

Poznań, 7 marca 2023 r.

Dr hab. n. med. Wojciech Warchoł
Kierownik Zakładu Optometrii
Katedry Chorób Oczu i Optometrii
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu

OCENA

rozprawy na stopień doktora nauk fizycznych

mgr Kamili Ciężar

pt. Metoda ilościowego określenia zmian w morfologii gruczołów Meiboma

Gruczoły Meibona stanowią układ wydzielniczy pozwalający na prawidłowe nawilżenie rogówki i tym samym właściwe funkcjonowanie narządu wzroku. Zaburzenia w ich funkcjonowaniu prowadzą do szeregu stanów patologicznych, z których jednym najbardziej dokuczliwych jest tzw. „zespół suchego oka”. Jego następstwem jest nieprawidłowa struktura filmu łzowego. W efekcie może dochodzić do stanów zapalnych spojówki oka. W przypadku korekcji wad refrakcji z użyciem soczewek kontaktowych następstwem tego patologicznego stanu jest zazwyczaj porzucenie tej metody i jej zamiana na korekcję okularową. Wynika to z poczucia dyskomfortu, jaki doświadcza osoba stosująca te metodę poprawy ostrości widzenia. Problem jest tutaj często potęgowany poprzez pocieranie oczu, mające na celu stymulację wydzielania filmu łzowego. W tej sytuacji specjalista dobierający korekcję powinien sprawdzić parametry filmu łzowego przed aplikacją korekcji soczewkami kontaktowymi. Niestety, większość z tych metod jest dostępna tylko okulistom (np. test Schirmera, wymagający znieczulenia oka). Aktualnie w dużej mierze dobozem soczewek kontaktowych zajmują się optometryści. Dość częstą praktyką jest wówczas wykorzystywanie metod opartych o fluorescencję, jednak należy zwrócić uwagę, że podanie fluoresceiny może się wiązać z możliwością wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego. Większość optometrystów nie jest przygotowana na taką sytuację i dlatego stosowanie fluoresceiny nie powinno mieć miejsca. Z metod dostępnych pozostaje je-

dynie OCT, jednak są to drogie urządzenia i niewiele z nich ma możliwości oceny filmu łzowego. Alternatywną metodą do oceny nawilżenia powierzchni oka jest metoda pośrednia polegająca na ocenie wyglądu gruczołów Meiboma. Są one widoczne na wewnętrznej stronie powieki w postaci ciemniejszych pasm o regularnym układzie. Osoba z dużym doświadczeniem bez trudu jest w stanie ocenić ich prawidłowy układ i odróżnić nieprawidłową strukturę przestrzenną. Użycie światła podczerwonego oraz kamery pozwalającej na rejestrację obrazów w tym zakresie widmowym jeszcze bardziej ułatwia sprawę ze względu na większą absorpcję gruczołów. Istotne w tej metodzie jest kluczowe sformułowanie: „osoba z dużym doświadczeniem”. Często uzyskanie odpowiednich umiejętności wymaga odpowiedniego szkolenia i długiej praktyki. Każdy błąd oceny może potencjalnie prowadzić do szeregu konsekwencji zdrowotnych wynikających z braku właściwej oceny wydzielniczej filmu łzowego. Mogą to być zakażenia, rozrost unaczynienia rogówki, skrzydlik a nawet perforacja rogówki. Zazwyczaj osoba z nieprawidłową funkcjonalnością gruczołów Meiboma wcześniej rezygnuje z używania soczewek kontaktowych, jednak co jakiś czas okuliści muszą ratować poważnie uszkodzone oko, a pacjent nie zawsze odzyskuje prawidłową ostrość wzroku.

W związku z bardzo dużym wzrostem mocy obliczeniowej komputerów, w ostatnich latach pojawiła się cała gama systemów ekspertowych oraz systemów wspomagających diagnostykę medyczną. Szczególną grupę stanowią wśród nich systemy oparte o analizę obrazów. Jest to trudny problem, ponieważ łączy się z szeregiem zagadnień, które o ile są proste dla człowieka, to już bardzo złożone w przypadku analizy obliczeniowej. Za podstawowe należałoby wymienić trudności związane z nierównomiernością oświetlenia i występowaniem artefaktów oraz struktur biologicznych niebędących w zakresie wnioskowania. Innym elementem jest samo dochodzenie do prawidłowej diagnozy. Olbrzymia ilość informacji musi ulec redukcji do jednego lub kilku wskaźników będących wynikiem analizy. Najczęściej jest to ocena, czy analizowany obraz prezentuje normę czy patologię. Nierzadko zapożycza się tutaj narzędzia wykorzystywane w innych dziedzinach, takich jak analiza sygnałów czasowych (analiza sygnałów), w tym dyskretną analizę Fourierską. Innym problemem, z którym musi się uporać projektant systemu ekspertowego, jest dobór najlepszego kryterium oceny uzyskanych w wyniku analizy parametrów diagnostycznych. Wiąże się to z oceną prawdopodobieństwa poprawnej diagnozy. Tutaj wykorzystywane są najczęściej metody statystyczne, w szczególności systemy oparte o sieci neuronowe. Alternatywą są krzywe ROC oraz analogiczne do tego metody analityczne.

Oceniana dysertacja ma układ dość typowy dla rozpraw doktorskich dotyczących metodologii badań. Składa się ze streszczenia, wstępu obejmującego wprowadzenie do tematu

pracy wraz z omówieniem aktualnych rozwiązań, założeń i celu pracy, części metodologicznej, uzyskanych wyników, dyskusji, podsumowania oraz bibliografii. Autorka zamieściła 5 tabel oraz 66 rycin. Praca uzyskała zgodę komisji bioetycznej.

W pierwszej części wstępu autorka opisuje budowę anatomiczną, histologię oraz fizjologię gruczołów Meiboma. Opis jest szczegółowy i pełny. Następnie doktorantka przechodzi do zagadnień związanych z patologią tego gruczołu. Omawiana jest dysfunkcja wydzielnicza prowadząca do zespołu suchego oka. Patologia w tym zakresie i jej uwzględnienie jest jednym z ważniejszych aspektów prawidłowego doboru soczewek kontaktowych. W dalszej części opisana jest diagnostyka dysfunkcji gruczołów Meiboma. Omówione zostały metody oparte o techniki wybarwiania fluorescencyjnego, metody palpacyjne, test Schirmera, wspomniane zostały również techniki oparte o mikroskopię konfokalną oraz OCT. Na końcu autorka opisuje metody oparte o analizę struktur makroskopowych samych gruczołów, co stanowi wprowadzenie do głównej tematyki pracy doktorskiej. Na początku, w oparciu o doniesienia literaturowe, autorka zauważyła, że kształt i rozmieszczenie struktur gruczołów jest bardzo silnie związane z ich funkcjonowaniem biologicznym. Wszelkie aberracje geometryczne względem normy miały ścisły związek z jakością i ilością wydzielanego filmu łzowego. Stanowiło to wstęp do opisu metod diagnostycznych opartych o meibografię. Omówione zostały aktualne rozwiązania oparte o systemy ekspertowe. Autorka przedstawiła również problemy z jakimi muszą się zmierzyć ich projektanci oraz koncepcje ich rozwiązania. Cechą wspólną było tutaj zastosowanie sieci neuronowych opartych o różne schematy optymalizacyjne. Wymiennie zostały ograniczenia i wady tych rozwiązań. Same rozwiązania były w dużej mierze automatyczne i jako wynik diagnostyczny uzyskiwano tutaj trzy kategorie określone jako „norma”, „zagrożenie” oraz „choroba”. W dalszej części wstępu omówione zostały powiązania pomiędzy nieprawidłowościami morfologicznymi wykazywanymi na zdjęciach meibograficznych i parametrów fizykochemicznych filmu łzowego.

Po wstępie autorka przechodzi do właściwej części pracy. Opisana została grupa badawcza, podane zostały warunki włączenia i wykluczenia. Badanie obejmowało 73 osoby, w tym 55 użytkowników soczewki kontaktowe, a więc takie, u których zespół suchego oka związany z dysfunkcją gruczołów Meiboma może być bardzo istotny. Następnie opisana została zaprojektowana przez autorkę aparatura pomiarowa – meibograf w skład którego wchodził układ oświetlenia światłem podczerwonym oraz kamera CCD rejestrująca obrazy. Oprócz objaśnienia samej konstrukcji przedstawione zostały przykładowe obrazy oraz problemy, z którymi autorka musiała się zmierzyć. Za najpoważniejsze uznała trudności z uzyskaniem czystego obrazu pozbawionego odbić światła z w miarę równomiernym oświetleniem oraz prawidłowe

ułożenie wywiniętej powieki tak, by gruczoły Meiboma były prawidłowo prezentowane. W kolejnej części opisane są procedury przetwarzania obrazu, których ostatecznym wynikiem są wyodrębnione binarnie obszary badanych gruczołów. Na tej podstawie optometrysta dokonał dwukrotnie klasyfikacji ich geometrii i rozmieszczenia na trzy wspomniane wcześniej kategorie. Stanowiło to późniejszą referencję do wyników analiz metodą zaproponowaną przez doktorantkę. Sama metoda, a w istocie dwie równoległe ścieżki postępowania, składają się z części opartej na dwuwymiarowej analizie Fouriera oraz na statystycznej ocenie i wnioskowaniu opartym na analizie otrzymanego widma. W pierwszej kolejności opisana została pierwsza z wymienionych, czyli analiza Fouriera. Autorka wielokrotnie nawiązuje do teorii sygnałów w których dyskretna transformata Fouriera (a dokładniej jej wersja FFT) jest jednym z najważniejszych narzędzi analitycznych. Wyjaśniona zostaje tutaj koncepcja oceny geometrii i rozmieszczenia gruczołów Meiboma w oparciu o dwuwymiarową transformatę Fouriera oraz metodologia uzyskania tych informacji, a dokładnie parametrów, które mogą odzwierciedlać te dane. Są to położenie oraz wielkość rozmycia maksimów odpowiadających częstotliwościom charakterystycznym dla układu przestrzennego tych struktur. Cały opis, wraz z podstawami teoretycznymi, jest bardzo dokładny i obszerny. Druga część metodologii, prowadząca do końcowej klasyfikacji stanu gruczołów Meiboma obejmuje część statystyczną. Autorka przedstawiła zastosowane przez siebie narzędzia, czyli analizę składowych głównych oraz liniową analizę dyskryminacyjną. Posłużyły one do wyodrębnienia kombinacji cech, które pozwalają klasyfikować geometrię gruczołów oraz określać ich przynależność do jednej z trzech kategorii i stanowiły dwa alternatywne podejścia. Źródłem dla analiz były dwa parametry interpretowane jako średnia częstość występowania gruczołów oraz anizotropia ich kierunku. Sama automatyczna klasyfikacja polega tutaj na ocenie prawdopodobieństwa przynależności danego przypadku na podstawie rozkładów parametrów klasyfikacyjnych dla poszczególnych kategorii. Jest to związane z prawidłowym określeniem właśnie tych rozkładów. Autorka wybrała arbitralnie rozkłady beta i normalny. Jak wspomniano wcześniej, w pracy przedstawiono dwie alternatywne ścieżki prowadzenia analizy. Pierwsza z nich polegała na przetworzeniu całego uzyskanego obrazu meibograficznego tj. okno analizy Fourierowskiej obejmowało cały binarny obraz wszystkich gruczołów. To podejście pozwoliło uzyskać zgodność klasyfikacji automatycznej z klasyfikacją dokonaną przez optometrystę na poziomie 88% w kategorii „zdrowy”, 83% w kategorii „chory” i 46% w kategorii „pośredni”. Drugą ścieżką postępowania była nazwana przez autorkę „analiza lokalnych zmian”. Samo postępowanie prowadzące do klasyfikacji było podobne do ścieżki nazwanej „analizą globalnych zmian”, przy czym jedną analizę Fourierowską całego obrazu zastąpiono serią analiz mniejszych jego fragmentów. Wielkość okna analizy

obejmowały obszary dwóch sąsiadujących ze sobą gruczołów. Taki zabieg pozwalał na uwypuklenie lokalnych nieregularności, które mogłyby być niewidoczne w analizie globalnej (np. wskutek ich powtarzalności). Na podstawie tak uzyskanych danych autorka dokonała parametryzacji poprzez dopasowanie krzywych teoretycznych i w ten sposób uzyskała informacje opisującą częstotliwość przestrzenną oraz zmienność kątów orientacji gruczołów. Te dane pozwoliły również na stworzenie graficznej prezentacji obrazującej badane parametry w obrębie całej powieki. Doktorantka umieściła szereg rycin pozwalających na samodzielną ocenę występujących różnic w poszczególnych kategoriach klasyfikacyjnych. W analizie globalnych zmian wykreślenie takich map jest oczywiście niemożliwe. Analiza PCA i LDA została przeprowadzona na zbiorze 30 parametrów wejściowych, na podstawie których wyodrębniono dwa nowe parametry, które dalej wykorzystano do przeprowadzenia klasyfikacji tak, jak w analizie globalnych zmian. To podejście okazało się lepsze, bowiem tutaj zgodność klasyfikacji optometrysty i klasyfikacji automatycznej wynosiła 88% dla klasy „zdrowy”, 91% dla klasy „chory” i 79 % dla klasy „pośredni”. Można tutaj również zauważyć, że wyższą zgodność zarówno teraz, jak i poprzednio, uzyskano w oparciu o liniową analizę dyskryminacyjną.

Po głównej części pracy, poświęconej opisowi zaproponowanej przez autorkę metody, przeprowadzona jest dyskusja dotycząca uzyskanych wyników. Autorka przedstawia podstawowe różnice pomiędzy dwoma proponowanymi ścieżkami postępowania, czyli analizą globalnych zmian i analizą lokalnych zmian. Oceniona zostaje wartość poszczególnych parametrów, przy klasyfikacji stanu gruczołów Meiboma. Następnie przeanalizowane zostają najważniejsze, według doktorantki, źródła niezgodności analizy subiektywnej i automatycznej. Autorka odnosi się również do różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi przy wykorzystaniu metody PCA i LDA. Po ustosunkowaniu się do własnej pracy rozważane są kierunki dalszego rozwoju możliwości wdrożenia i udoskonalania zaprezentowanego rozwiązania oraz rozszerzenia bazy zdjęć w kontekście istniejących i użytkowanych meibografów.

Część zasadnicza pracy jest zakończona podsumowaniem, w którym doktorantka przedstawiła najważniejsze i najistotniejsze informacje dotyczące treści zawartych w rozprawie doktorskiej.

Bibliografia zawiera 177 pozycji, w przeważającej większości z ostatnich 10 lat. Sposób doboru odpowiada tematyce pracy.

Uwagi do pracy

Praca jest przygotowana poprawnie pod względem językowym. Występują nieliczne błędy edytorskie (np. zgubiona litera „e” w nazwie Mises na s. 84, czy niezrozumiałe zdanie na

początku przedostatniego akapitu na s. 39). Zdążyły się też pewne niedokładności w nomenklaturze, np. „składowe główne” wyjaśniają zmienność danych początkowych, a nie je zawierają. Jeżeli chodzi o sam układ, to cel pracy powinien być bardziej wyraźnie wyodrębniony i odseparowany od pozostałych części. Brakowało mi również wykazu stosowanych skrótów.

Odnosząc się do zawartości merytorycznej, praca ma charakter multidyscyplinarny i obejmuje swoim zakresem szereg dość oddalonych od siebie dziedzin, takich jak nauki medyczne, analiza obrazu, statystyka, analiza sygnałów czy informatyka. Uważam, że autorka podjęła się bardzo trudnego wyzwania i jemu podołała, chociaż nie ustrzegła się paru niedokładności i niejasności. Postaram się je wymienić tematycznie.

W przypadku wstępnego przetwarzania obrazów nie rozumiem w jakim celu wykonane było zwiększenie kontrastu. Dla człowieka jest to niewątpliwie pomocne, natomiast dla algorytmów wyodrębniania obiektów (tutaj binaryzacyjnych) nie mają żadnego znaczenia. Ta operacja zachowuje porządek wartości poszczególnych pikseli. Drugą wątpliwość budzi sama segmentacja obrazu wyodrębniająca obszary zajmowane przez gruczoły Meiboma. Obszary brzegowe z natury rzeczy były określane niezbyt dokładnie, miejscami dochodziło do fuzji sąsiadujących struktur. Jest to typowa sytuacja w takich przypadkach – nadal nie ma dobrych algorytmów poprawnie realizujących ten element przetwarzania. Ponieważ dalsza analiza opierała się o dyskretną analizę Fouriera, zastanawia mnie, dlaczego doktorantka nie pominęła tego kroku. Struktura ułożenia i odległości pomiędzy poszczególnymi gruczołami powinny, jak mierniam, dać obraz widmowy o lepszej jakości i lepiej odwzorowujący analizowaną geometrię gruczołów. Nie zaobserwowałem na obrazach żadnych struktur o podobnej wielkości i częstotliwości występowania, które mogłyby zakłamywać analizę. Dodatkowo zmniejszony byłby wpływ odbicia światła, o którym pisze autorka, jako że wolnozmienny mógłby być łatwo wyeliminowany filtrem górnoprzepustowym. Być może były jakieś przyczyny, dla których wybrano taki tok postępowania, jednak nie znalazłem wyjaśnienia.

W kolejnym etapie polegającym na wykonaniu dyskretnej transformaty Fouriera, doktorantka przedstawiła podstawy tej analizy i znakomicie je powiązała ze swoim badaniem, jednak zabrakło tutaj pewnych istotnych informacji dotyczących wyboru algorytmu – czy była to FFT, która wymaga okna o wielkości będącej potęgą liczby dwa, czy też używała algorytmów bez tego ograniczenia, czyli z oknem o dowolnych wymiarach. W drugim przypadku obszar wymagający „wyzerowania” jest zdecydowanie mniejszy, co nie pozostaje bez wpływu na otrzymane widmo. Oczywiście FFT jest zdecydowanie szybsza, ale przy tych rozmiarach analizowanych obrazów nie ma to większego znaczenia.

Dalszy etap, czyli wyodrębnianie parametrów istotnych dla analizy, analiza składowych głównych oraz liniowa analiza dyskryminacyjna, były przeprowadzone we właściwy sposób i nie mam tutaj żadnych pytań ani obiekcji.

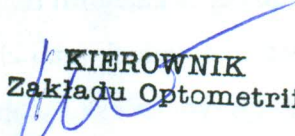
Ostatni etap prowadzący już do klasyfikacji poszczególnych przypadków zarówno w analizie globalnej jak i lokalnej wymagał określenia teoretycznego rozkładu parametrów klasyfikacyjnych dla każdej w kategorii diagnostycznych. Autorka pisze, że wybrała je w sposób arbitralny. Oczekiwałam jednak tutaj choćby kilku słów na temat przyczyn takiego, a nie innego wyboru. Ważniejszym jednak byłoby, a co zostało pominięte, przeprowadzenie weryfikacji zgodności przyjętego modelu z danymi eksperymentalnymi. W przypadku rozkładu normalnego mamy wiele możliwości, w przypadku rozkładu beta jest trudniej, ale chociażby test Kołmogorowa-Smirnowa pozwoliłby na weryfikację dokonanego wyboru.

Jeżeli miałbym odnieść się do sposobu oceny selektywności i czułości metody, to mam tutaj kilka uwag. Pierwsza dotyczy wyboru osoby oceniającej subiektywnie stan gruczołów Meiboma. Mając cały szacunek do jej wiedzy i doświadczenia, trzeba jednak pamiętać, że na do dziś w Polsce zawód optometrysty nie ma ustalonych kompetencji. Osobiście, z przyczyn czysto formalnych, poprosiłbym jednak o pomoc lekarza okulisty. Chciałbym również zauważyć, że bardzo często klasyfikację wykonuje dwóch specjalistów i w przypadku wątpliwości korzysta się z arbitrażu osoby trzeciej. Inną uwagą, którą mam do tej części pracy jest brak analizy nietrafionych „diagnoz”. Ponieważ mamy tu trzy grupy, nie ma możliwości samodzielnej oceny. Brak mi również komentarza i może kilku zdjęć przypadków o nieprawidłowej diagnozie. Inny aspekt, który powinien być uwzględniony w dalszych pracach, to dobór grupy „uczącej” o rozkładzie kategorii klasyfikacyjnych zgodny z populacyjnym, jak i również uwzględnieniem w analizach PCA i LDA wiekiem pacjentów.

Ostatnią z uwag, którą chciałbym się podzielić, jest pewien, jak się domyślam, skrót myślowy, który jednak nie powinien się pojawić. Chodzi mi o sformułowanie: „Wydzielina łojowa należy do cieczy nienewtonowskich, co oznacza, że jej lepkość zmienia się w zależności od przyłożonej siły”.

Chciałbym tutaj podkreślić, że uwagi, które zamieściłem, w żadnym wypadku nie dyskredytują wartości pracy otrzymanej do recenzji. Doktorantka wykonała ogrom wartościowej pracy i wniosła wiele nowych wartości w dziedzinie metodologii diagnostyki gruczołów Meiboma i ogólnie analizy obrazów medycznych. Mam nadzieję, że będzie kontynuowała prace rozwijające przyjętą przez nią koncepcję metodologii diagnostycznej.

Mając na uwadze wartość merytoryczną i praktyczną Rozprawy Doktorskiej mgr Kamili Ciężar pt. *Metoda ilościowego określenia zmian w morfologii gruczołów Meiboma*, zwracam się do Rady Naukowej Dyscyplin Nauki Fizyczne i Astronomia Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


KIEROWNIK
Zakładu Optometrii

dr hab. n. med. Wojciech Warehoł