

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński
Kierownik II Katedry i Kliniki Okulistyki
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Recenzja

Rozprawy doktorskiej lekarza medycyny Magdaleny Kupis pt.: „Ocena zmian w gęstości i morfologii czopków, stanu naczyń siatkówki w czasie trwania cukrzycy z zastosowaniem technologii optyki adaptatywnej”

Promotor: prof. dr hab. Jacek P. Szaflik.

Cukrzyca to grupa zaburzeń metabolicznych, charakteryzująca się przewlekłą hiperglikemią. Nieprawidłowa glikemia w przebiegu tej choroby przyczynia się do rozwoju mikro i makroangiopatii, neuropatii oraz zmian wielonarządowych.

Na całym świecie występuje stały wzrost zachorowalności na cukrzycę, a choroba jest powszechnie nazywana globalną epidemią. W 2019 roku Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna oszacowała, iż w ciągu 25 lat liczba chorych wzrośnie z 463 do 700 milionów. Szacuje się, iż w 2030 roku grupa pacjentów z rozpoznaniem cukrzycowym obrzękiem plamki żółtej (ang. Diabetic macular edema – DME) wyniesie 24 miliony .

Do wzrostu zachorowań przyczynia się rosnąca przeciętna długość życia globalnej populacji. Nieodwracalnym skutkiem większej zapadalności na cukrzycę są rosnące koszty leczenia, które istotnie obciążają światowe systemy zdrowotne.

Według danych Narodowego Funduszu Zdrowia w 2018 roku w Polsce było 2,86 miliona dorosłych ze zdiagnozowaną cukrzycą i ma tendencję wzrostową.

Retinopatia cukrzycowa (ang. Diabetic retinopathy- DR) jest jednym z najczęstszych powikłań cukrzycy. Pacjenci z dobrze kontrolowaną glikemią mogą utrzymać ostrość wzroku na zadowalającym poziomie. Niestety, utrzymująca się nieprawidłowa glikemia i rosnąca insulino oporność powodują, iż retinopatia cukrzycowa jest jedną z głównych przyczyn ślepoty ludzi aktywnych zawodowo . Według literatury całkowita utrata widzenia dotyka co 10 pacjenta z rozpoznaniem DR.

Mechanizmy powstawania cukrzycowych zmian na dnie oka są przedmiotem wieloletnich badań, pomimo to patofizjologia retinopatii cukrzycowej pozostaje nadal nie do końca wyjaśniona.

Diagnostyka i obserwacja progresji zmian siatkówkowych u pacjentów z cukrzycą oparta jest na rutynowym badaniu dna oka w lampie szczelinowej oraz okresowym wykonywaniu zdjęć.

Do badań dodatkowych, przydatnych w diagnostyce zmian cukrzycowych siatkówki, zaliczamy optyczną koherentną tomografię (ang. Optical coherence tomography-OCT), angiografię fluoresceinową oraz mało rozpowszechnioną optykę adaptacyjną.

Złotym standardem diagnostycznym w cukrzycowym obrzęku siatkówki jest badanie OCT. OCT w domenie spektralnej (SD-OCT) pozwala na dokładną ocenę struktury zewnętrznych warstw siatkówki. Polaryzacyjna optyczna koherentna tomografia (ang. Polarization-sensitive optical coherence tomography-PS-OCT) umożliwia precyzyjne oszacowanie stanu RPE.

Bardzo dokładnym narzędziem diagnostycznym, oceniającym dno oka u pacjentów cukrzycowych, jest angiografia fluoresceinowa (FA). Badanie obrazuje przesłki i krwotoki jako ogniska hiperfluorescencyjne. Jednak FA jest związana z ryzykiem wystąpienia powikłań ogólnych.

Nową technologią, stosowaną do oceny zmian naczyniowych w retinopatii cukrzycowej, jest angiografia optycznej koherentnej tomografii- angio-OCT (ang. Optical coherence tomography angiography- OCTA). W odróżnieniu od standardowej angiografii fluoresceinowej, OCTA jest nieinwazyjnym, łatwym do wykonania badaniem, niewymagającym użycia dożylnego środka kontrastującego.

Angio-OCT obrazuje przepływ krwi w powierzchniowym i głębokim splocie naczyniowym, na poziomie warstw zewnętrznych siatkówki oraz w choriokapilarach. OCTA pozwala uwidocznić zmiany typowe dla retinopatii cukrzycowej, takie jak mikrotętniaki, śródsiatkówkowe nieprawidłowości oraz proliferacje naczyniowe. OCTA umożliwia także pomiar średniego pola powierzchni dołkowej strefy beznaczyniowej (foveal avascular zone – FAZ), ulegającej powiększeniu w przebiegu DR.

Technologią, która znalazła zastosowanie w prewencji i obserwacji retinopatii cukrzycowej, jest optyka adaptacyjna (ang. Adaptive optics- AO). AO wykorzystuje system lustro z plastyczną powierzchnią, modelowaną za pomocą czujników elektromagnetycznych, a zmiana kształtu zwierciadła pozwala na niwelację aberracji czoła fali w trakcie przeprowadzania badania. Jednym z urządzeń, wykorzystujących innowacyjną metodę AO, jest aparat rtx1TM (Imagine Eyes, Orsay, France). Rtx1TM używa wiązkę światła podczerwieni (o długości fali 850nm) i jest najdokładniejszym urządzeniem, obrazującym siatkówkę z rozdzielczością wynoszącą 1,6 μm . Rtx1TM w sposób szybki i nieinwazyjny ocenia mikrostrukturę siatkówki- pojedyncze fotoreceptory, blaszkę sitową, mikrokrwotoki, mikroprzesłki, depozyty, obszary zanikowe siatkówki. Oprogramowanie urządzenia dokonuje analizy zobrazowanych komórek i pozwala stworzyć mapy gęstości i rozmieszczenia fotoreceptorów. Pomiarzy znajdują zastosowanie w licznych chorobach siatkówki, takich jak: zwyrodnienie barwnikowe siatkówki, choroba Stargarda, dystrofia czopkowa, achromatopsja, choroba Besta, dystrofia Bietiego, chorioideremia. Ponadto analiza fotoreceptorów jest pomocna w diagnostyce i obserwacji progresji zmian polekowych- retinopatii hydroksychlorochinowej czy talkowej, a także zmian poporoniennych.

Analiza zdjęć wykonanych przy pomocy rtx1TM pozwala obliczyć z dużą dokładnością średnicę, grubość ścian naczyń, co może być przydatne nie tylko w monitorowaniu cukrzycy, ale także innych chorób

przewlekłych, takich jak nadciśnienie czy choroby zapalne naczyń. Aparat rtx1TM obrazuje zmiany morfologii siatkówki, zachodzące na bardzo wczesnym etapie retinopatii cukrzycowej, niemożliwe do uchwycenia przy pomocy żadnej innej technologii. Zdjęcia wykonane tym urządzeniem pozwalają uwidocznąć mikro tętniaki, mikroskopowe krwotoczki, komórki krwi, a także mikrostrukturę wysięków twardych. Analiza mikrounaczynienia siatkówki, precyzyjne obrazowanie mozaiki pojedynczych komórek siatkówki wraz z oceną ich gęstości i regularności służą do oceny progresji retinopatii cukrzycowej. Wyniki badań udowodniły skuteczność aparatu rtx1TM w uwidocznieniu zmian na poziomie mikrounaczyniowym i foto receptorowym zarówno w cukrzycy bez cech retinopatii cukrzycowej, jak i w stanie przed cukrzycowym. Wczesna diagnostyka nieprawidłowości siatkówkowych przy pomocy optyki adaptatywnej może przyczynić się do skuteczniejszego leczenia i zapobieżenia dalszej progresji choroby.

Podstawową metodą leczenia retinopatii cukrzycowej jest utrzymywanie prawidłowego poziomu glikemii. Wcześnie wprowadzone leczenie hipoglikemizujące zmniejsza zarówno ryzyko progresji zmian na dnie oka, jak i powikłań wielonarządowych. Rekomendacje Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (ang. American Diabetes Association- ADA) zalecają utrzymanie poziomu hemoglobiny glikowanej (HbA1c) poniżej 7%. Istotne też jest monitorowanie ciśnienia tętniczego oraz parametrów lipidowych. W terapii retinopatii cukrzycowej rutynowo stosuje się fotokoagulację siatkówki oraz iniekcje doszkliskowe przeciwciał anti-VEGF. Zastosowanie lasera- zarówno argonowego, jak i ksenonowego- jest powszechne w leczeniu PDR. Fotokoagulacja siatkówki hamuje progresję choroby, zmniejszając ryzyko ślepoty. Niestety nie jest pozbawiona działań niepożądanych.

Terapią pierwszego rzutu cukrzycowego obrzęku plamki są preparaty anti-VEGF- aflibercept, ranibizumab, zarejestrowane i dopuszczone w Polsce w terapii DME i PDR, natomiast bevacyzumab jest stosowany „off-label”- na własną odpowiedzialność lekarza. W 2022 roku Komisja Europejska zatwierdziła dwa nowe leki w terapii DME- brolicizumab i faricimab. Trwają badania nad innymi, doszkliskowymi preparatami. Pozytywne doniesienia co do skuteczności dotyczą wysokich dawek afliberceptu (8mg) czy terapii genowej, czynnikami takimi jak RGX-314 i ADVM-022. Bezpieczeństwo długotrwałej terapii wymaga dalszych badań.

Podawanie steroidów do ciała szklistego jest rzadziej używaną metodą farmakoterapii retinopatii cukrzycowej. Potencjalny wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz wpływ na tworzenie się zmętnień w soczewce ograniczają użyteczność terapii steroidowej. Triamcynolon jest podawany do komory ciała szklistego „off-label” w przypadku nieskuteczności terapii laserowej w rozlanym obrzęku plamki żółtej. Zarejestrowane do leczenia DME biodegradowalne implanty, uwalniające doszkliskowo dexamethason oraz fluocynolon, są alternatywą dla triamcynolonu.

Chirurgia retinopatii cukrzycowej oparta jest przede wszystkim na witrektomii. Zabieg ma zastosowanie w terapii PDR. Zasadność witrektomii w przypadku DME pozostaje kontrowersyjna.

Terapia genowa, leczenie z wykorzystaniem mezenchymalnych komórek macierzystych, terapia antyoksydantami (np. kurkumina) czy N-acetylocysteiną- to przykłady innowacyjnego postępowania w leczeniu cukrzycowych zmian na dnie oka. Wymienione metody wymagają dodatkowej weryfikacji, celem oceny ich skuteczności i bezpieczeństwa.

Opracowanie wstępu ujawnia bardzo dobre przygotowanie teoretyczne Doktoranta do realizacji celów pracy. Usystematyzowana wiedza zawarta we wstępie dotycząca epidemiologii, klasyfikacji,

patofizjologii, diagnostyki oraz leczenia retinopatii cukrzycowej pozwala na łatwą analizę merytoryczną kolejnych rozdziałów.

Przedstawiona praca do recenzji ma układ prawidłowy dla prac doktorskich i liczy 85 stron druku i składa się z 4 rozdziałów. Materiał ilustracyjny stanowią ryciny i tabele umieszczone w publikacjach stanowiących rozprawę doktorską. W wykazie bibliograficznym zawarto aktualne piśmiennictwo na końcu każdego z 4 artykułów wchodzących w skład pracy doktorskiej oraz w rozdziale Bibliografia (107 prac zagranicznych i 7 polskich).

Cele pracy były następujące:

- 1) omówienie patofizjologii retinopatii cukrzycowej
- 2) analiza korelacji morfologii siatkówki z wartością wskaźnika masy ciała (ang. Body mass index-BMI) – badania z zastosowaniem techniki optyki adaptywnej
- 3) ocena zmian morfologii siatkówki w czasie trwania cukrzycy przy pomocy technik optyki adaptywnej
- 4) analiza korelacji zmian morfologii siatkówki ze zmianą ostrości wzroku i centralnej grubości siatkówki w czasie trwania cukrzycy
- 5) omówienie metod leczenia retinopatii cukrzycowej

Realizację celów pracy Doktorantka przeprowadziła jasno i rzeczowo w kolejnych etapach pracy wykorzystując do tego celu wyniki zawarte w 4 publikacjach: 3 o łącznym IF= 6,874, jednej publikacji bez IF. łączna punktacja MNiSW publikacji stanowiących rozprawę doktorską wynosiła 250. W 3 publikacjach Doktorantka był pierwszym autorem, w jednej trzecim autorem.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym.

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

Publikacja nr 1. „Introduction to pathophysiology of diabetic retinopathy”

Celem tej pracy poglądowej było opisanie mechanizmów rozwoju choroby wraz z analizą możliwych zależności między poszczególnymi szlakami patogenezy co może służyć opracowaniu skutecznej terapii zmian cukrzycowych na dnie oka.

Publikacja nr 2. „The Relation between Body Mass Index and Retinal Photoreceptor Morphology and Microvascular Changes Measured with Adaptive Optics (rtx1) High-Resolution Imaging”

Celem artykułu była analiza wpływu wartości wskaźnika masy ciała- BMI na morfologię siatkówki. Do oceny komórek receptorowych- czopków i zmian mikronaczyniowych zastosowano kamerę rtx1TM, posługującą się techniką optyki adaptywnej.

Grupa badana liczyła 28 kobiet- 11 z nich miało stwierdzoną nadwagę (BMI >25 kg/m² < 29.9 kg/m²), a 16 otyłość (BMI >30 kg/m²). Grupę kontrolną tworzyło 19 kobiet z BMI < 25 kg/m².

Publikacja nr 3. „Retinal Photoreceptors and Microvascular Changes in the Assessment of Diabetic Retinopathy Progression: A Two-Year Follow-Up Study”

Celem artykułu była ocena zmian w gęstości i morfologii czopków, stanu naczyń siatkówki w czasie trwania cukrzycy. Do badania wykorzystano nowoczesny aparat rtx1TM, wykorzystujący technologię optyki adaptatywnej. Analizowano korelację zmian mikrostruktury siatkówki ze zmianami ostrości wzroku i centralnej grubości siatkówki. Do randomizowanego badania włączono 50 pacjentów z rozpoznaną cukrzycą (typ 1 lub 2) oraz 18 zdrowych osób, tworzących grupę kontrolną. Końcowa grupa badana liczyła 41 osób. Warunkiem włączenia do badania był wiek 25-75 lat.

Publikacja nr 4. „Novel therapies for diabetic retinopathy”

Celem tej pracy poglądowej było przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat możliwości leczenia retinopatii cukrzycowej.

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

.....

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano właściwe i konkretne wnioski zawarte w każdej z opublikowanych prac. Są odpowiedzią na założone cele pracy. **Według recenzenta w celu przedstawienia czytelnej odpowiedzi na założone cele pracy doktorskiej wnioski powinny być przedstawione osobno, a nie tylko w poszczególnych artykułach.**

Publikacja nr 1

Zmniejszenie siatkówkowego przepływu krwi jest jednym z pierwszych zjawisk obserwowanych w przebiegu cukrzycy. Przewlekłe niedotlenienie wraz z hiperglikemią warunkują powstanie retinopatii cukrzycowej poprzez wpływ na liczne szlaki i układy. Wzrost aktywności szlaku sorbitolu, zwiększenie nieenzymatycznej glikacji białek, wzrost aktywności szlaku diacyloglicerolu i kinazy białkowej C (ang. protein kinase C – PKC), nadprodukcja czynników wzrostu (czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego- VEGF i insulinopodobny czynnik wzrostu (ang. insulin-like growth factor – IGF-1)), zmiany hemodynamiczne, nasilenie stresu oksydacyjnego, aktywacja układu renina–angiotensyna–aldosteron, subkliniczne zapalenie wraz z leukostazą- to mechanizmy odgrywające rolę w patogenezie retinopatii cukrzycowej. Szczegółowa analiza wyżej wymienionych patomechanizmów jest przedmiotem licznych badań, będących nadzieją dla nowych terapii retinopatii cukrzycowej.

Publikacja nr 2

W tej pracy wykazano, że średni wymiar światła, jak i całego naczynia nie jest istotnie zależny od wartości BMI. U osób z nadwagą lub otyłością obserwuje się wczesne objawy patologii naczyniowej, takie jak, zwiększona grubość ściany naczynia lub zwiększony współczynnik WLR (ang. Wall-to-lumen ratio).

Udowodniono, iż w grupie badanej (pomimo wcześniejszego wykluczenia nadciśnienie tętniczego w wywiadzie) średnie wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego były znacząco wyższe w porównaniu do pacjentów z prawidłowym BMI. Zmiany mikronaczyniowe,

obserwowane w otyłości, są czynnikiem predysponującym do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Badanie przeprowadzone w toku przewodu doktorskiego wykazało, że podwyższony poziom BMI i nadciśnienie tętnicze doprowadzają do podobnego remodellingu naczyń siatkówkowych. **Patologia mikronaczyniowa siatkówki, zobrazowana w grupie pacjentów z otyłością, odpowiada odchyleniom obserwowanym w stanie przed cukrzycowym**. Wczesna analiza mikrostruktury siatkówki w otyłości może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka rozwoju groźnych powikłań naczyniowych.

Publikacja nr 3

Wykazano, wykorzystując technologię optyki adaptatywnej, że gęstość czopków pacjentów z cukrzycą była istotnie mniejsza niż w grupie kontrolnej. Udowodniono, że rozpoznanie cukrzycy wpływa na parametry czopków- w tym regularność czy międzyfotoreceptorowe odstępy. Zaobserwowano różnice w morfologii naczyń pacjentów cukrzycowych i zdrowych osób. **Godny uwagi jest fakt, że nikt wcześniej nie porównywał jednocześnie zmian foto receptorowych i mikronaczyniowych, zachodzących w toku trwania cukrzycy.** W 2-letniej obserwacji parametry czopkowe uległy większym zmianom w grupie badanej niż grupie kontrolnej. Wykazano istotne zwiększenie grubości ścian naczyń i WLR w toku trwania choroby. Badano oddziaływanie zmian ostrości wzroku, poziomu glukozy, hemoglobiny glikowanej (HbA1c), BMI oraz wieku na parametry foto receptorowe i naczyniowe. Udowodniono, iż większość wymienionych czynników pozostawała bez wpływu na wyniki obserwacji prowadzonych za pomocą rtx1TM. Niemniej jednak, w grupie badanej zauważono korelację spadku gęstości czopków z pogorszeniem ostrości wzroku.

Publikacja nr 4

Zwrócono szczególną uwagę na terapię genową. Terapia genowa, hamująca neowaskularyzację, wykorzystuje intrareceptor anty-VEGF-Flt23k, kwasy mikrorybonukleotydowe (mi-RNA), cząsteczki mediowane wirusami zależnymi od adenowirusów (ang. Adeno-associated viruses-AAV) zawierające czynnik pochodzący z nabłonka barwnikowego siatkówki (ang. Pigment epithelium derived factor-PEDF). Inna, alternatywna terapia retinopatii cukrzycowej bazuje na wykorzystaniu potencjalnej regeneracji komórek nabłonka barwnikowego siatkówki z zastosowaniem mezenchymalnych komórek macierzystych. Dotychczasowe badania na szczurach wykazały, że pochodzące ze szpiku kostnego komórki macierzyste (ang. Bone marrow mesenchymal stromal cells- BMSCs) przyspieszają regenerację RPE. Zahamowanie progresji retinopatii cukrzycowej zaobserwowano także po zastosowaniu inhibitorów kotransportera glukozy-sodowego 2 oraz po przeszczepie wysepek trzustkowych. **Jaki zauważyli autorzy, analizę skuteczności tych terapii oparto na badaniach nierandomizowanych lub z wykorzystaniem zwierząt, dlatego wymagają one dalszej weryfikacji w przyszłości u ludzi.**

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 . Poszerza wiedzę na temat zmian okulistycznych występujących u chorych na cukrzycę.

Mam zaszczyt zwrócić się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o uznanie pracy pt. „Ocena zmian w gęstości i morfologii czopków, stanu

naczyń siatkówki w czasie trwania cukrzycy z zastosowaniem technologii optyki adaptatywnej” za spełniające ustawowe wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych i dopuszczenie lek. med. Magdaleny Kupis do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie pracy.

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński

Wniosek

Recenzowana praca lekarz medycyny Magdaleny Kupis jest oryginalnym i nowatorskim dorobkiem naukowym Doktoranta, o potencjalnych możliwościach zastosowania w okulistycznej praktyce klinicznej. Poszerza wiedzę na temat zmian okulistycznych u chorych na cukrzycę. Mając na uwadze fakt, że poruszane w pracy doktorskiej zagadnienia i ich opracowanie znalazły uznanie w recenzowanych czasopiśmie polskich i zagranicznych wnioskuje o jej wyróżnienie „summa cum laude”

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Lubiński

