

Dr hab. n. med. Sławomir Teper
Katedra i Oddział Kliniczny Okulistyki
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Okręgowy Szpital Kolejowy w Katowicach
Ul. Panewnicka 65
40-760 Katowice

Katowice, 30 kwietnia 2023 r.

Recenzja

Pracy na stopień doktora nauk medycznych

Lek. Elżbiety Krytkowskiej

**ANALIZA MORFOLOGICZNA I FUNKCJONALNA PARAMETRÓW MIKROKRAŻENIA
SIATKÓWKI I NACZYNIÓWKI W AMD — PRÓBA IDENTYFIKACJI CZYNNIKÓW
WARUNKUJĄCYCH OBRAZ FENOTYPOWY CHOROBY**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Anna Machalińska

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (ang. age-related macular degeneration, AMD) jest chorobą uwarunkowaną genetycznie. Jeszcze około 20 lat temu takie zdanie budziłoby pewne kontrowersje. Akcentowano wówczas środowiskowe przyczyny, które pozwalały zachować lekarzowi element sprawczości. Zalecając zaniechanie nałogu palenia lub noszenie ciemnych okularów w słoneczne dni okuliści mogli utrzymać wrażenie pozytywnego wpływu lekarza na przebieg choroby. Gdy jednak nadchodził etap zaawansowanej choroby przejawiającej się neowaskularyzacją lub zanikiem, medycyna stawiała się bezsilna. Wprowadzenie najpierw terapii fotodynamicznej a następnie inhibitorów VEGF zmieniło okulistykę, zwłaszcza że towarzyszyła im rewolucja diagnostyczna w retinologii – wynalezienie optycznej koherentnej tomografii a później także angiografii tej metody. Od tego czasu trwają badania, które aktualny paradygmat diagnostyki i leczenia AMD rozwijają w wielu kierunkach.

Trwa poszukiwanie czynników prognostycznych, skuteczniejszych schematów leczenia, metod wcześniejszego wykrywania i screeningu choroby. Doktorantka wpisuje się więc w szeroki i bardzo istotny nurt badawczy.

Przedstawiona do oceny praca ma 96 stron i zawiera spis treści, wykaz skrótów, notę informacyjną, streszczenie w języku polskim, streszczenie w języku angielskim, oświadczenie współautorów oraz piśmiennictwo. Natomiast sama treść rozprawy jest podzielona na następujące rozdziały – wprowadzenie, główne założenia i cele pracy, streszczenia publikacji stanowiących rozprawę doktorską, publikacje i wnioski.

Na cykl publikacji składają się trzy prace oryginalne napisane w języku angielskim i opublikowane w czasopismach posiadających współczynnik oddziaływania:

1. Krytkowska E, Grabowicz A, Mozolewska-Piotrowska K, Ulańczyk Z, Safranow K, Machalińska A. The impact of vascular risk factors on the thickness and volume of the choroid in AMD patients. *Sci Rep.* 2021 Jul 23;11(1):15106. doi: 10.1038/s41598-021-94676-6; IF: 4,996. MNiSW: 140.
2. Krytkowska E, Ulańczyk Z, Grabowicz A, Mozolewska-Piotrowska K, Safranow K, Pałucha A, Krawczyk M, Sikora P, Matczyńska E, Stahl A, Machalinski B, Machalinska A. Retinal Vessel Functionality Is Linked With ARMS2 A69S and CFH Y402H Polymorphisms and Choroidal Status in AMD Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2021 Apr 1;62(4):30. doi: 10.1167/iovs.62.4.30; IF: 4,925. MNiSW: 140.
3. Krytkowska E, Ulańczyk Z, Grabowicz A, Safranow K, Kawa MP, Pałucha A, Wąsowska A, Matczyńska E, Boguszewska-Chachulska A, Machalińska A. Influence of Clinical and Genetic Factors on the Progression of Age-Related Macular Degeneration: A 3-Year Follow- -Up. *J Clin Med.* 2023 Mar 1;12(5):1963. doi: 10.3390/jcm12051963. IF: 4,964. MNiSW: 140.

Doktorantka jest głównym autorem wszystkich wymienionych prac, ich łączny impact factor wynosi 14,885 oraz 420 pkt. Ministerialnych, co samo w sobie wskazuje na wartość naukową przedstawionej do oceny dysertacji.

W kilkunastostronicowym, zwięzłym, ale zupełnie wystarczającym wprowadzeniu Doktorantka omówiła epidemiologię, czynniki ryzyka i patogenezę AMD, ze szczególnym uwzględnieniem czynników naczyniowych. Zapoznała czytelnika z tematem z jego widoczną

szeroką znajomością, stosując aktualną nomenklaturę i nie omijając zagadnień nadal wymagających badań. Wstęp czyta się z przyjemnością a w historycznym tle uwzględniono najważniejsze prace. Autorka pisze o wprowadzeniu optycznej koherentnej tomografii używając skrótu SS-OCT. Jest to akronim zarezerwowany dla jednego z rodzajów tej metody, a mianowicie tej wykorzystującej strojone źródło światła. W dalszej części wprowadzenia omówiono obraz kliniczny choroby, zwracając uwagę na poszczególne rodzaje druz - złogów obserwowanych w przebiegu AMD podsiatkówkowo. Autorka, podobnie jak bardzo wielu polskich okulistów, używa rodzaju męskiego, choć druzy są rodzaju żeńskiego (pojedynczy złóg to druza). Ale zdarza się to także autorowi niniejszej recenzji i oczywiście nie ma znaczenia w wysokiej ocenie wprowadzenia.

Główne cele pracy Doktorantka określiła następująco:

1. Ocena parametrów naczyniówki w obrazie SD-OCT, takich jak grubość, objętość oraz wskaźnik unaczynienia naczyniówki, celem zobrazowania potencjalnych różnic w morfologii tkanki naczyniowej między oczami z AMD (z uwzględnieniem odmiennych podtypów klinicznych choroby), a grupą kontrolną.
2. Pomiar średnicy oraz reaktywności naczyń siatkówki w oczach pacjentów z AMD w odniesieniu do grupy kontrolnej
3. Analiza korelacji pomiędzy pomiarami opisującymi morfologię naczyniówki, wskaźnikami średnicy naczyń siatkówki, parametrami czynnościowymi mikrokrazenia siatkówkowego a postacią kliniczną, stadium zaawansowania choroby, współistnieniem schorzeń układu sercowo-naczyniowego oraz obecnością określonych polimorfizmów wysokiego ryzyka u pacjentów z AMD.
4. Zidentyfikowanie czynników ryzyka progresji AMD, na przestrzeni 3-letniego okresu obserwacji, z uwzględnieniem udziału czynników naczyniowych w tym procesie.

Pierwsza praca z cyklu publikacji zatytułowana "The impact of vascular risk factors on the thickness and volume of the choroid in AMD patients." (Sci Rep. 2021 Jul 23;11(1):15106) dowiodła, że krążenie naczyniówkowe w oczach z AMD jest znacznie bardziej podatne na uszkodzenia w obecności ogólnoustrojowej choroby naczyniowej. W pracy wykorzystano zaawansowaną metodykę analizy obrazu (półautomatyczną binaryzację przy użyciu oprogramowania ImageJ) oraz poprawnie wybrane metody statystyczne pozwalające na analizę wieloczynnikową. Wykazano, że neowaskularna postać AMD była niezależnym czynnikiem związanym z wyższymi wartościami średniej grubości i objętości w obrębie pierścienia centralnego niższymi wartościami wskaźnika unaczynienia naczyniówki w porównaniu z grupą

kontrolną. Zaobserwowano ujemne korelacje między stopniem zaawansowania choroby a poszczególnymi parametrami morfometrycznymi, co prawdopodobnie odzwierciedla większy zanik naczyń naczyniówki w późniejszych fazach choroby, czemu towarzyszy także niższa ostrość wzroku. Cenną obserwacją przede wszystkim stwierdzenie pogorszenia wszystkich parametrów naczyniówkowych u osób z nadciśnieniem i chorobą niedokrwienną serca jednocześnie chorych na AMD, jako że takiej korelacji nie zauważono w grupie kontrolnej.

Druga praca ma charakter bardziej genetyczny a zarazem funkcjonalny (*Retinal Vessel Functionality Is Linked With ARMS2 A69S and CFH Y402H Polymorphisms and Choroidal Status in AMD Patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2021 Apr 1;62(4):30.*) Jej celem było porównanie średnicy oraz reaktywności naczyń siatkówki na migoczący bodziec świetlny w grupie AMD i kontrolnej oraz analiza wpływu określonych wariantów genetycznych na parametry naczyń siatkówki. Większość parametrów pomimo dużych poddanych analizie grup nie różniła się znacząco. Zaobserwowano jednak w grupie oczu z AMD, że reaktywność naczyń tętniczych po stymulacji światłem korelowała dodatnio z grubością i objętością naczyniówki, czego nie stwierdzono w grupie kontrolnej. Ciekawe obserwacje poczyniono analizując wpływ genetycznych czynników ryzyka na stan czynnościowy naczyń siatkówki. Praca jest przejrzysta i napisana z wykorzystaniem bardzo dobrego warsztatu badawczego. Jednak do wyników genetycznych należy prawdopodobnie podejść z rezerwą, zbyt wiele jest możliwości przypadkowo znamiennych wyników, co jest dość typowe dla analiz post hoc opartych na danych genetycznych i licznych poddawanych ocenie parametrach. Autorka wspomina zresztą o granicznej znamienności w teście Kruskala-Wallisa między genotypami TT a TC i CC łącznie dla genu CFH. Ciekawym spostrzeżeniem jest wpływ leczenia hipotensyjnego i przeciwnaczyniowego na parametry przepływu u osób z AMD, co Autorka łączy także z inną pracą ze szczecińskiego ośrodka, dowodząc w ten sposób złożoności patomechanizmów nadciśnienia tętniczego.

