyższą notą. Poziom naukowy złożonych publikacji jest bardzo wysoki. Cykl publikacji naukowych stanowi spójne i przemyślane zestawienie prac o bardzo dużej wartości poznawczej i praktycznej. Także zawarte w dysertacji omówienie jest zwięzłym, bardzo dobrze napisanym opracowaniem. Na uznanie zasługuje wybór bardzo ciekawego i aktualnego zagadnienia naukowego oraz nowoczesnej metodologii badań. Rozprawa doktorska lek. Przemysława A. Zabła jest opracowaniem nowatorskim i wnosi nowe wartości do wiedzy o chorobach neurodegeneracyjnych. Dowodzi sprawności i umiejętności Doktoranta w prowadzeniu badań naukowych.

Podsumowując, stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. Przemysława A. Zabła pt. „Porównanie gęstości naczyń siatkówki oraz grubości warstw siatkówki za pomocą optycznej koherentnej tomografii u pacjentów z chorobą Alzheimerera oraz z jaskrą pierwotnie otwartego kąta” spełnia wszystkie kryteria wymagane ustawowo.

Mam zaszczyt przedstawić Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy wniosek o dopuszczenie lek. Przemysława A. Zabła do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, ze względu na oryginalne i nowatorskie walory pracy, bardzo wysoką wartość merytoryczną oraz praktyczne aplikacje kliniczne wnoszę o jej wyróżnienie.

dr hab. n. med. prof. nadzw.
JOANNA WIERZBOWSKA
specjalista chorób oczu
5624948