



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

KATEDRA I KLINIKA OKULISTYKI

Kierownik : Prof. dr hab. n. med. Marta Misiuk-Hojło

Sekretariat Kliniki tel. 71 736-43-00

fax. 71 736-43-09

e-mail: kio@usk.wroc.pl adres strony internetowej: <http://www.okulist.am.wroc.pl>

OCENA

rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu

lek. Ewy Sikorskiej

pt.: „Rola czynników neuroprotektoryjnych w patogenezie wybranych chorób oczu”

Pomysł terapeutyczny, który dziś nazwalibyśmy neuroprotekcją, został zaproponowany przez dr Bernarda Beckera na początku lat 70. XX wieku, który zasugerował stosowanie leku przeciwpadaczkowego fenytoiny w leczeniu jaskry. Pierwsze eksperymenty okulistyczne przeprowadził Tso, który próbował zastosować askorbinian w leczeniu uszkodzenia siatkówki. Termin „neuroprotekcja” został po raz pierwszy użyty w 1987 r. do opisanego wpływu MK-801 na niedokrwienie mózgu, a pierwszą uzasadnioną sugestią dotyczącą zastosowania tej techniki w celu złagodzenia neuropatii jaskrowej przedstawił Schwartz w 1996 roku.

Przez cały ten okres, aż do dnia dzisiejszego, nieustannie podejmuje się wysiłki mające na celu przełożenie ogromnej wiedzy naukowej zebranej w ciągu ostatnich dziesięcioleci na temat neuroprotekcji na kliniczną rzeczywistość terapeutyczną. W ramach badań mających na celu opracowanie leków neuroprotektoryjnych na choroby nerwowe, setki związków poddano testom przedklinicznym, osiągnięto wyniki w badaniach klinicznych, a wiele z nich przeszło do testów III fazy. Biomarkery umożliwiające przewidywanie zmieniających się warunków fizjologicznych w okresie poprzedzającym wystąpienie choroby oczu miałyby ogromne znaczenie w terapii. Izolacja i walidacja biomarkerów specyficznych dla chorób oczu jest jednak trudnym zadaniem.

Jaskra, cukrzyca i nadciśnienie tętnicze należą do chorób cywilizacyjnych, których przebieg może prowadzić do ślepoty lub poważnego uszkodzenia wzroku obniżającego w sposób istotny jakość życia pacjentów. Ich wieloczynnikowy przebieg powoduje, że w chwili obecnej często rozpoczynamy leczenie jaskry w zaawansowanym stadium uszkodzenia nerwu wzrokowego, u pacjentów z cukrzycą w stadium zagrażającym utratą widzenia centralnego, a pacjenci z

nadciśnieniem tętniczym w chwili spotkania z okulistą zmagają się z powikłaniami zakrzepów i udarów.

W świetle powyższych trudności diagnostycznych i terapeutycznych, zadania badawcze jakie wytyczyła sobie w pracy doktorskiej lek. Ewa Sikorska, są niezwykle aktualne, a poszukiwanie narzędzi do diagnostyki wczesnego wykrywania jaskry oraz zapobiegania procesom neurodegeneracyjnym siatkówki niezwykle potrzebne.

Głównym celem Doktorantki była ocena zmiany poziomu białek neuroprotektoryjnych: neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) i czynnika wzrostu nerwów (NGF) na modelach zwierzęcych oraz wyjaśnienie ich potencjalnej roli w patogenezie chorób przebiegających z neurodegeneracją siatkówki (jaskrą, retinopatią nadciśnieniową i cukrzycową).

Charakterystyka ogólna pracy

Rozprawa liczy 164 strony i składa się ze spisu rycin, wykazu stosowanych skrótów oraz następujących rozdziałów: wstępu, celów pracy, materiału i metodyki badań, wyników, dyskusji, wniosków i podsumowania. Zawiera także streszczenie w j. polskim i angielskim, piśmiennictwo, które liczy 287 pozycji, 16 tabel oraz 46 rycin, wśród których znajdują się zdjęcia dna oka badanych zwierząt oraz preparaty histologiczne.

Praca jest przejrzysta i starannie napisana, posiada bogatą dokumentację fotograficzną z wykonanych doświadczeń i czytelne schematy przeprowadzonych badań.

Wstęp pracy obejmuje zarówno ogólne informacje na temat budowy gałki ocznej, jak i szczegółowe aspekty neuroprotektoryjne czynników BDNF i NGF w organizmie, które przybliżają zagadnienie badawcze podjęte przez Doktorantkę. Dodatkowo oprócz ogólnego przedstawienia problematyki modeli zwierzęcych wykorzystywanych w badaniach osobno przedstawiono modele zastosowane w pracy badawczej: jaskrowy, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy.

Celem pracy była ocena zmiany poziomu białek neuroprotektoryjnych BDNF i NGF oraz wyjaśnienie ich potencjalnej roli w patogenezie chorób przebiegających z neurodegeneracją siatkówki z wykorzystaniem modeli zwierzęcych trzech chorób: jaskry, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy. Ponadto Doktorantka sformułowała 5 szczegółowych celów badawczych.

Metodyka badań i uzyskane wyniki

Doktorantka szczegółowo opisuje przygotowanie i przeprowadzenie badań okulistycznych w wyżej wymienionych modelach chorobowych z podziałem na grupy kontrolne zdrowych zwierząt i dopasowanych wiekiem chorych osobników. Badania są przeprowadzane bez znieczulenia i w znieczuleniu wziewnym izofluranem w modelu jaskrowym oraz u wszystkich osobników w znieczuleniu ogólnym w dwóch pozostałych modelach badawczych, z obrazowaniem dna oka i pomiarem ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz pomiarem ciśnienia tętniczego i glikemii. Równie skrupulatnie Doktorantka opisuje sposób pozyskania i analizę tkanek wyizolowanych od zwierząt, nie unikając opisu trudności jakie wiązały się z uzyskaniem materiału odpowiedniego do dalszej analizy.

W modelu jaskrowym dwie grupy kontrolne myszy były badane w 11 tygodniu z jednorazowym pomiarem ciśnienia wewnątrzgałkowego. Ze względu na dwa aspekty mogące mieć wpływ na wyniki ciśnienia: fluktuacja dobową ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz pewne ograniczenia badania wynikające z dokładności pomiarów tonometrem iCare, zabrakło mi informacji o jakiej porze były wykonywane pomiary oraz czy wszystkie zwierzęta w tych grupach były badane o tej samej porze dnia. Dodatkowo można było pokusić się o wykonanie więcej niż jednego pomiaru w dniu badania, aby zwiększyć wiarygodność uzyskanych wyników.

W odniesieniu do grupy zwierząt badanych w znieczuleniu wziewnym izofluranem nie znalazłam w opisie metody ani w podpunkcie ograniczenia badania wzmianki o wpływie izofluranu na wartości ciśnienia wewnątrzgałkowego uzyskiwane w pracy. Izofluran może powodować wzrost ciśnienia w gałce ocznej i takie wyniki był obserwowane w badaniach na zwierzętach. Warto więc uwzględnić ten aspekt przy projektowaniu kolejnych badań okulistycznych na zwierzętach i krytycznie rozważać uzyskane wyniki szczególnie w grupie jaskrowej, w której patomechanizm neuropatii jaskrowej jest ściśle związany z podwyższonym ciśnieniem wewnątrzgałkowym.

W pracy doktorskiej zamieszczono 16 tabel przedstawiających analizę opisową oraz wszystkie wyniki korelacji badanych parametrów. To zmniejsza czytelność uzyskanych wyników. W przyszłości proponowałabym zamieszczać w tabelach jedynie korelacje, które osiągnęły wartości na poziomie statystycznej istotności, pozostałe wyniki zaś skomentować w tekście pracy jako te, które takiego poziomu nie uzyskały.

Nie umniejsza to jednak wartości pracy. Wysoko oceniam wysiłek włożony przez Doktorantkę w rozbudowanie panelu badawczego o analizę histopatologiczną i immunoenzymatyczną uzyskanych tkanek wraz z podziałem na część centralną i obwodową siatkówki. Świadczy to o dobrym przygotowaniu do realizowanego tematu oraz chęci rzeczywistego pogłębienia wiedzy w tym obszarze.

Dyskusja i wnioski

Dyskusja jest przeprowadzona w sposób dojrzały i wielowymiarowy, świadczy o umiejętności analizy i dużej wiedzy Doktorantki. Dyskusja obejmuje omówienie uzyskanych wyników badań w aspekcie aktualnego stanu wiedzy i porównanie z wynikami innych badaczy. Wskazuje również na niespójność dotychczasowych wyników w danych literaturowych w zakresie realizowanego zadania badawczego i podkreśla aspekt praktyczny przeprowadzonych badań. Zmiany poziomu białek neuroprotektoryjnych w tkankach mogą w przyszłości być może zostać użyte jako potencjalne biomarkery wczesnego stadium rozwoju choroby.

W badanych modelach z jaskrą wykazano zmiany świadczące o procesach neurodegeneracyjnych siatkówki i zaobserwowano zmiany poziomu białek neuroprotektoryjnych BDNF i NGF w tkankach we wszystkich trzech modelach: z jaskrą, retinopatią cukrzycową i nadciśnieniem tętniczym. Wskazano również na konieczność kontynuacji przeprowadzonych badań z uwzględnieniem dodatkowych interwałów czasowych uwzględniających stopień zaawansowania zmian neurodegeneracyjnych poszczególnych schorzeń i dodatkowe oznaczenie poziomu innych białek biorących udział w procesach degeneracyjnych.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca doktorska zawiera ważne i ciekawe wnioski poszerzające naszą wiedzę o procesach neurodegeneracyjnych w chorobach oczu, a badania nad rolą białek neuroprotektoryjnych w okulistyce mogą w przyszłości stanowić przyczynek do rozwoju nowych terapii tych nieuleczalnych schorzeń. Praca tym samym wpisuje się w trend medycyny translacyjnej, której rozwój jest w moim przekonaniu niezbędny, aby móc wykorzystać osiągnięcia laboratoryjne w codziennej praktyce klinicznej. Należy podkreślić widoczny wkład pracy Doktorantki w przeprowadzenie złożonych badań eksperymentalnych oraz wnikliwą analizę otrzymanych wyników.

Rozprawa doktorska lek. Ewy Sikorskiej spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz 1668).

Na tej podstawie zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. Ewy Sikorskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie rozprawy.

Wrocław, 1 września 2023r.

dr hab. n. med. Patrycja Krzyżanowska-Berkowska