W trzeciej pracy, zatytułowanej "Influence of Clinical and Genetic Factors on the Progression of Age-Related Macular Degeneration: A 3-Year Follow-Up." (*J Clin Med. 2023 Mar 1;12(5):1963.*) przeanalizowano wpływ wybranych czynników klinicznych, demograficznych i środowiskowych oraz genetycznych na progresję AMD. Mniej liczna grupa badana utrudniła w tym wypadku uzyskanie znamiennych wyników. Jednak na uznanie zasługuje już sam fakt trzyletniej analizy i szeroko zakrojone poszukiwania czynników, które mogą mieć wpływ na progresję AMD. Wyodrębnienie grupy pacjentów najwyższego ryzyka mogłoby przyczynić się do bardziej uważnego monitorowania morfologii siatkówki w tej grupie, a tym samym wdrożenia terapii przed powstaniem nieodwracalnych zmian. Parametry naczyniówkowe nie okazały się w

tym wypadku istotne, ustępując miejsca czynnikom już dotąd dobrze znanym i opisanym – wyjściowej ostrości wzroku, obecności postaci neowaskularnej w oku towarzyszącym a także czynnikowi genetycznemu – wariantowi CC Y402H genu czynnika H układu dopełniacza. Ponadto pacjenci leczeni tyroksyną także byli obarczeni większym ryzykiem.

We wszystkich trzech pracach zwraca uwagę wnikliwa i rozbudowana dyskusja, która świadczy o bogatej wiedzy i szerokim zainteresowaniu Doktorantki także pograniczem tematu, który podjęła. W dyskusjach nie tylko sprawnie posługiwała się literaturą tematu, ale zarysowywała problemy badawcze i pytania, które nadal wymagają odpowiedzi. Dowodzi to naukowej przenikliwości i świadczy niewątpliwie o omówieniu tematu w zespole badawczym i zaangażowaniu Promotorki.

Podsumowaniem zawartych w dysertacji manuskryptów są następujące wnioski:

1. Parametry opisujące anatomię naczyniówki u pacjentów z AMD pozostają w związku z obrazem klinicznym i stadium choroby. Może to wskazywać na istotną rolę zaburzeń krążenia naczyniówkowego w patogenezie schorzenia.
2. Współistnienie ogólnoustrojowych schorzeń o podłożu naczyniowym jest czynnikiem związanym ze zmniejszoną grubością i objętością naczyniówki w oczach z AMD. Można zatem wnioskować, iż układ naczyniówkowy w oczach z AMD jest znacznie bardziej podatny na uszkodzenie w obecności ogólnoustrojowych chorób krążenia.
3. Obecność genetycznych wariantów ryzyka determinuje stan czynnościowy mikrokrazenia siatkówkowego w oczach z AMD. Reaktywność naczyń siatkówki koresponduje z grubością i objętością naczyniówki, co wskazuje na funkcjonalną łączność obu łożysk naczyniowych w przebiegu choroby.
4. Schorzenia układu naczyniowego oraz parametry funkcjonalne i morfologiczne siatkówki i naczyniówki nie stanowią niezależnych wykładników progresji choroby. Do bezpośrednich czynników ryzyka postępu choroby należą: wiek, przyjmowanie tyroksyny, obecność wysiękowej postaci AMD w oku towarzyszącym oraz predyspozycja genetyczna.

Pomorski Uniwersytet Medyczny wypracował zasady przygotowania rozprawy doktorskiej opartej o cykl prac. Zgodnie z tymi zasadami zbiór artykułów rozumie się jako powiązany tematycznie zbiór prac, w których kandydat jest pierwszym autorem i w którego skład wchodzi co najmniej trzy prace o łącznej sumie punktów MEiN co najmniej 100. Doktorantka z nawiązką spełniła te kryteria, publikując prace w renomowanych czasopismach i zasługuje na wyróżnienie.

Przewodnicząca Rady Naukowej PUM wymienia poszczególne rozdziały, które powinny znaleźć się w autoreferacie. Spośród nich Doktorantka nie ujęła w pracy metodyki, omówienia i dyskusji. Jednak uważam, że rozprawa dzięki temu wręcz zyskuje na przejrzystości, a w treści poszczególnych publikacji zawarto wszelkie niezbędne informacje z powyższych zakresów tematycznych. Doktorantka wykonała bardzo duży zakres pracy, co wyraźnie widać w oświadczeniach współautorów. Warto jednocześnie zwrócić uwagę, że aktualnie kładzie się nacisk nie tyle na udział procentowy (z założenia trudny do oszacowania), co wkład zgodny z taksonomią CRediT i potwierdza to również wspomniane wyżej pismo a poszczególni Autorzy wymienili swoje działania.

Ocena pracy na stopień doktora nauk medycznych lekarki Elżbiety Krytkowskiej jest jednoznacznie pozytywna. Spełnia ona warunki określone Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z późniejszymi zmianami (tekst ujednoczony, Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Wnioskuje do Rady Naukowej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lekarki Elżbiety Krytkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego oraz o wyróżnienie pracy.

Sławomir Tępeł
30.09.2023