

Prof. dr hab. n. med.

Szczecin, 04.11.2021 r.

Danuta Karczewicz

II Katedra i Klinika Okulistyki PUM w Szczecinie

**Recenzja rozprawy doktorskiej lek. med. Darii Iwony Kęcik
pt.: „Badanie eksperymentalne nad potencjalnym zastosowaniem
promieniowania elektromagnetycznego
w zakresie podczerwieni w chirurgii jaskry”.**

Jaskra jest chorobą, która nieleczona prowadzi do stopniowej utraty wzroku. Wg danych opracowanych przez Światową Organizację Zdrowia zajmuje drugie miejsce wśród przyczyn ślepoty w skali świata. Każdego roku z powodu jaskry traci wzrok około 2,5 mln ludzi. Choroba ta znana jest od czasów starożytnych ale nadal stanowi duży problem terapeutyczny. W leczeniu jaskry stosowane jest leczenie farmakologiczne, chirurgiczne i laserowe, które stosowane jest coraz częściej. Jak dotąd nie wynaleziono skutecznego leczenia, dlatego ciągle poszukuje się nowych technik operacyjnych. Mimo, że lasery stosowane są w leczeniu jaskry od lat sześćdziesiątych ubiegłego stulecia, cały czas prowadzone są badania nad zastosowaniem nowych technik laserowych. Duże nadzieje pokładane są w laserach emitujących promieniowanie w zakresie podczerwieni. W piśmiennictwie okulistycznym polskim brak jest prac dotyczących tego zagadnienia. Dlatego też, temat podjęty przez Doktorantkę dotyczący badań eksperymentalnych nad potencjalnym zastosowaniem promieniowania elektromagnetycznego w zakresie podczerwieni w chirurgii jaskry jest bardzo aktualny, potrzebny, a wyniki badań będą miały duże znaczenie z punktu widzenia poznawczego i praktycznego.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska zawiera 140 strony wydruku komputerowego, jest zilustrowana 14 tabelami i 48 rycinami. Tabele i ryciny są czytelne, dobrze uzupełniają i dokumentują jej treść. Doktorantka w pracy powołuje się na 79 pozycje piśmiennictwa, w tym 60 autorów zagranicznych. Jest ono właściwie dobrane i cytowane. Układ pracy jest typowy, składa się z 7 rozdziałów w układzie klasycznym. W pierwszej części wstępu, który liczy 54 strony Autorka przedstawia ogólną charakterystykę laserów, podstawowe informacje dotyczące fizyki laserów, właściwości światła laserowego. Omawia podział laserów w zależności od rodzaju ośrodka aktywnego, od sposobu modulacji pracy, sposobu wzbudzania akcji laserowej, emitowanej mocy i emitowanej długości fali. Następnie przedstawiła zasady działania lasera erbowego i lasera CO₂ (emitujących promieniowanie z zakresu podczerwieni), które zastosowała do swoich badań. Omówiła też bardzo ważny temat dotyczący wpływu promieniowania elektromagnetycznego na tkanki, którego zakres oddziaływania zależy od długości fali oraz od parametrów optycznych ośrodka. Swoje wywody udokumentowała 10 rycinami, które bardzo dobrze uzupełniają treść. W następnym rozdziale wstępu Doktorantka omawia wybrane zagadnienia z anatomii i fizjologii oka - anatomie ciała rzęskowego, produkcję, krążenie i drogi odpływu cieczy wodnistej. Ostatnia część wstępu poświęcona jest jaskrze. Autorka podaje klasyfikację jaskry w oparciu o mechanizm utrudnienia odpływu cieczy wodnistej,

wieku wystąpienia choroby oraz w oparciu o mechanizm jej powstania. Koniec tej części to przegląd chirurgicznych metod leczenia jaskry. Z uwagi na dużą liczbę metod operacyjnych Autorka omawia wybrane operacje na twardówce, zabiegi laserowe oraz zabiegi chirurgiczne wspomagane techniką laserową.

Wszystkie zagadnienia przedstawione są w sposób wyczerpujący i zrozumiały, oparte na najnowszym piśmiennictwie. Ta część pracy świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki do podjętego tematu. Jest także doskonałym wprowadzeniem do celów pracy.

Celem badań Doktorantki było porównanie oddziaływań lasera erbowego i CO₂ pod kątem ich zastosowania w chirurgii jaskry w modelu eksperymentalnym.

Celami szczegółowymi były:

- ocena oddziaływania promieniowania obu laserów na żelatynę w środowisku powietrza,
- ocena oddziaływania promieniowania obu laserów na żelatynę w środowisku wodnym,
- ocena i porównanie makroskopowe ognisk uzyskiwanych promieniowaniem obu laserów w tkankach enukleowanych gałek świńskich (twardówce i rogówce),
- ocena i porównanie mikroskopowe ognisk uzyskanych promieniowaniem obu laserów w tkankach enukleowanych gałek świńskich (twardówce i rogówce).

Badanie przeprowadzono na bloczkach żelatyny i enukleowanych gałkach świńskich. Badanie na bloczkach żelatyny wykonano na specjalnie do tego celu zbudowanym stanowisku badawczym z kamerą X-PRI firmy AOS pozwalającą na wykonanie do 1000 klatek na sekundę. Do oceny dynamiki drażenia wykorzystano program komputerowy wykonany według założeń własnych przez firmę MEDI-COM. Obserwację wzrokową prowadzono przy zastosowaniu lampy szczelinowej. Badania przeprowadzono w środowisku powietrza oraz w środowisku wodnym pokrywając bloczki żelatyny solą fizjologiczną. Bloczki poddano promieniowaniu lasera Er: YAG swobodnej generacji (200µs) oraz lasera CO₂.

Badania na modelu tkankowym przeprowadzono na twardówkach i rogówkach enukleowanych gałek świńskich, które poddano działaniu promieniowania laserów w dniu pozyskania gałek. Każda gałka została poddana tylko jednemu rodzajowi oddziaływania laserowego. Ocenę makroskopową przeprowadzono w lampie szczelinowej, ocenę mikroskopową po utrwaleniu gałek ocznych w zbuforowanym formaldehydzie i po barwieniu hematoksyliną i eozyną oraz barwieniu według Massona.

Ocenie histologicznej poddano 40 gałek ocznych. Przy zastosowaniu lasera CO₂ wykonano dwie ekspozycje na rogówkę i cztery na twardówkę, a przy zastosowaniu lasera erbowego, ze względu na mniejszy makroskopowo rozmiar ogniska w tkance dwie i siedem ekspozycji na rogówkę oraz pięć i dziesięć na twardówkę. Gałki były przekazywane do badań histologicznych w zaślepionych grupach, tak, aby sposób numeracji grup nie sugerował zastosowanej energii, liczby ekspozycji i rodzaju użytego lasera. W badaniu histologicznym oceniano kształt obszaru ablacji tkanki, zakres ewentualnych zmian w makroskopowo niezmienionej tkance wokół obszaru ablacji oraz charakter ewentualnych zmian

tkankowych. Szczegółowy opis preparatów histologicznych dokonano dla każdej gałki po uwzględnieniu zmian widocznych w obu barwieniach. Wyniki pomiarów tkankowych podano w μm i procentach. Zostały one przedstawione w tabelach i wykresach, a przykłady wyglądu preparatów histologicznych na pięknych rycinach.

Badania modelu roztworu żelatyny w środowisku powietrza wykazały, że pod wpływem promieniowania elektromagnetycznego emitowanego przez laser erbowy i laser CO_2 dochodzi do powstania kraterów, powtarzanie ekspozycji powodowało powiększenie się krateru w głąb. Przy brzegach obserwowano strefę naruszenia integralności żelatyny, co jest bardzo dobrze widoczne na rycinach przedstawiających modele żelatyny przed i po ekspozycji laserem CO_2 . Natomiast po zastosowaniu promieniowania elektromagnetycznego zarówno lasera CO_2 i lasera erbowego na powierzchni żelatyny pokrytej warstwą soli fizjologicznej nie obserwowano zmian. Promieniowanie elektromagnetyczne emitowane przez laser erbowy, może być transmitowane światłowodem, w tym przypadku światłowodem szafirowym. Po wprowadzeniu światłowodu do soli fizjologicznej pokrywającej żelatynę i dotykając do jej powierzchni obserwowano powstanie w niej krateru. Żelatyna przy brzegu krateru była zmieniona mechanicznie. Jest to udokumentowane zdjęciem. Promieniowanie emitowane przez laser CO_2 nie może być transmitowane przez obecnie dostępne światłowody.

W ocenie makroskopowej miejsca ekspozycji laserowej po zastosowaniu lasera CO_2 na modelu tkankowym przybierały kształt kwadratów o ostro odgraniczonych brzegach. W przypadku wykonania ekspozycji na rogówkę dochodziło do sfałdowania powierzchni tkanki przylegającej do miejsca ekspozycji, w przypadku wykonywania ekspozycji na twardówkę nie obserwowano zmian makroskopowych w okolicznej tkance. Na dnie ubytków widoczna była skoagulowana tkanka. Po zastosowaniu lasera erbowego miejsca ablacji tkanki przybierały kształt punktów o ostro odgraniczonych brzegach. Przy zastosowaniu różnej energii lasera wygląd miejsc ekspozycji nie różnił się między sobą makroskopowo, zarówno gdy ekspozycja była wykonywana na rogówce jak i w twardówce. Miejsce o większej liczbie ekspozycji było większe i głębsze zarówno na rogówce jak i twardówce. W miejscu ablacji nie obserwowano widocznej makroskopowo skoagulowanej tkanki.

Wyniki badań histopatologicznych przedstawiają się następująco. Przy zastosowaniu lasera CO_2 w rogówce średnia głębokość ubytku była największa przy zastosowaniu mocy promieniowania równej 18 mW i wynosiła 163,25 μm , średni procentowy udział ubytku w stosunku do grubości rogówki był natomiast największy przy zastosowaniu mocy promieniowania równej 20 mW i wynosił 14% grubości tkanki. Największy średni procentowy udział zmienionej tkanki w stosunku do całkowitej grubości tkanki wynosił 8% grubości tkanki i występował przy mocach 18 i 21 mW. W twardówce średnia głębokość ubytku i procentowy udział ubytku w stosunku do grubości twardówki były największe przy zastosowaniu mocy promieniowania równej 21 mW (37% grubości tkanki). Podobnie największa średnia głębokość zmienionej tkanki poniżej miejsca ubytku występowała przy mocy 21 mW i wynosiła 174,35 μm i 20% grubości tkanki. W rogówce średnie uszkodzenie tkanki na brzegach ubytku było największe przy zastosowaniu mocy 18 mW, a w twardówce 19 mW. W żadnej z gałek nie doszło do perforacji tkanki. Autorka wnioskuje, że zastosowanie mocy promieniowania w zakresie stosowanym klinicznie 18-21 mW umożliwia uzyskanie efektu terapeutycznego przy zachowaniu bezpieczeństwa procedury.

Przy zastosowaniu lasera erbowego w żadnej z gałek nie doszło do perforacji tkanki. Maksymalny ubytek rogówki wynosił 55%, a twardówki 72% jej grubości. Maksymalna głębokość uszkodzenia rogówki poniżej ubytku wynosiła 3%, a twardówki 4% jej grubości. Uszkodzenia tkanki po bokach ubytku występowały jedynie w modelu rogówki. Zwęglenie tkanki w miejscu ogniskowania oraz uszkodzenie okolicznej tkanki było mniejsze w przypadku lasera erbowego. Analizując uzyskane wyniki histologiczne należy wziąć pod uwagę kształt gałki ocznej, który jest zbliżony do kuli, dlatego też ogniskując promieniowanie laserowe na powierzchnię tkanki, w jednym miejscu ognisko może znajdować się dokładnie na powierzchni tkanki, a tuż obok powyżej jej powierzchni. W procesie przygotowywania preparatu histologicznego może dojść do pewnego odchylenia od idealnie prostopadłego przecięcia miejsca ogniskowania promieniowania. Czynniki te mogą mieć wpływ na rozbieżność wyników w obrębie jednej grupy eksperymentalnej. Rzeczywiście uszkodzenie tkanki może być większe w przypadku idealnego ogniskowania promieniowania na powierzchni tkanki. Może być również mniejsze lub większe w przypadku preparatów skrojonych pod kątem lub na granicy ogniska. W pracy uzyskane pomiary tkankowe przedstawiono liczbowo w μm oraz jako procent względem całkowitej grubości tkanki. Rozrzut wyników w obrębie jednej grupy eksperymentalnej widoczny w wynikach liczbowych nie był obserwowany przy ich przedstawianiu jako procent z całkowitej grubości tkanki. Świadczy to jedynie o pozornej rozbieżności wyników w obrębie jednej grupy.

Dyskusja stanowi wyczerpujące omówienie własnych wyników i przemyśleń oraz zestawienie ich z wynikami i poglądami innych autorów, którzy zajmowali się badaniami dotyczącymi oddziaływania różnych laserów na tkanki. Wyniki badań Doktorantki pokrywały się z badaniami - Klinka, Mc Hama.

Całość pracy została podsumowana 4 wnioskami, których treść wynika ściśle z uzyskanych wyników badań:

1. promieniowanie emitowane przez laser CO₂ i laser erbowy powoduje powstanie ubytków w tkance w środowisku powietrza,
2. w środowisku wodnym jedynie promieniowanie lasera erbowego powoduje powstanie ubytków w tkance,
3. promieniowanie emitowane przez oba lasery powoduje uszkodzenie termiczne tkanki wokół ubytków,
4. laser erbowy ze względu na możliwość transmisji promieniowania światłowodem ma potencjalnie szersze możliwości zastosowania w chirurgii jaskry.

Przedstawiona mi do recenzji praca nie budzi zastrzeżeń merytorycznych. Jest bardzo dobrze udokumentowana z właściwie dobranym piśmiennictwem. Doskonałe ilustracje preparatów histologicznych podnoszą walory pracy. Jest napisana poprawną polszczyzną. Praca stanowi praktyczny i naukowy wkład do współczesnej wiedzy dotyczącej jaskry. Obniżenie ciśnienia śródgałkowego możliwe jest przez zastosowanie zabiegów chirurgicznych małoinwazyjnych, do których można zaliczyć zabiegi wykonywane techniką laserową. Uważam, że wyniki badań eksperymentalnych Doktorantki, dotyczące potencjalnego zastosowania promieniowania elektromagnetycznego w zakresie podczerwieni w chirurgii jaskry są krokiem naprzód w rozwiązywaniu trudnego i ciągle aktualnego zagadnienia naukowego

jakim jest terapia jaskry. Myślę, że Doktorantka nawiąże współpracę z naukowcami Wojskowej Akademii Technicznej zainteresowanymi powyższym problemem, by wspólnie skonstruować polski aparat laserowy z użyciem lasera emitującego promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie podczerwieni do zastosowania w chirurgii jaskry. Praca jest pracą nowatorską, jest pierwszą pracą dotyczącą porównań w oddziaływaniu różnych laserów na tkanki w piśmiennictwie polskim oraz jedną z nielicznych w piśmiennictwie zagranicznym. Wnioskuje o wyróżnienie pracy.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz.595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 13 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające Ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz.1669 z późn. zm.).

Dlatego zwracam się uprzejmie do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie lek. med. Darii Kęćik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,

Danuta Karczewicz

Prof. dr hab. n. med. Danuta Karczewicz