

Recenzja
Wniosek o przyjęcie
Pracowni
Wydziału Lekarskiego
ds. Nauki
prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński

Szczecin dn. 02.04.2022 r.

Kierownik II Katedry i Kliniki Okulistyki

Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

ul. Powstańców Wlkp. 72

70-135 Szczecin

Recenzja

Rozprawy doktorskiej lekarza medycyny Przemysława A. Zabela 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”

Promotor: prof. dr hab. Jakub J. Kałużny

Choroba Alzheimerera (AD) stanowi najczęstszą przyczynę otępienia u osób starszych. Szacuje się, że na świecie cierpi na nią około 36 milionów ludzi. Główną przyczyną powstania i progresji tego schorzenia jest gromadzenie się nieprawidłowych białek – zewnątrzkomórkowego β -amyloidu ($A\beta$) oraz tworzącego wewnątrzkomórkowe sploty neurofibrylarne białka tau. Diagnostyka opiera się głównie na ocenie funkcji poznawczych, a ponieważ badania neuroobrazowe nadal są bardzo drogie i trudno dostępne, dlatego trwa poszukiwanie nowych, nieinwazyjnych oraz tanich biomarkerów choroby.

Po wprowadzeniu do użytku optycznej koherentnej tomografii (OCT), pomiar grubości okołotarczowej warstwy włókien nerwowych siatkówki (pRNFL) stał się parametrem powszechnie stosowanym w diagnostyce oraz monitorowaniu schorzeń siatkówki, nerwu wzrokowego (n. II), a w szczególności jaskry. Jaskra należy do neurodegeneracyjnych chorób oczu, której cechą jest apoptoza komórek zwojowych siatkówki (RGC) i związany z nią zanik RNFL prowadzący do typowych dla tej choroby zmian w wyglądzie tarczy n. II oraz ubytków w polu widzenia. Zauważono, że uszkodzenie RGC skutkujące obniżeniem grubości pRNFL oraz warstwy komórek zwojowych siatkówki (GCL) można również zaobserwować w innych chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak: choroba Parkinsona, stwardnienie rozsiane, otępienie z ciałami Lewy’ego oraz przede wszystkim w AD. Pośmiertne badania pacjentów z AD wykazały, że apoptozie komórek nerwowych w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) towarzyszą naczyniowe zmiany w postaci angiopatii amyloidowej. Patologiczne zmiany związane z AD dotyczą nie tylko uszkodzenia komórek nerwowych w OUN, ale także układu naczyniowego, dlatego zastosowanie nieinwazyjnej techniki OCTA do obrazowania naczyń wewnątrzgałkowych może stanowić nowy biomarker AD.

W fazie embriogenezy siatkówka oraz n. II rozwijają się, jako bezpośrednie przedłużenie międzymózgowia, dlatego nieprawidłowości zachodzące w mózgu u pacjentów z AD możemy również obserwować na dnie oka. Uważa się, że uszkodzenie RGC w przypadku AD może mieć podobną patogenezę jak jaskra pierwotnie otwartego kąta (ang. primary open-angle glaucoma – POAG).

W związku z tym coraz częściej podnosi się temat wspólnych czynników ryzyka oraz mediatorów odpowiedzialnych za ich powstanie i rozwój. Z badań na modelu zwierzęcym wiemy, że przyczyną śmierci RGC u pacjentów z nadciśnieniem ocznym może być przewlekła neurotoksyczność spowodowana odkładaniem się A β indukowanego wzrostem ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz zmniejszony poziom naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (ang. vascular endothelial growth factor – VEGF), podobnie jak w AD. Wyniki badań nad patogenezą jaskry wykazały znaczący spadek wolnego A β , co mogło być spowodowane odkładaniem się go w okolicach naczyń siatkówki, a także wzrost poziomu nieprawidłowego białka tau w ciele szklistym.

