

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński

Szczecin dn. 15.04.2024 r.

Kierownik II Katedry i Kliniki Okulistyki

Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Ul. Powstańców Wlkp. 72

70-135 Szczecin

Recenzja

Rozprawy na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne na podstawie cyklu publikacji lek. med. Małgorzaty Wichrowskiej pt. "Ocena morfologii i funkcji włókien nerwowych siatkówki u pacjentów poddanych terapii anti-VEGF z powodu zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem". Rozprawa została wykonana w Katedrze Okulistyki i Klinice Okulistycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Promotor: prof. dr hab. n. med. Jarosław Kocięcki

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (AMD) jest chorobą plamki występującą u osób najczęściej powyżej 50 roku życia, która może prowadzić do nieodwracalnej utraty widzenia centralnego. Częstość występowania tej choroby wzrasta z wiekiem i dotyczy 20% populacji siedemdziesięcioletków, w wieku 80-85 lat- 30%. Skutkami zaawansowanej postaci AMD jest znaczące pogorszenie funkcji wzroku a w konsekwencji może prowadzić do pogorszenia jakości życia, wycofania z życia społecznego, zwiększonego ryzyko rozwoju depresji, upadków i urazów przy jednocześnie zwiększonej śmiertelności okołourazowej w populacji starszych pacjentów.

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem występuje 2 dwóch postaciach: sucha oraz wysiękowa (neowaskularna, mokra). Postać sucha AMD (dAMD), charakteryzuje się obecnością druz i uszkodzenia struktury i funkcji nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE). W późnych stadiach choroby występuje zanik RPE i fotoreceptorów. Postać mokra (wAMD) charakteryzuje się neowaskularyzacją w plamce (MNV) - rozwojem patologicznych naczyń, z ich wtórnym przeciekiem i bliznowaceniem. WAMD jest rzadziej występującą formą (ok. 10%) niż dAMD. Wiąże się jednak z gorszym rokowaniem co do widzenia, stanowiąc potencjalną przyczynę ślepoty.



Aktualnie na świecie nie ma skutecznej metody leczenia dAMD, chociaż pojawiają się metody sugerujące możliwość spowolnienia postępu choroby (terapia fotobiomodulująca, inhibitory czynników dopełniacza). Metodą leczenia wAMD, dominującą na całym świecie, są dożłkistkowe iniekcje preparatów anti-VEGF (bevacizumab, aflibercept, ranibizumab i inne). Skuteczność tych leków została potwierdzona w wielu badaniach.

Wadą obecnej terapii jest jej przewlekłość- wymaga podawania leków wielokrotnie przez wiele lat, u niektórych pacjentów do końca życia. Przewlekłe stosowanie leków anti-VEGF oprócz niewątpliwych korzyści może wpływać negatywnie na funkcję i strukturę włókien nerwowych siatkówki i nerwu wzrokowego w 3 potencjalnych patomechanizmach:

1. Wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego, który wiąże się z podaniem dodatkowej objętości płynu do wnętrza gałki ocznej (50 μ L). Długotrwały wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego w trakcie przewlekłej terapii anti-VEGF może wynikać z uszkodzenia beleczkowania, zarówno poprzez mechaniczne zanieczyszczenie substancjami dodatkowymi zawartymi w preparatach leczniczych jak i poprzez reakcję zapalną.
2. Zaburzenia przepływu krwi w obrębie siatkówki i tarczy nerwu wzrokowego, spowodowane obniżeniem poziomu działającego naczynioszerzącego tlenku azotu, którego synteza odbywa się za pośrednictwem czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF)
3. Jatrogenne hamowanie endogennego VEGF, który wykazuje działanie antyapoptotyczne i neuroprotektoryjne. Potwierdzono na modelu zwierzęcym, że w tkankach pozbawionych tego czynnika obserwowano zanik komórek.

Badania grubości siatkówki w plamce w przebiegu AMD, czy bezpieczeństwo ogólne stosowanych leków były szczegółowo badane i dyskutowane. **Natomiast wiedza dotycząca uszkodzenia włókien nerwowych siatkówki, nerwu wzrokowego jest mniej znana a dotychczasowe wyniki są niespójne.**

W niniejszej pracy omówiono wyniki przeprowadzonych badań przekrojowych, analizujących m.in. stan włókien nerwowych siatkówki (zarówno morfologiczny jak i funkcjonalny) pacjentów leczonych preparatami anti-VEGF z powodu wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem w jednym oku i odnoszono wyniki do drugiego, niewymagającego leczenia oka pacjenta, dyskutowano także uzyskane wyniki z innymi danymi dostępnymi w światowej literaturze.

Należy podkreślić, że do oceny stanu wewnętrznych warstw siatkówki Doktorantka zastosowała nie tylko powszechnie stosowaną Optyczną Koherentną Tomografię lecz co interesujące, oceniła również funkcje komórek zwojowych oraz nerwu wzrokowego wykorzystując do tego celu badania elektrofizjologiczne: PVEP i PERG. Połączenie badań strukturalnych i funkcjonalnych znacząco pogłębiło wiedzę na temat różnic morfologicznych i funkcjonalnych włókien nerwowych siatkówki, nerwu wzrokowego pomiędzy dAMD i wAMD oraz wpływu ilości iniekcji anti-VEGF stosowanych w wAMD na grubość warstwy włókien nerwowych i komórek zwojowych siatkówki.

W związku z tym uważam, że ocena morfologii i funkcji włókien nerwowych siatkówki u pacjentów poddanych terapii anti-VEGF z powodu zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem ma wartość poznawczą i potencjalnie praktyczną.

Opracowanie wstępu ujawnia bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktorantki do realizacji pracy.

Przedstawiona praca do recenzji liczy 30 stron druku. Materiał ilustracyjny stanowią ryciny i tabele umieszczone w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską. W wykazie bibliograficznym zawarto aktualne piśmiennictwo na końcu każdego z 3 artykułów wchodzących w skład pracy doktorskiej (sumarycznie 159 prac zagranicznych) oraz dodatkowo 45 prac ujętych w części opisowej rozprawy doktorskiej.

Cele pracy były następujące:

1. Ocena morfologii włókien nerwowych siatkówki za pomocą optycznej koherentnej tomografii u pacjentów poddanych terapii anti-VEGF z powodu jednostronnej, wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem, oraz porównanie uzyskanych wyników z drugim, niewymagającym terapii anti-VEGF okiem pacjenta.
2. Ocena funkcji komórek zwojowych i włókien nerwowych siatkówki za pomocą testów elektrofizjologicznych (PERG, PVEP) u pacjentów poddanych terapii anti-VEGF z powodu jednostronnej, wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem, oraz porównanie uzyskanych wyników z drugim, niewymagającym terapii anti-VEGF okiem pacjenta.
3. Ocena, czy liczba otrzymanych iniekcji doszkliskowych anti-VEGF miała wpływ na badane parametry

Realizacje celów pracy Doktorantka przeprowadziła jasno i rzeczowo w kolejnych etapach pracy wykorzystując do tego celu wyniki zawarte w 3 publikacjach. Łączna punktacja prac - MEiN: 310, IF: 10.9. We wszystkich publikacjach Doktorantka była pierwszym autorem.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

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

Publikacja nr 1

Morphological and Functional Assessment of the Optic Nerve Head and Retinal Ganglion Cells in Dry vs Chronically Treated Wet Age-Related Macular Degeneration.

Celem tej publikacji było oszacowanie morfologiczne i funkcjonalne głowy tarczy nerwu wzrokowego i komórek zwojowych siatkówki u pacjentów z dAMD i przewlekle leczonych z powodu wAMD. (104 oczy 52 pacjentów, śr. wiek 73 lata). Analizowano grubość warstwy

komórek zwojowych, okołotarczowych RNFL, badano parametry funkcjonalne wykorzystując PVEP oraz PERG. Oceniano także, czy ilość iniekcji preparatów anti-VEGF (bevacizumab i/lub aflibercept i/lub ranibizumab) ma wpływ na w/w parametry. Wykazano brak istotnej statystycznie różnicy grubości zarówno warstwy komórek zwojowych siatkówki (GCL), jak i włókien nerwowych siatkówki (RNFL) między grupą badaną a kontrolną. Istotnym czynnikiem mającym negatywny wpływ na badane parametry okazał się wiek pacjenta. Parametry funkcjonalne okazały się gorsze w oczach leczonych niż kontrolnych: dłuższa latencja fali P100 w badaniu PVEP oraz mniejsza amplituda fali N95 w badaniu PERG. Liczba iniekcji nie miała jednak wpływu na żaden z badanych parametrów.

W dyskusji podjęto próbę interpretacji uzyskanych wyników oraz odniesienia ich do innych danych z literatury światowej. Zwrócono uwagę na możliwość wpływu ostrości wzroku na uzyskane wyniki, która okazała się gorsza w grupie leczonej niż w grupie kontrolnej (odpowiednio: $0,58 \pm 0,2$, $0,85 \pm 0,16$; tablice Snellena), co mogłoby sugerować cięższą postać makulopatii w oczach z wAMD. W celu zminimalizowania wpływu makulopatii na wyniki badań elektrofizjologicznych, podczas badań zastosowano wzorzec tzw. dużej szachownicy, co wg danych z literatury redukuje wpływ patologii dołka na uzyskane wyniki. **Należy zwrócić uwagę na fakt, że jest to jedno z nielicznych badań, które uwzględniały nie tylko badanie morfologiczne ale i funkcjonalne w ocenie włókien nerwowych siatkówki u pacjentów leczonych preparatami anti-VEGF z powodu wAMD, wykorzystując testy elektrofizjologiczne. W tej pracy uzyskano gorsze wyniki funkcjonalne włókien nerwowych siatkówki w oczach z wAMD w porównaniu z drugim okiem, przy jednoczesnym braku wpływu liczby otrzymanych iniekcji na uzyskane wyniki. Zwrócono uwagę na znaczenie badań elektrofizjologicznych, wskazujących na gorszą funkcję komórek zwojowych i nerwu wzrokowego u pacjentów z wAMD pomimo braku różnic w badaniach strukturalnych między grupą badaną i kontrolną.**

Publikacja nr 2

Examination of Inner Retinal Layers in Unilateral Wet Age-Related Macular Degeneration Treated with Anti-VEGF, Compared to Fellow Untreated Eyes.

Celem tej pracy była ocena morfologii włókien nerwowych i komórek zwojowych siatkówki (tj. wewnętrznych warstw siatkówki) w obszarze plamkowym w oczach z wAMD leczonych iniekcjami doszklistkowymi i porównanie uzyskanych wyników z przeciwległym okiem, niewymagającym terapii doszklistkowej lekami z grupy anti-VEGF.

Do badań włączono 53 osoby (106 oczu, średni wiek 73 lata), leczone iniekcjami anti-VEGF w Klinice Okulistyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z powodu wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem w jednym oku. Drugie, nieleczone oczy z niezaawansowaną postacią suchą AMD włączono do grupy kontrolnej. Wszystkie oczy z grupy badanej otrzymały przynajmniej jedną iniekcję preparatu anti-VEGF (bevacizumab i/lub aflibercept i/lub ranibizumab) przed wykonaniem badaniem.

W badaniu, zgodnie z uwagą recenzenta pierwszej publikacji, zastosowano manualną korekcję warstw siatkówki na wykonanych skanach OCT (46 z 106 skanów). Poddano

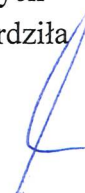
analizie grubości RNFL i GCL w obszarze plamki.: Poszukiwano różnic w tych warstwach między grupą badaną i kontrolną oraz analizowano wpływ innych parametrów, w tym liczby otrzymanych iniekcji, wieku, płci i ostrości wzroku na grubość warstwy włókien nerwowych siatkówki w obszarze plamkowym. W wynikach nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w RNFL między grupą badaną a kontrolną, a liczba otrzymanych iniekcji nie miała wpływu na uzyskane wyniki. Spośród analizowanych czynników tylko wiek powyżej 73 lat okazał się czynnikiem mającym wpływ na badany parametr. Warstwa GCL okazała się istotnie statystycznie cieńsza w oczach z postacią wysiękową AMD, w stosunku do grupy kontrolnej. W dyskusji podjęto próbę odniesienia uzyskanych wyników do innych danych dostępnych w literaturze - są podobne do tych otrzymanych w tej pracy. Zwrócono także uwagę na możliwość wpływu samej choroby, w tym obecności obrzęku siatkówki na badany parametr. W ocenie GCC również inni autorzy uzyskali podobne wyniki. Ścieńczenie warstwy komórek zwojowych siatkówki w omawianej pracy może mieć związek z niższą ostrością wzroku w badanej grupie w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio: $0,58 \pm 0,2$ i $0,84 \pm 0,2$), co przy braku wpływu tego parametru na najbardziej wewnętrzną warstwę siatkówki, tj. RNFL, może potwierdzać pierwotne uszkodzenie bardziej zewnętrznych warstw siatkówki, w tym fotoreceptorów w wAMD.

Ponadto wykazano, że leczenie anti-VEGF przynajmniej w krótkim okresie czasu jest bezpieczne i nie ma negatywnego wpływu na warstwę włókien nerwowych siatkówki w oczach z AMD. Podkreślono jednak, że potrzebne są długoterminowe obserwacje, aby lepiej zrozumieć wpływ leczenia anti-VEGF na grubość włókien nerwowych siatkówki w wysiękowej postaci AMD.

Publikacja nr 3

The Safety of Anti-VEGF Treatment, in the Context of the Retinal Nerve Fibre Layer, in Patients with Wet Age-Related Macular Degeneration: A Review.

Celem tej pracy było usystematyzowanie aktualnej wiedzy na temat patofizjologii i leczenia zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem ze szczególnym uwzględnieniem morfologii włókien nerwowych siatkówki u pacjentów chorych na wysiękową postać zwyrodnienia plamki, leczonych iniekcjami dożłokowymi anti-VEGF. Przedstawiono dane wskazujące na to, że inhibicja czynnika VEGF może mieć działanie apoptotyczne na komórki siatkówki w mechanizmie niezależnym od unaczynienia, a także że może upośledzać ortodromowy transport aksonalny w drodze wzrokowej, prowadząc do uszkodzenia aksonów i wtórnej utraty komórek nerwowych siatkówki. Dokonano przeglądu publikacji z okresu 2000- 2023, przeszukując bazy danych Google Scholar i PubMed. Zwrócono uwagę na problem z dostępnością randomizowanych badań w analizowanej dziedzinie, z uwagi na problemy etyczne wynikające z zaniechania leczenia oczu z wAMD w potencjalnej grupie kontrolnej. Większość cytowanych badań porównywała warstwę włókien nerwowych siatkówki w oczach z wAMD do oczu towarzyszących, z suchą niewymagającą leczenia postacią AMD. Analizowane badania podzielono ze względu na lokalizację ocenianych włókien nerwowych – okołotarczową (pRNFL) i plamkową (RNFL). Większość badaczy potwierdziła



bezpieczeństwo leków anti-VEGF, nie stwierdzając ścięczenia RNFL w oczach leczonych. Jednakże Wang i wsp. zauważyli, że wpływ terapii może ujawnić się dopiero w przypadku otrzymania większej ilości iniekcji (Lee i wsp. powyżej 30). Przeprowadzone dotychczas badania poddano krytycznej ocenie, z uwagi na liczne czynniki jednoznacznie utrudniające porównanie wyników prezentowanych badań. Zwrócono uwagę m.in. na różnice w konstrukcji badań, małe grupy badawcze, a także na dodatkowe czynniki mogące mieć wpływ na uzyskane wyniki, jak możliwość wpływu leczenia doszklistkowego na przeciwległe oko drogą krążenia ogólnego czy też różnice w zastosowanych aparatach OCT.

We wnioskach pracy podkreślono, że ze względu na niespójne wyniki dotychczasowych badań potrzebne są dalsze obserwacje i badania oceniające wpływ anti-VEGF na włókna nerwowe siatkówki u pacjentów leczonych z powodu wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki związanej z wiekiem.

Wyniki oraz ich omówienie przedstawione w 3 kolejnych pracach zostały opracowane czytelnie i zrozumiale. Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano właściwe i konkretne wnioski. Są odpowiedzią na założone cele pracy.

WNIOSKI

1. Postać zwyrodnienia plamki związanej z wiekiem (sucha lub wysiękowa) nie miała wpływu na grubość warstwy włókien nerwowych siatkówki w badanej grupie chorych.
2. Funkcja włókien nerwowych siatkówki i komórek zwojowych siatkówki jest gorsza w oczach z wysiękową postacią AMD niż w kontralateralnych oczach z suchą, niezaawansowaną postacią AMD w badanej grupie pacjentów.
3. Liczba otrzymanych iniekcji doszklistkowych anti-VEGF nie miała wpływu na grubość warstwy włókien nerwowych i komórek zwojowych siatkówki w badanej grupie chorych, co sugeruje bezpieczeństwo terapii w stosunku do nerwu wzrokowego leczonego oka.
4. Jako dodatkowy wniosek zaobserwowano, że wiek okazał się czynnikiem wpływającym na ścięczenie warstwy włókien nerwowych i komórek zwojowych siatkówki.

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

Podsumowując, recenzowana praca jest oryginalnym i nowatorskim dorobkiem naukowym Doktoranta . Poszerza wiedzę na temat zmian w komórkach zwojowych oraz włóknach nerwowych siatkówki występujących u chorych na AMD oraz w procesie ich leczenia.



Mam zaszczyt zwrócić się do Kapituły Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o uznanie pracy pt.: „Ocena morfologii i funkcji włókien nerwowych siatkówki u pacjentów poddanych terapii anti-VEGF z powodu zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem” za spełniające warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz.1668 i dopuszczenie lekarz medycyny Małgorzaty Wichrowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie pracy doktorskiej.

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński

