

lek. Ewa Sikorska

Rola czynników neuroprotekcyjnych w patogenezie wybranych chorób oczu

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki
medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Agnieszka Cudnoch-Jędrzejewska

Promotor pomocniczy: dr n. med. Kaja Kasarełło

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego
Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023 r.

Streszczenie

Wzrok to jeden z najważniejszych zmysłów, a jego pogorszenie lub utrata wiąże się ze znacznym spadkiem jakości życia. Ślepotą jest konsekwencją wielu chorób oczu, takich jak zaćma, jaskra, nieskorygowana wada refrakcji, zwyrodnienie plamki żółtej związane z wiekiem, czy też retinopatia cukrzycowa. Wyniki leczenia są satysfakcjonujące jedynie w przypadku zaćmy i wad refrakcji, natomiast terapie jaskry, zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem oraz retinopatii cukrzycowej stanowią nadal istotne wyzwanie kliniczne. Patologie te należą do grupy chorób neurodegeneracyjnych, których istotą jest nieodwracalne uszkodzenie neuronów siatkówki. Według najnowszych doniesień procesy neurodegeneracyjne zachodzą również w przebiegu retinopatii nadciśnieniowej. W pracy doktorskiej skupiłam się na badaniach dotyczących patomechanizmów chorób o podłożu neurodegeneracyjnym, a w szczególności zaangażowaniu w tym procesie białek neuroprotektoryjnych, odpowiedzialnych za ochronę neuronów przed śmiercią.

Jaskra to heterogenna grupa chorób prowadzących do neuropatii nerwu wzrokowego. W jej przebiegu w siatkówce dochodzi do utraty komórek zwojowych siatkówki, zmniejszenia warstwy włókien nerwowych siatkówki i pojawienia się zagłębienia w obrębie tarczy nerwu wzrokowego.

Przewlekłe nadciśnienie tętnicze prowadzi do zmian struktury i czynności naczyń krwionośnych oraz ich przebudowy, przyczyniając się do rozwoju retinopatii nadciśnieniowej. W jej przebiegu wyróżnić można fazę wazokonstrykcji, sklerotyzacji, wysiękową oraz neuroretinopatii. Choć retinopatia nadciśnieniowa jest znana przede wszystkim jako choroba naczyń, w piśmiennictwie pojawiają się doniesienia o udziale i roli procesów neurodegeneracyjnych już we wczesnych fazach tej choroby.

W cukrzycy, hiperglikemia prowadzi do uszkodzenia komórek naczyń, co przyczynia się do zmiany ich morfologii oraz wzrostu ich przepuszczalności prowadzącego w efekcie do rozwoju retinopatii cukrzycowej. Wyróżnić można następujące stadia retinopatii cukrzycowej: łagodną retinopatię nieproliferacyjną, ciężką retinopatię nieproliferacyjną oraz retinopatię proliferacyjną. W wyniku zaburzeń unaczynienia siatkówki dochodzi do uszkodzenia jej struktury oraz komórek nerwowych.

Leczenie jaskry, retinopatii nadciśnieniowej i cukrzycowej ograniczone jest do modyfikacji czynników ryzyka – obniżenia wartości ciśnienia śródgałkowego, ciśnienia tętniczego, czy też glikemii. Dlatego też, poszukuje się nowych, skutecznych terapii. Białkami, które mają potencjalną rolę w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych siatkówki są czynniki neuroprotekcyjne, do których należą między innymi neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (*ang. Brain-Derived Neurotrophic Factor*; BDNF) oraz czynnik wzrostu nerwów (*ang. Nerve Growth Factor*; NGF). Ich rola w procesie jaskry, retinopatii nadciśnieniowej i cukrzycowej nie została jednak ostatecznie wyjaśniona.

Głównym celem pracy doktorskiej była ocena zmiany poziomu białek neuroprotekcyjnych BDNF i NGF oraz wyjaśnienie ich potencjalnej roli w patogenezie chorób przebiegających z neurodegeneracją siatkówki (jaskra, retinopatia nadciśnieniowa i cukrzycowa).

Do badań przeprowadzonych w ramach pracy doktorskiej wykorzystano zwierzęce modele chorób oczu. Modelem jaskry stanowiły myszy szczepu DBA/2 spontanicznie rozwijające jaskrę barwnikową, modelem nadciśnienia tętniczego – szczury szczepu SHR spontanicznie rozwijające nadciśnienie tętnicze, a modelem cukrzycy – szczury szczepu Lewis z cukrzycą typu 1 indukowaną poprzez dootrzewnowe podanie streptozotocyny. Do wszystkich grup doświadczalnych dobrano odpowiednie grupy kontrolne. U zwierząt wykonywano badania przyżyciowe – obrazowanie dna oka z pomiarem stosunku średnicy tętnic do średnicy żył, pomiar ciśnienia śródgałkowego, ciśnienia tętniczego (w modelu nadciśnienia tętniczego) oraz glikemii (w modelu cukrzycy). Ponadto od zwierząt po uśmierceniu pobrano krew i gałki oczne, które poddano dalszym analizom. Wykonano analizę histopatologiczną siatkówki (pomiar grubości siatkówki i jej warstw, ocena liczby komórek zwojowych siatkówki) oraz analizę immunoenzymatyczną z oznaczeniem poziomu BDNF i NGF w surowicy oraz homogenacie gałek ocznych. Wyniki wszystkich oznaczeń zostały porównane między grupami doświadczalnymi i kontrolnymi. Ponadto, zostały policzone korelacje badanych parametrów.

U myszy szczepu DBA/2 potwierdzono rozwój jaskry na podstawie podwyższonych wartości ciśnienia śródgałkowego, a mniejsza liczba komórek zwojowych siatkówki i spadek grubości siatkówki wskazywała na toczący się proces neurodegeneracyjny. U myszy z jaskrą zaobserwowano tendencję do wzrostu poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej wraz z wiekiem oraz niższe poziomy BDNF i NGF w gałce ocznej myszy z jaskrą, niż u odpowiadających im wiekiem myszy zdrowych.

U szczurów z nadciśnieniem tętniczym nie rozpoznano retinopatii nadciśnieniowej charakteryzującej się zaburzeniem unaczynienia siatkówki, obserwowano natomiast istotnie wyższy poziom BDNF w gałce ocznej i surowicy oraz NGF w gałce ocznej w porównaniu z grupą kontrolną szczurów szczepu nierozwijającego nadciśnienia tętniczego. Wyższy poziom NGF w gałce ocznej korelował z większą grubością warstwy jądrazastej wewnętrznej siatkówki.

U szczurów z cukrzycą rozpoznano retinopatię cukrzycową na podstawie poszerzenia żył siatkówki (wzrost wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka). W analizie immunoenzymatycznej zaobserwowano niższy poziom BDNF w surowicy szczurów z cukrzycą niż u szczurów kontrolnych. Ponadto, u chorych zwierząt wystąpiła bardzo silna korelacja wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka i poziomu NGF w surowicy.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono: (i) skuteczność wywołania modeli badanych chorób; (ii) obecność zmian neurodegeneracyjnych siatkówki w przebiegu jaskry i cukrzycy; (iii) zmiany poziomu BDNF i NGF w tkankach badanych zwierząt (obniżenie poziomu białek w gałce ocznej w jaskrze, wzrost poziomu NGF w gałce ocznej w nadciśnieniu tętniczym, spadek poziomu BDNF w surowicy w cukrzycy).

Podsumowując, wykazano zaangażowanie BDNF i NGF w patomechanizmy związane z rozwojem patologii siatkówki w przebiegu jaskry, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy. Dlatego też moja praca doktorska stanowi uzupełnienie dotychczasowej wiedzy na temat roli czynników neuroprotekcyjnych (BDNF, NGF) w patogenezie chorób oczu.