W 1986 roku opisano, że zmiany neurodegeneracyjne zachodzące w mózgu pacjentów z AD dotyczą również n. II oraz siatkówki. U pacjentów z AD, wykorzystując *in vivo* obrazowanie OCT, potwierdzono znaczny spadek grubości pRNFL, zaobserwowano również zmiany w grubości i objętości siatkówki w plamce, podobnie jak dzieje się to u pacjentów z neuropatią jaskrową. W kolejnych latach badania *post mortem* pacjentów z demencją typu Alzheimer'a wykazały, że choroba powoduje także nieprawidłowości naczyniowo-mózgowe. Dzięki temu, że naczynia krwionośne mózgu i siatkówki mają wspólne pochodzenie embriologiczne i wykazują podobieństwo pod względem cech anatomicznych oraz właściwości fizjologicznych, badanie naczyń siatkówki może być cennym podejściem w dostarczaniu nowych informacji na temat AD. Zidentyfikowano potencjalny związek między odkładaniem się nieprawidłowego A β w okolicach naczyń a zaburzeniem przepływu krwi oraz średnicą naczyń w siatkówce u pacjentów z rozpoznaną AD.

Wprowadzenie nowoczesnej i nieinwazyjnej techniki obrazowania mikrokrążenia - OCTA umożliwia nie tylko badanie jakościowe, lecz także pomiary ilościowe gęstości naczyń na różnych głębokościach siatkówki. Wykazano, że w AD gęstość naczyń siatkówki jest istotnie obniżona w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej. Kolejne doniesienia naukowe również potwierdziły, że u pacjentów z AD dochodzi do obniżenia gęstości naczyń w każdym splocie siatkówki. Podobne zmiany naczyniowe opisywano w mikrokrążeniu siatkówki u pacjentów z POAG. Do tej pory nie istniały badania porównujące AD z POAG pod względem unaczynienia siatkówki z wykorzystaniem OCTA, co skłoniło autorów do pogłębienia wiedzy w tym temacie. Aktualnie coraz większe nadzieje wiąże się z ocznymi biomarkerami AD. Najbardziej obiecujące wydają się zmiany strukturalnie w siatkówce oraz jej, mikrokrążeniu, które mogą mieć bezpośredni związek z odkładaniem się A β . Nowe technologie, takie jak OCT oraz OCTA, przyczyniają się do postępu wiedzy w diagnostyce AD. Jednoczesna ocena zmian strukturalnych (OCT) oraz mikrokrążenia w poszczególnych splotach siatkówki (OCTA) potencjalnie może ujawnić swoiste dla poszczególnych jednostek chorobowych zmiany, co może okazać się przydatne w diagnostyce różnicowej tych schorzeń. Dotychczasowa wiedza na temat zmian strukturalnych oraz naczyniowych siatkówki u chorych na AD jest niekompletna. Dlatego uważam, że porównanie gęstości naczyń siatkówki oraz grubości warstw siatkówki za pomocą OCT u pacjentów z chorobą Alzheimer'a oraz z jaskrą pierwotnie otwartego kąta" jest wartościowe, ma charakter poznawczy i potencjalnie praktyczny. Opracowanie wstępu ujawnia bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktoranta do realizacji pracy. Wiedza zawarta we wstępie pozwala na łatwą analizę merytoryczną kolejnych rozdziałów.

Przedstawiona praca do recenzji ma układ prawidłowy dla prac doktorskich i liczy 92 strony druku i składa się z 10 rozdziałów. Materiał ilustracyjny stanowią ryciny i tabele umieszczone w publikacjach stanowiących rozprawę dokorską. W wykazie bibliograficznym zawarto aktualne piśmiennictwo na

końcu każdego z 4 artykułów wchodzących w skład pracy doktorskiej (sumarycznie 271 prac zagranicznych i 3 polskie).

Celem pracy była:

- 1) Porównawcza analiza grubości warstw siatkówki w biegunie tylnym gałki ocznej u pacjentów z AD oraz POAG za pomocą OCT.
- 2) Ilościowa ocena gęstości oraz jakościowa analiza sieci mikronaczyń siatkówki u pacjentów z AD oraz POAG za pomocą OCTA.
- 3) Bezpośrednia ewaluacja procentowej utraty gęstości naczyń siatkówki oraz grubości wewnętrznych i zewnętrznych warstw siatkówki w tych samych obszarach plamki u pacjentów z AD i POAG.

Realizację celów pracy Doktorant przeprowadził jasno i rzeczowo w kolejnych etapach pracy wykorzystując do tego celu wyniki zawarte w 4 publikacjach: 3 o łącznym IF= 8,628, jednej publikacji bez IF. Łączna punktacja MNiSW publikacji stanowiących rozprawę dokorską wynosiła 350. We wszystkich publikacjach Doktorant był pierwszym autorem.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz Collegium Medicum w Bydgoszczy.

Materiał badawczy został starannie dobrany a przedstawiona metodyka badawcza oraz metody statystyczne do analizy uzyskanych wyników były prawidłowe.

Publikacja nr 1. Diagnosis of Alzheimer's disease assessing structural and microvasculature changes in the retina using Optical Coherence Tomography Angiography- a review of eye biomarkers for Alzheimer's disease.

W tej pracy poglądowej autorzy przedstawili aktualny stan wiedzy na temat ocznych biomarkerów choroby Alzheimer'a podkreślając rolę badania OCT, jako badania potencjalnie mogącego zwiększyć zdolność diagnostyczną tej choroby.

Publikacja nr 2. „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”

Celem tej pracy była analiza porównawcza grubości pRNFL u pacjentów z AD, POAG i jaskrą preperymetryczną (PPG) oraz u zdrowej grupy kontrolnej (HC), wykorzystując w tym celu obrazowanie OCT. Do badania zakwalifikowano po 30 osób do AD, POAG oraz HC. Uzyskane wyniki wykazały, że uszkodzeniom komórek nerwowych w OUN u pacjentów z AD towarzyszą uszkodzenia aksonów RGC. Badanie grubości pRNFL za pomocą OCT może odgrywać dodatkową rolę w diagnostyce AD. Wydaje się, że podstawowy dylemat dotyczy odróżnienia przyczyny łagodnie zmniejszonej grubości pRNFL, obecnej wśród pacjentów z PPG, u których nie stwierdza się zmian w polu widzenia.

Publikacja nr 3. „Comparison of Retinal Microvasculature in Patients With Alzheimer’s Disease and Primary Open-Angle Glaucoma by Optical Coherence Tomography Angiography”

W tej pracy wykorzystano OCTA do oceny sieci mikronaczyń siatkówki u pacjentów z AD, POAG oraz w HC. . Do badania zakwalifikowano po 27 osób do grupy AD, POAG oraz HC. Wyniki tego badania wykazały, że AD i POAG wiążą się ze zmianami w mikrokrążeniu siatkówki. Stopień uszkodzenia oraz lokalizacja zmian w naczyniach siatkówki można skutecznie oceniać za pomocą OCTA. Znaczące zaburzenie mikrokrążenia, w POAG dotyczy naczyń powierzchniowych, natomiast w AD naczyń głębokich siatkówki. OCTA stanowi użyteczne narzędzie w rozróżnianiu przyczyn uszkodzenia pRNFL, co pozwoli w przyszłości wykorzystywać je jako nowy biomarker do wczesnej diagnostyki AD i POAG.

Publikacja nr 4. „Quantitative assessment of retinal thickness and vessel density using optical coherence tomography angiography in patients with Alzheimer’s disease and glaucoma”

Celem tej pracy ocena i porównanie gęstości naczyń siatkówki z grubością wewnętrznych i zewnętrznych warstw siatkówki w tych samych obszarach plamki u pacjentów z AD i POAG. Ponadto przy wykorzystaniu OCT i OCTA przeanalizowano związek pomiędzy zmianami w gęstości naczyń i grubości warstw siatkówki a występowaniem AD i POAG. Do badania włączono 31 pacjentów z AD (49 oczu), 46 pacjentów z POAG (71 oczu) oraz 31 osób z HC (48 oczu). Analiza obrazów OCT oraz OCTA wykazała, że w oczach z POAG występują istotne zmiany w siatkówce wewnętrznej, co objawia się spadkiem grubości IRL oraz obniżeniem gęstości naczyń w SVP, natomiast w oczach z AD patologiczne zmiany są najwyraźniej dostrzegalne w siatkówce zewnętrznej, w której stwierdza się spadek grubości IRL oraz obniżenie gęstości naczyń w DVP. Pacjenci z AD nie wykazywali istotnych różnic w procentowej utracie grubości ORL oraz gęstości naczyń w DVP w całościowej analizie obrazu en face z wyjątkiem obszaru okołodołkowego, gdzie obserwowano istotnie większą procentową utratę gęstości naczyń w DVP, sugerując, że zmiany neurodegeneracyjne mogą być wtórne do zaburzeń mikrokrążenia. W oczach pacjentów z POAG procentowa utrata grubości IRL była istotnie większa niż utrata gęstości naczyń w SVP w badanych obszarach, co może wskazywać, że apoptoza RGC jest procesem pierwotnym, któremu wtórnie towarzyszą zmiany w mikrokrążeniu siatkówki.

Wyniki oraz ich omówienie przedstawione w pracach 1-4 zostały opracowane czytelnie i zrozumiale.

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano właściwe i konkretne wnioski. Są odpowiedzią na założone cele pracy.

Publikacja nr 2

1) Ocena pRNFL za pomocą OCT wykazała istotne obniżenie jej grubości wśród pacjentów z AD w stosunku do osób zdrowych, co potwierdza, że uszkodzeniom komórek nerwowych w OUN u pacjentów z AD towarzyszy uszkodzenie aksonów RGC.

2) Najbardziej zaawansowane zmiany w postaci obniżenia grubości pRNFL obserwowano u pacjentów z POAG, natomiast w przypadku osób z PPG nie wykazano istotnych różnic w stosunku do pacjentów z AD.

3) Obserwując łagodne zmniejszenie grubości pRNFL, którym nie towarzyszą odpowiednie zmiany w badaniu pola widzenia, w diagnostyce należy wziąć pod uwagę zarówno PPG, jak i AD.

Publikacja nr 3

1) Wyniki badania udowodniły, że AD i POAG są chorobami neurodegeneracyjnymi, które są związane ze zmianami w mikrokrążeniu siatkówki, lecz poziom i stopień uszkodzenia naczyń zależą od choroby pierwotnej.

2) W przypadku POAG choroba objawia się zmniejszeniem gęstości naczyń, w SVP i RPC, natomiast w AD uszkodzenie naczyń w największym stopniu dotyczy DVP, gdzie naczynia są cieńsze, mają mniejszy przekrój, czyniąc je bardziej podatnymi na okluzję przez złogi nieprawidłowego A β .

3) Zastosowanie OCTA może okazać się pomocne w rozróżnieniu przyczyny uszkodzenia, pRNFL, a z uwagi na brak baz normatywnych dla gęstości naczyń analiza stosunku całkowitej gęstości DVP do SVP jest prostym narzędziem diagnostycznym wskazującym chorobę podstawową, będącą przyczyną zaburzeń w mikronaczyniach siatkówki.

Publikacja nr 4

1) Analiza obrazów OCT oraz OCTA wykazała, że w oczach, z POAG występują istotne zmiany w siatkówce wewnętrznej, co objawia się spadkiem grubości IRL oraz obniżeniem gęstości naczyń w SVP, natomiast w oczach z AD patologiczne zmiany są najwyraźniej dostrzegalne w siatkówce zewnętrznej, w której stwierdza się spadek grubości IRL oraz obniżenie gęstości naczyń w DVP.

2) Pacjenci z AD nie wykazywali istotnych różnic w procentowej utracie grubości ORL oraz gęstości naczyń w DVP w całościowej analizie obrazu en face z wyjątkiem obszaru okołodołkowego, gdzie obserwowano istotnie większą procentową utratę gęstości naczyń w DVP, sugerując, że zmiany neurodegeneracyjne mogą być wtórne do zaburzeń mikrokrążenia.

3) W oczach pacjentów z POAG procentowa utrata grubości IRL była istotnie większa niż utrata gęstości naczyń w SVP w badanych obszarach, co może wskazywać, że apoptoza RGC jest procesem pierwotnym, któremu wtórnie towarzyszą zmiany w mikrokrążeniu siatkówki.

Zastosowane piśmiennictwo jest aktualne, zostało prawidłowo dobrane i ujęte w tekście. Streszczenie w języku polskim i angielskim jest zrozumiałe i zawiera istotę wykonanej pracy.

Podsumowując, recenzowana praca jest oryginalnym i nowatorskim dorobkiem naukowym Doktoranta, o potencjalnych możliwościach zastosowania w okulistycznej praktyce klinicznej. Poszerza wiedzę na temat zmian okulistycznych występujących u chorych na chorobę Alzheimera oraz jaskrę.

Mam zaszczyt zwrócić się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z wnioskiem o uznanie pracy 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” za spełniające ustawowe wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i dopuszczenie lek. med. Przemysława A. Zabela do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie pracy.

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński