

## Recenzja

### **Pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. Macieja Mazurka pt." Wykorzystanie i walidacja wenografii i limfografii przy pomocy obrazowania fluorescencji w spektrum fali bliskiej podczerwieni dla celów chirurgii onkoplastycznej".**

Nieustanny rozwój chirurgii możliwy jest dzięki szybkiemu rozwojowi różnego rodzaju technik wykorzystywanych w medycynie. Oczywiście podstawą obiektywnej oceny wyników czy to leczenia czy też przydatności danej techniki w dziedzinie medycyny jest nauka oparta na faktach. Zmiany w postępowaniu w chirurgii piersi widoczne są od wielu lat. Od operacji bardzo rozległych takich jak operacja Halsteda czy Pateya przechodzimy do leczenia oszczędzającego mającego na celu wykonanie zabiegu najmniej traumatyzującego ale także pozwalającego osiągnąć wynik leczenia nie gorszy a nawet lepszy od metod bardzo radykalnych. Aby taki wynik osiągnąć poszukujemy metod, które nam na to umożliwią. Szczególnie w operacjach piersi ten postęp jest bardzo widoczny. Ukazało się wiele prac pokazujących, że w określonych przypadkach nie ma konieczności amputacji piersi jak i rozległego usunięcia splotu chłonnego, wystarczy usunąć guz, najbliższy węzeł chłonny i poddać chorą dalszej obserwacji czy też leczeniu onkologicznemu. Oczywiście o sukcesie leczenia decyduje radykalne usunięcie zmiany to znaczy wycięcie jej z odpowiednim marginesem, co nie zawsze jest możliwe do oceny w trakcie trwania operacji i o radykalności przeprowadzonego zabiegu dowiadujemy się po otrzymaniu wyniku hist-pat. W przypadkach wątpliwych wyników co do radykalności musimy poszerzyć wykonany zabieg narażając chorą lub chorego na powtórny zabieg operacyjny. Możliwość oceny śródoperacyjnej wykonanego zabiegu operacyjnego jest możliwa poprzez badanie doraźne ale wymaga to stałej współpracy chirurga z patomorfologiem. Dlatego poszukiwanie metody, która

śródooperacyjnie pozwoli chirurgowi samodzielnie określić radykalność operacji jest tematem bardzo interesującym. Dlatego przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. Macieja Mazurka dotyczy zagadnienia ważnego zarówno w aspekcie klinicznym jak i społecznym i wpisuje się w nurt badań nad wyborem metody leczenia z guzami piersi czy czerniaka jak i poszukiwania najlepszych metod oznaczania spływu chłonnego czy też żylnego w chorobach wymagających usunięcia regionalnych węzłów chłonnych.

Przedstawiona do oceny praca jest pracą doświadczalną wykonaną na fantomie żelowym piersi oraz na modelu zwierzęcym z wykorzystaniem systemu nawigacji chirurgicznej Mentor EYE. Praca napisana jest w układzie typowym i obejmuje 10 rozdziałów, w skład których wchodzi m.in wprowadzenie, założenia i cele pracy, materiał i metoda, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenia w języku polskim i angielskim wykaz piśmiennictwa oraz załączniki (spis rycin, tabel i fotografii, wykaz skrótów. Całość jest dobrze zredagowana i napisana poprawnym językiem.

W pierwszej części dezyderatu Doktorant przybliżył nam współczesne zasady postępowania dotyczące węzła wartowniczego jego obrazowania przy pomocy limfoscyntygrafii jak i nieswoistych barwników (np. Patent Blue). Pokazuje możliwości wykorzystania tych metod w leczeniu nie tylko guzów piersi ale także w leczeniu nowotworów głowy, szyi i czerniaku. Bardzo ciekawy fragment tej części dezyderatu dotyczy wad obecnie stosowanych w diagnostyce takich jak fenomen cieniowania lub nakładania mogące prowadzić do błędnej interpretacji w poszukiwaniu węzła wartowniczego. W kolejnym podrozdziale przybliżył nam podstawowe pojęcia związane z fluorescencją NIR, która jest obecnie jedną z dynamicznie rozwijających się technologii w dziedzinie medycyny a konkretnie w diagnostyce obrazowej. Doktorant słusznie zauważa, że „możliwość śródooperacyjnej weryfikacji radykalności, umożliwi zmniejszenie liczby koniecznych reoperacji. Podsumowując wprowadzenie do przeprowadzonej pracy świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktoranta do zaplanowanego badania.

Założeniem i celami pracy podjętych przez Doktoranta badań była ocena możliwości wykorzystania małoinwazyjnego obrazowania śródooperacyjnego opartego o fluorescencję widzialną w spektrum światła bliskiej podczerwieni (NIR). Natomiast szczegółowym celem była walidacja wykorzystania tego zjawiska na potrzeby

wenografii i limfografii przeprowadzonej przy użyciu systemu nawigacji MentorEYE opracowanego w ramach funduszy STRATEGMED przez konsorcjum składającego się z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Politechniki Wrocławskiej, Politechniki Warszawskiej oraz firm z branży medycznej tj. NeuroDevice oraz LeLoch. Do realizacji powyższego projektu Doktorant sformułował następujące cele:

1. Dobór optymalnego rozpuszczalnika dla fluorofosforu (zieleni indocjaninowej) z pośród: 0.9% NaCl, intralipidu 20% i albuminy ludzkiej 200g/l na podstawie oceny fluorescencji mierzonej poprzez wartość SBR ( signal-to-background ratio)
2. Ocena możliwości wykrycia i radykalnego usunięcia guzów wybarwionych ICG przy pomocy fluorescencji NIR w modelu in-vitro (fantom żelowy piersi kobiecej)
3. Ocena obrazowania limfografii kończyn NIR na modelu zwierzęcym
4. Ocena obrazowania wenografii kończyn NIR na modelu zwierzęcym

Cele pracy przedstawiono w sposób jasny i czytelny

Materiał i Metody.

Przedstawiona praca jest pracą doświadczalną, dobrze zaplanowaną i z dobrze dobraną analizą statystyczną. Pierwsza część badania przeprowadzona została w warunkach in-vitro. W etapie pierwszym dokonano oceny mieszanin zieleni indocjaniny, który miał na celu dobór odpowiedniego rozcieńczenia do dalszych badań. W tym celu wykonano szereg pomiarów SBR przy pomocy oprogramowania ImageJ na próbkach fluorescencyjnych. Oceniono po 3 próbki w obrębie każdej mieszaniny i każdego stopnia rozcieńczenia. **Tu uwaga do załączonych zdjęć - zdjęcia są słabej jakości i jak dla mnie nie bardzo są pomocne w ocenie**. W drugim etapie badania wykorzystano fantomy piersi mające symulować zdrowe tkanki miękkie pacjenta, opracowane specjalnie dla celów badania zgodnie z technologią zaproponowaną przez Frangoniego. W głównym elemencie fantomu, w różnych lokalizacjach umieszczone zostały inkluzje różnej wielkości symulujące guzy nowotworowe i/lub węzeł wartowniczy. Następnie pod kontrolą wzroku i fluorescencji NIR chirurg usuwał umieszczone inkluzje (losowo rozmieszczone od 7-9). Po przeprowadzonych operacjach oceniano radykalność resekcji guzów poprzez analizę wyciętych inkluzji jak i łoża guza.

W przypadku nieradykalnego usunięcia stwierdzonego w fluorescencji NIR poszerzano resekcję i ponownie oceniano. **Moje pytanie do tej części pracy co to znaczy warstwowe preparowanie fantomu (ile było warstw?) czy odbywało się to tak jak jest w chirurgii piersi dotarcie do zmiany od skóry w głąb gruczołu?**

Druga część badania in-vitro przeprowadzona została na 36 szczurach płci męskiej szczepu Sprague-Dawley o określonej masie ciała i wieku 10-12 tygodni. W pierwszym etapie badania (18 szczurów) podano roztwór ICG w różnych rozpuszczalnikach do żyły udowej kończyny tylnej (lewej lub prawej wyznaczone losowo) oraz jako kontrolę podanie rozpuszczalnika po stronie kontrlateralnej. W drugim etapie badania (18 szczurów) podano roztwór ICG w różnych rozpuszczalnikach śródskórnie do kończyny tylnej lewej/prawej i jako kontrolę podanie po stronie kontrlateralnej. W obu etapach wykonywano śródoperacyjną ocenę fluorescencji poprzez wykonywanie zdjęć w formacie bezstratnym w spektrum NIR w 0,5,10 i 15 minucie

## **Wyniki.**

Uzyskane wyniki Doktorant przedstawił na 9 fotografiach, 12 wykresach i w 6 tabelach. Należy podkreślić staranność i przejrzystość wykonanych wykresów i tabel co ułatwia czytanie tej części pracy doktorskiej.

W analizie porównawczej SBR w zależności od grupy badanej, nośnika i stopnia rozcieńczenia Doktorant wykazał istotne różnice w zakresie SBR pomiędzy różnymi rozpuszczalnikami dla ICG. Najwyższe wartości SBR osiągnęły próbki z Intralipidem, następnie z albuminą i najniższe w grupie z 0,9% NaCl. **Mam pytanie co do tabeli 2. Jakie znaczenie ma w badaniu zsumowanie wyników, przecież chodziło o wytypowanie najlepszego nośnika ICG a uśrednienie danych moim zdaniem nie ma żadnego znaczenia.**

W analizie przeprowadzonych 14 symulacji operacji resekcji guzów nowotworowych piersi na fantomach chirurgicznych przy pomocy fluorescencji NIR zidentyfikowano 111 z 113 guzów piersi (98,2%). Należy zauważyć wysoką skuteczność usunięcia radykalnego zmiany w fantomie w przeprowadzonym badaniu. Ale też ta skuteczność została osiągnięta dzięki wtórnej możliwości poszerzenia zabiegu operacyjnego ( w guzach do 10mm w 7 przypadkach a guzach do 15 mm w 8). **W dwóch**

**przypadkach zmian poniżej 5 mm nie udało się zidentyfikować tych zmian oczywiście powstaje pytanie dlaczego?**

W walidacji limfografii NIR Doktorant przeprowadził łącznie 432 pomiary w trzech wyznaczonych punktach (stopa, staw skokowy, pachwina) w przypadku wenografii pomiarów było 36 i dotyczyły stopy.

We wszystkich pomiarach (przynależność do grupy badanej lub kontrolnej, rodzaju rozpuszczalnika i czas pomiaru) stwierdzono najwyższe wartości na stopie, stawie skokowym i pachwinie w każdym analizowanym punkcie czasowym gdzie podano ICG z Intralipidem.

Analizie porównawcza SBR z uwzględnieniem rodzaju nośnika barwnika w wengrafii wykazała, że zwierzęta którym podano roztwory ICG w Intralibidzie i HSA wykazały znamienne wyższe wartości SBR , natomiast nie stwierdzono różnicy pomiędzy grupą kontrolną a grupą gdzie nośnikiem był 0,9%NaCl.

W omówieniu wyników i dyskusji Doktorant systematycznie omawia wyniki swoich badań wykazując umiejętność wyważonej, opartej na wysokiej wiedzy, interpretacji własnych obserwacji w konfrontacji z wynikami badań innych autorów. Dyskusja prowadzona jest ciekawie z właściwymi odniesieniami do aktualnego piśmiennictwa rangi światowej.

Na podstawie uzyskanych wyników Autor wysnuł 5 wniosków:

1. Stwierdzono istotne różnice w stopniu nasilenia fluorescencji NIR w zależności od użytego rozpuszczalnika dla ICG zarówno w warunkach in-vitro jak i in-vivo. Najwyższe wartości SBR w próbkach laboratoryjnych osiągał roztwór ICG w 20% Intralipidzie co czyni go rekomendowanym medium do tego typu zastosowań
2. Wykorzystując model odpowiednio zaprojektowanych fantomów potwierdzono istotne zwiększenie radykalizmu przeprowadzonych zabiegów „onkologicznych”. Przy użyciu obrazowania NIR uzyskano istotny wzrost odsetka całkowicie usuniętych „guzów”. Radykalności resekcji „guzów” o średnicy 10 mm wzrosła o 21,8%, a w przypadku guzów średnicy 15 mm o 25,8% w stosunku do oceny klinicznej.
3. Użycie systemu MentorEYE umożliwia wiarygodne obrazowanie spływu chłonnego i żylnego w świetle NIR.

4. Najlepszym medium dla ICG na potrzeby limfografii jest 20% Intralipid. Na cztery punkty pomiarowe w węzłach chłonnych pachwinowych (w 0,5,10,15 minucie od podania ) najsilniejszy sygnał fluorescencji wyrażony jako SBR uzyskano w 10 i 15 minucie pomiaru.

5. Wengrafia w systemie MentorEYE jest najlepiej obrazowana przy pomocy roztworu ICG w Intralipidzie lub albuminie ludzkiej.

Wnioski są uzasadnione i prawidłowo sformułowane i w pełni odpowiadają na postawione cele przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej.

W pracy wykorzystano 118 pozycji piśmiennictwa właściwie dobranego i przypisanego w tekście pracy. Zwraca uwagę skromna liczba prac z Polski wg mnie tylko 2.

Całość rozprawy została przygotowana bardzo starannie. Wyniki uzyskane w pracy są istotne i wskazują nam nowe możliwości w poprawie wyników leczenia chirurgicznego w onkologii. Uwagi zawarte w recenzji nie umniejszają wartości naukowej dysertacji. Wykazuje ona niewątpliwie, że Doktorant dobrze opanował „warsztat naukowy”.

Uważam, że lek. Maciej Mazurek uzyskał interesujące wyniki mające oprócz znaczenia poznawczego także potencjalne znaczenie praktyczne. Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku 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 3 lipca 2019r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. Poz 1669 z późn.zm.). W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady I Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie o dopuszczenie lek. Macieja Mazurka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. n. med.  
Krzysztof PAŚNIK  
spec. chirurgii ogólnej i onkologicznej  
\* 87 384 47 \*