

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
Facultatea de Medicină

Teză de Doctorat

Rolul tratamentului neuroprotector cu citicolină în evoluția neuropatiei optice glaucomatoase

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Liliana Mary Voinea

Doctorand:

Iulia Dinu căs. Chițu

București
- 2020-

Cuprins

Cuprins	2
Listă abrevieri	4
Introducere	5
PARTEA GENERALĂ	7
1. Noțiuni generale de anatomie și fiziologie ale structurilor implicate în glaucom	8
1.1 Unghiul irido-cornean și corpul ciliar	8
1.2 Dinamica umorii apoase și tensiunea intraoculară	10
1.3 Nervul optic	13
2. GLAUCOMUL PRIMITIV CU UNGHI DESCHIS	16
2.1 Definiția și clasificarea glaucomului	16
2.2 Date epidemiologice în GPUD	17
2.3 Factori de risc în GPUD	18
2.4 Etiopatogenia glaucomului	20
2.4.1 Teorii patogenice în glaucom	20
2.4.2 Etiopatogenia hipertensiunii intraoculare.....	21
2.5 Diagnosticul clinic al GPUD	22
2.6 Diagnosticul paraclinic în GPUD	26
2.7 Tratamentul GPUD	30
2.7.1 Tratamentul medical al GPUD	30
2.7.2 Tratamentul laser al GPUD	31
2.7.3 Tratamentul chirurgical al GPUD	32
3. NEUROPATIA OPTICĂ GLAUCOMATOASĂ	34
3.1 Bazele moleculare ale neurodegenerării în NOG	34
3.2 Aspecte clinice în neuropatia optică glaucomatoasă	40
3.3 Explorări funcționale în neuropatia optică glaucomatoasă	42
3.3.1 Perimetria computerizată.....	42
3.3.2 Tomografia în coerență optică (OCT)	45
3.3.3 Potențialele vizuale evocate (PEV)	46
4. CITICOLINA – MOLECULA CU ROL NEUROPROTECTOR	48
4.1 Structura chimică a citicolinei și noțiuni de farmacocinetică	48
4.2 Mecanisme de neuroprotecție	52

4.3 Rolul citicolinei în neuropatia optică glaucomatoasă	54
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	57
5. Motivația alegerii temei și premisele cercetării	58
6. Scopul și obiectivele cercetării	59
7. Studiu: Rolul tratamentului neuroprotector cu citicolină în evoluția neuropatiei optice glaucomatoase.	60
7.1 Ipoteza de lucru	60
7.2 Metodologia de lucru	60
7.2.1 Selecția pacienților și metode	61
7.2.2 Metode de examinare clinice și paraclinice	63
7.2.3 Analiza statistică	76
7.3 Rezultate	78
7.3.1 Analiza parametrilor din lotul de studiu	78
7.3.2 Studii de corelație între parametrii structurali și cei funcționali în glaucom	109
7.3.3 Rezultate parțiale după 6 luni de tratament cu citicolină la pacienții cu glaucom	115
7.3.4 Analiza parametrilor din lotul martor și evoluția comparativ cu lotul de studiu	123
7.4 Discuții	137
7.5 Concluzii	141
Lista figurilor	143
Lista tabelor	145
Bibliografie	147
Anexe	155
Anexa 1 – Avizul Comisiei de Etică al Spitalului Universitar de Urgență București ...	155
Anexa 2 – Formular de informare privind participarea la un studiu terapeutic	156
Anexa 3 – Formular pentru consimțământul informat	160
Anexa 4 – Fișă examen oftalmologic pacient	162
Anexa 5 – Lista lucrărilor științifice publicate pe tema tezei de doctorat	163

Listă abrevieri

TIO = tensiunea intraoculară

CGL = celule ganglionare retiniene

NO = nerv optic

RNFL = stratul fibrelor nervoase retiniene

GPUD = glaucom primitiv cu unghi deschis

GPUI = glaucom primitiv cu unghi inchis

TIGR/MYOC = miociclina

HTIO = hipertensiune intraoculară

OCT = tomografie în coerență optică

PEV = potențiale vizuale evocate

MRA = Moorfields Regression Analysis

NGF = neurotrofic growth factor

BDNF = brain derived neurotrophic factor

Ach = Acetilcolina

CDP-colina = citidin-difosfo-colina

NOIA = neuropatia optică ischemică anterioară

Introducere

Glaucomul reprezintă o neuropatie optică manifestată prin pierderea fibrelor nervului optic și modificări caracteristice și ireversibile ale câmpului vizual, fiind a doua patologie responsabilă de orbire la nivel mondial. Se estimează faptul că în anul 2020 aproximativ 60 de milioane de persoane vor fi deja diagnosticate cu glaucom. Datorită implicațiilor sociale, psihologice și costurilor aferente acestei afecțiuni, ea reprezintă o adevărată problemă la nivel mondial.

Deși există numeroși factori de risc implicați, precum vârsta, rasa, factorul genetic, diabetul zaharat sau miopia, singurul ce poate fi modificat este tensiunea intraoculară (TIO), aceasta având și principalul rol în patogeneza afecțiunii. Cu toate acestea menținerea TIO în limite normale nu garantează staționarea bolii, fiind constatată progresia glaucomului în pofida tratamentului hipotensor ocular corect efectuat.

Progresele înregistrate în ultimii ani în domeniul cercetării științifice au încercat investigarea cauzelor suplimentare ce determină progresia neuropatiei optice glaucomatoase (NOG), dar și găsirea unor modalități suplimentare de tratament. Astfel au fost descoperite mecanisme intime ale neurodegenerării, precum stresul oxidativ sau mecanic, toxicitatea glutamatului, autoimunitatea, și au fost studiate posibilități terapeutice suplimentare, denumite generic neuroprotectoare. Din această categorie, a agenților neuroprotectori face parte și molecula numită *citicolină*, inițial utilizată în tratarea afecțiunilor neurologice, dar a cărei utilitate a fost demonstrată și în glaucom prin studiile experimentale și clinice efectuate în ultimii ani.

Tratamentul neuroprotector al glaucomului reprezintă o temă de actualitate aflată în continuă dezvoltare, lucru ce m-a determinat să îl aleg ca temă de cercetare doctorală. Spre deosebire de glaucomul primitiv cu unghi închis (GPUI), a cărui simptomatologie zgomotoasă ajută la diagnosticul precoce, glaucomul primitiv cu unghi deschis (GPUD) are de cele mai multe ori o evoluție insidioasă, pacienții fiind diagnosticați chiar în stadii avansate. Acest lucru face ca GPUD să fie un "inamic tăcut", motiv pentru care am considerat oportună studierea efectului neuroprotector al citicolinei la pacienții cu acest diagnostic.

Lucrarea de față este structurată în 2 părți:

- Partea generală – în care sunt expuse date de actualitate cu privire la GPUD, noțiuni de anatomie, mecanisme patogenice, modalități de diagnostic și tratament, precum și o detaliere a mecanismelor neurodegenerării și neuroprotecției, dar și al rolului pe care îl ocupă citicolina în tratamentul glaucomului.
- Partea specială – cuprinde un studiu terapeutic efectuat pe un lot de pacienți cu GPUD, la care am urmărit prin investigații specifice evoluția unor parametri pe parcursul tratamentului cu citicolină. Am realizat de asemenea corelații și comparații cu un lot martor de pacienți cu GPUD.

Studiul doctoral a fost realizat în Clinica de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență București în perioada ianuarie 2017 - decembrie 2017, în conformitate cu declarația de la Helsinki. Pacienții selectați au respectat criteriile de includere și excludere din studiu, acordul de participare fiind consimțit prin semnarea unui consimțământ informat.

Partea generală

1. Noțiuni generale de anatomie și fiziologie ale structurilor implicate în glaucom

Glaucomul este definit ca fiind o neuropatie optică, a cărui principal factor de risc pentru apariție și progresie îl reprezintă TIO crescută. Menținerea TIO în limite normale se datorează unui echilibru între secreția și eliminarea umorii apoase.

1.1 Unghiul irido-cornean și corpul ciliar

Corpul ciliar este structura implicată în producerea umorii apoase, controlul acomodăției, secreția hialuronatului în vitros, și asigurarea barierei sânge-umoare apoasă.(1)

Situat între baza irisului și ora serrata, corpul ciliar prezintă două fețe: externă (sclerală) și internă(ciliară). Din punct de vedere structural partea anterioară a corpului ciliar este reprezentată de mușchiul ciliar, iar cea posterioară de procesele ciliare. Partea musculară este responsabilă de procesul acomodăției, iar procesele ciliare asigură producția continuă a umorii apoase (UA).(2)

Unghiul irido-cornean reprezintă ansamblul structurilor situate între rădăcina irisului și corneea, cu rol important în eliminarea UA.

Elementele sale pot fi identificate prin intermediul gonioscopiei, acestea fiind, dinspre anterior spre posterior, următoarele:

- Linia Schwalbe
- Trabeculul
- Canalul Schlemm
- Pintenul scleral
- Banda ciliară

1.2 Dinamica umorii apoase și tensiunea intraoculară

Dinamica UA este un proces continuu, reprezentând totalitatea etapelor parcurse de aceasta de la momentul producerii până la eliminarea ei. Fiecare etapă are un rol determinant asupra TIO, iar înțelegerea acestora constituie un element esențial pentru monitorizarea glaucomului.

Producția UA are loc la nivelul proceselor ciliare ale corpului ciliar, mai precis la nivelul epitelului nepigmentat, fiind secretată în camera posterioară. De aici, prin orificiul pupilar, UA ajunge în camera anterioară, de unde este eliminată prin intermediul celor 2 căi, trabeculară (90%) și uveosclerală (10%).(3)

Tensiunea intraoculară (TIO) este influențată de echilibrul existent între producere și eliminarea UA. Drenajul UA este dependent de presiunea din venele episclerale și de rezistența întâmpinată de-a lungul căilor de eliminare, în special la nivelul trabeculului juxtacanalicular.(4) Valorile acceptate ca fiind normale pentru TIO se situează între 11-21 mmHg, cu o medie de 16 mmHg, și cu valori mai crescute la pacienții peste 40 de ani.(3)

1.3 Nervul optic

Nervul optic este format din peste 1 milion de axoni ai celulelor ganglionare retinene (CGL), făcând conexiunea acestora cu cortexul vizual occipital. Lungimea nervului optic variază între 35 și 55 mm, cu o medie de 40 mm. Din punct de vedere topografic, nervul optic este împărțit în patru regiuni:

- Intraoculară – formată din: capul nervului optic (discul optic), partea prelaminară și cea retrolaminară
- Intraorbitară – situată în conul muscular orbital
- Intracanaliculară – în interiorul canalului optic
- Intracraniană – porțiune ce se termină la nivelul chiasmei optice.(5)

2. GLAUCOMUL PRIMITIV CU UNGHI DESCHIS

2.1 Definiția și clasificarea glaucomului

Glaucumul este definit ca fiind un grup de afecțiuni ce au în comun o neuropatie optică progresivă manifestată prin modificări structurale caracteristice, însoțită de scăderea funcției vizuale.(3)

Indiferent de tipul glaucomului neuropatia optică se caracterizează prin subțierea stratului de fibre nervoase retiniene (RNFL) și lărgirea excavației, dar și prin apariția defectelor la nivelul câmpului vizual. Deși TIO este principalul factor de risc al glaucomului, aceasta nu este inclusă în definiție, putând exista glaucom inclusiv la valori normale ale TIO.(6)

Glaucumul este clasificat în două mari categorii: cu unghi deschis (GPUD) și cu unghi închis (GPUI). În GPUD nu există obstacole în calea eliminării umorii apoase până la trabecul,

spre deosebire de GPUI, în care accesul umorii apoase la trabecul se face cu dificultate. Fiecare dintre cele două tipuri de glaucom poate fi la rândul său primitiv sau secundar. Formele primitive sunt de regulă bilaterale și nu sunt asociate cu alte afecțiuni sistemice sau oculare ce pot determina scăderea drenajului umorii apoase. În formele secundare există o cauză ce împiedică eliminarea corespunzătoare a umorii apoase, aceste forme fiind unilaterale sau bilaterale dar asimetrice.(3)

Academia Americană de Oftalmologie clasifică glaucomul astfel:

a.) Glaucomul cu unghi deschis

- *GPUD* – asociat cu TIO crescută, fără alte cauze oculare sau sistemice;
- *Glaucom normotensiv* – inclus în GPUD, cu TIO în limite normale;
- *Glaucomul juvenil* – formă a GPUD diagnosticată la tineri (10-30 ani);
- *Suspectul de glaucom* – este considerat la TIO normală și modificări ale discului optic/câmpului vizual, sau la TIO crescută dar disc optic și câmp vizual normale;
- *Glaucom secundar cu unghi deschis* – asociat cu o rezistență crescută la eliminarea umorii pe calea trabeculară (glaucom facolitic, pigmentar, exfoliativ, indus de steroizi) sau datorită creșterii presiunii venoase episclerale (fistulă carotido-cavernosă);

b.) Glaucomul cu unghi închis

- *GPUI cu bloc pupilar relativ* – periferia irisului acoperă trabeculul, iar pasajul umorii apoase din camera posterioară în cea anterioară este restricționat;
- *Atacul de glaucom* – blocare a trabeculului ce duce la o creștere rapidă a TIO;
- *Închiderea intermitentă a unghiului* – episoade repetate de închidere a unghiului, cu simptomatologie moderată, uneori premergător atacului de glaucom;
- *Închiderea cronică a unghiului* – porțiuni variabile ale unghiului camerei anterioare sunt închise permanent (sinechii), ceea ce duce la o TIO crescută;
- *Glaucom secundar cu unghi închis cu/fără bloc pupilar* – unghiul este închis fie prin împingerea spre anterior a diafragmuului iris-cristalin (efuzie uveală, tumori ale segmentului posterior), fie prin tracționarea anterioară a irisului (sinechii periferice anterioare);

- *Sindromul de iris în patou* – apare independent de blocajul pupilar datorită unei variante anatomice a rădăcinii irisului ce determină îngustarea unghiului.(3)

c.) *Glaucomul congenital sau al copilului*

- *Glaucomul primitiv congenital* – prezent de la naștere până la 2 ani;
- *Glaucomul cu unghi deschis al copilului cu debut tardiv* – debut între 2 ani și perioada pubertății;
- *Glaucomul secundar al copilului* – asociat cu anomalii oculare sau sistemice.(7)

2.2 Date epidemiologice în GPUD

Studiile au arătat o prevalență a GPUD de 7% la persoanele peste 40 de ani, și de 3-8 ori mai crescută la persoanele de 70 de ani față de cele de 40 de ani. Prevalența în cadrul anumitor rase diferă, astfel la populația africană s-a constatat o prevalență de 3-4 ori mai mare față de populația caucaziană, în același grup de vârstă. (3)

2.3 Factori de risc în GPUD

Factorii de risc pentru glaucom sunt numeroși, iar o bună cunoaștere a acestora ajută la îmbunătățirea strategiilor de screening și la o depistare precoce a celor cu risc de a dezvolta afecțiunea. Printre aceștia se numără: vârsta, sexul, rasa, istoricul familial de glaucom, tensiunea intraoculară, miopia, diabetul zaharat, hipertensiunea intraoculară, factorii genetici.

2.4 Etiopatogenia glaucomului

Glaucomul este o neuropatie optică determinată de o multitudine de factori. Agresiunea CGL retiniene reprezintă evenimentul final al acestui proces manifestat prin modificări ale nervului optic și evidențiate prin mijloace clinice și paraclinice.

Tensiunea intraoculară crescută este principalul element ce inițiază procesul apoptozei CGL, însă chiar și la valori normale este un factor esențial, precum în glaucomul normotensiv. Efectele HTIO sunt evidențiate prin *teoria mecanică*. Astfel prin creșterea TIO se produce o deplasare posterioară a laminei cribrosă și o compresie la nivelul porilor a axonilor CGL. Datorită rezistenței mai scăzute a laminei cribrosă superior și inferior prin prezența porilor de dimensiuni mari, aici au loc primele leziuni axonale.(8)

Conform *teoriei vasculare* perfuzia deficitară la nivelul discului optic antrenează evenimente ce au ca rezultat final pierderea CGR, mai ales în glaucomul normotensiv, când

TIO este în limite normale. Creșterea TIO determină o reducere a presiunii eficiente de perfuzie, calculată ca fiind diferența dintre tensiunea arterială medie și TIO. Scăderea tensiunii arteriale sistemice, tulburările de autoreglare ale tonusului vascular precum și creșterea vâscozității sanguine sunt de asemenea factori ce contribuie la ischemia nervului optic.(8)

2.4.2 Etiopatogenia hipertensiunii intraoculare

HTIO apare datorită unui dezechilibru între producerea și eliminarea UA. În cele mai multe cazuri producția UA este similară cu cea a pacienților non-glaucomatoși, principalul factor determinant fiind creșterea rezistenței la drenaj.

Studiile au demonstrat rolul matrix-metalo-proteinazelor (MMP) asupra degradării materialului extracelular trabecular. Analogii de prostaglandine activează MMP de la nivelul mușchiului ciliar, cresc degradarea materialului extracelular de la acest nivel, stimulând astfel eliminarea pe cale uveosclerală. (6) S-a constatat de asemenea o expresie crescută a citokinei TGF- β 2 în umoarea apoasă a pacienților cu GPUD, ceea ce conduce la creșterea TIO și depunerea materialului extracelular în rețeaua trabeculară.(9)

2.5 Diagnosticul clinic al GPUD

Diagnosticul clinic se bazează, pe lângă efectuarea anamnezei, pe examenul clinic efectuat corect care trebuie să include determinarea acuității vizuale și a răspunsului pupilar, examinarea biomicroscopică a polului anterior ocular, tonometria, pahimetria, gonioscopia și analiza clinică a discului optic.

2.6 Diagnosticul paraclinic în GPUD

Diagnosticul paraclinic al GPUD se realizează prin următoarele mijloace de investigație:

- Oftalmoscopia laser confocală
- Fotografierea discului optic
- Măsurarea fluxul sanguin al nervului optic
- Perimetria computerizată – evaluează câmpul vizual al pacientului;
- Tomografia în coerență optică (OCT) – analizează stratul fibrelor nervoase retiniene la nivelul nervului optic și complexul CGL;
- Potențiale vizuale evocate (PEV) – studiază funcția căilor vizuale.

2.7 Tratamentul GPUD

Principalul scop al tratamentului GPUD îl constituie scăderea TIO la o valoare țintă și reducerea variațiilor diurne, astfel încât progresia să fie cât mai lentă. Alături de scăderea TIO, există metode noi pentru ameliorarea progresiei glaucomului precum tratamentul neuroprotector, creșterea perfuziei nervului optic, terapia genică.

Reducerea TIO se poate realiza cu ajutorul terapiei medicamentoase, prin tratament laser sau pe cale chirurgicală.

3. NEUROPATIA OPTICĂ GLAUCOMATOASĂ

3.1 Bazele moleculare ale neurodegenerării în NOG

Neurodegenerarea reprezintă principalul eveniment responsabil de apariția NOG. Deși TIO crescută este principalul factor de risc pentru pierderea CGL retiniene, s-a demonstrat faptul că procesul poate să apară chiar și în condițiile unei TIO în limite normale. Acest lucru a determinat investigarea mecanismelor suplimentare ale neurodegenerării și a modului în care acestea se reflectă în apariția NOG.

Kielczewski consideră că există o multitudine de factori implicați în pierderea CGL și consecutiv în apariția NOG, realizând astfel un sumar al acestora:

- Stresul oxidativ (datorită disfuncției mitocondriale, speciilor reactive de oxigen)
- Stresul mecanic (TIO crescută, lezarea axonilor la nivelul laminei cribroasă, creșterea TGF- β)
- Autoanticorpii/autoimunitatea
- Dezechilibrul imun (creșterea nivelului de TGF- α , activarea microglială, activarea sistemului complement)
- Acumularea de agregate proteice
- Hipoxia/ischemia
- Toxicitatea glutamatului
- Deprivarea de factori de creștere (NGF, BDNF) și întreruperea transportului axonal.(10)

3.2 Aspecte clinice în neuropatia optică glaucomatoasă

Pierderea fibrelor nervului optic în glaucom poate fi focală, difuză sau o combinație a acestora. Pierderea focală este mai ușor de identificat, prin modificarea aspectului rimului neural. Lărgirea excavației este un semn precoce în NOG, iar creșterea progresivă a fost remarcată la pacienții cu HTIO.(11-13)

Cel mai frecvent creșterea excavației, respectiv îngustarea rimului, se realizează în partea superioară sau inferioară, de aceea raportul cupă/disc se exprimă raportat la diametrele verticale.(14) Pierderea fibrelor nervoase permite vizibilitatea laminei cribrosa, iar vasele principale, artera și vena centrală a retinei, să devieze nazal. Uneori hemoragiile peripapilare liniare pot să apară, ele fiind rar întâlnite în populația sănătoasă.

3.3 Explorări funcționale în neuropatia optică glaucomatoasă

3.3.1 Perimetria computerizată

Perimetria automată are un rol important atât în diagnosticul glaucomului cât și în monitorizarea evoluției, fiind un indicator al pierderii CGL. Ea cuantifică gradul disfuncției vizuale. În NOG defectele perimetrice apar în câmpul vizual (CV) central, la maxim 30 de grade în jurul punctului de fixație. Evaluarea câmpului vizual este cea mai utilizată metodă clinică pentru determinarea progresiei glaucomului și a eficacității tratamentului.(15)

3.3.2 Tomografia în coerență optică (OCT)

Reprezintă o metodă imagistică non-invazivă ce oferă secțiuni transversale de înaltă rezoluție a retinei, stratului fibrelor nervoase retiniene și a nervului optic. Secțiunile axiale au o rezoluție de 5-7 μm , fiind o adevărată "biopsie optică" in vivo a structurilor oculare.(16)

Sunt disponibile două tipuri de examinări OCT, time-domain OCT (TD-OCT) și Spectral-Domain (Fourier) OCT (SD-OCT), cel din urmă fiind superior primului din punct de vedere al vitezei de achiziție a imaginilor și a calității acestora.

OCT este un instrument util pentru monitorizarea pacienților glaucomatoși, iar analiza ratei de pierdere a RNFL global sau sectorial poate să ofere informații utile cu privire la evoluția NOG, precum și despre răspunsul la tratament.

3.3.3 Potențialele vizuale evocate (PEV)

A fost demonstrat faptul că latența crescută a undelor PEV se corelează cu apariția defectelor CV și creșterea excavației nervului optic. Un studiu efectuat de Mukesh privind rolul PEV în monitorizarea GPUD a relevat scăderea amplitudinii tuturor undelor PEV la examinarea pattern (N75, P100, N145) la pacienții cu GPUD față de grupul de control.

4.CITICOLINA – MOLECULA CU ROL NEUROPROTECTOR

4.1 Structura chimică a citicolinei și noțiuni de farmacocinetică

Citicolina este denumirea generică a substanței farmacologice citidin-5'-difosfocolina (CDP-colina), identică din punct de vedere chimic cu precursorul natural intracelular al fosfatidilcolinei. Citicolina este un mononucleotid format din riboză, citozină, pirofosfat și colină, fiind un intermediar în procesul formării fosfolipidelor membranare.

Administrarea citicolinei se poate efectua pe cale orală, injectabil intramuscular sau intravenos, iar recent a fost introdusă administrarea topică sub formă de colir.

4.2 Mecanisme de neuroprotecție

Numeroase studii experimentale și clinice au încercat să evalueze beneficiul administrării CDP-colinei în afecțiuni neurodegenerative precum ischemia cerebrală, boala Alzheimer, demența vasculară, boala Parkinson, dar și în afecțiuni oftalmologice precum neuropatia optică ischemică non-arteritică, ambliopia și glaucomul.

Citicolina este cunoscută ca stimulând producția la nivel cerebral a Ach, dopaminei, noradrenalinei și serotoninei. Colina este precursorul Ach, ceea ce explică efectul colinergic al citicolinei. La nivel retinian principalul neurotransmițător este dopamina.(17)

Studii experimentale au demonstrat efectul neuromodulator al CDP-colinei asupra CGL. Efectuate atât pe culturi celulare retiniene cât și pe animale de laborator, studiile experimentale au demonstrat efectul antiapoptotic al citicolinei, creșterea nivelului retinian de dopamină, precum și împiedicarea pierderii CGL retiniene. Studiile clinice au evidențiat în neuropatiile optice neurodegenerative precum glaucomul sau neuropatia optică ischemică anterioară o încetinire a degradării CGL după administrarea citicolinei. Prin reducerea disfuncției CGL s-a constatat și o creștere a conducerii nervoase de-a lungul căilor vizuale postretiniene, precum și o îmbunătățire a defectelor câmpului vizual preexistente.(18)

4.3 Rolul citicolinei în neuropatia optică glaucomatoasă

Shuettauf a demonstrat efectul antiapoptotic al citicolinei prin administrarea acesteia la rozătoare consecutiv distrucției experimentale a nervului optic. S-a constatat o densitate mai mare a conexiunilor CGL retiniene-colicul superior în grupul tratat cu citicolină comparativ cu cel de control și de asemenea o expresie crescută a proteinei antiapoptotice Bcl-2.(19)

Matteuci a studiat în 2014 efectul citicolinei in vitro, asupra unei populații celulare retiniene expuse la cantități crescute de glucoză pentru a stimula apoptoza. S-a constatat o rată mai scăzută a apoptozei în populația celulară la care s-a administrat citicolină și de asemenea o afectare mai redusă a sinapselor față de populația celulară de control.(20)

În paralel cu studiile experimentale privind eficacitatea citicolinei în neuropatia optică glaucomatoasă au fost desfășurate numeroase studii clinice, rezultatele lor susținând ideea conform căreia citicolina are rol neuroprotector.

Primul studiu clinic asupra efectului CDP-colinei administrată sub formă de tablete a fost realizat în 2003 de către Rejadak.(21) Administrarea per os a 1000mg/zi de citicolină a indus scăderea latenței undei P100 la examinarea PEV față de valorile înregistrate anterior tratamentului, rezultat atribuit citicolinei.

În 2008 Parisi a evaluat efectul administrării soluției buvabile de citicolină (1600 mg/zi) versus forma injectabilă (1000 mg/zi). În ambele situații s-a constatat îmbunătățirea parametrilor PEV și ERG față de momentul inițial, fără diferențe între cele două căi de administrare. După o perioadă de wash-out efectul obținut a regresat parțial. (22)

Parisi a investigat rolul tratamentului cu citicolină topic la pacienții cu GPUD, fiind administrate 3 picături/zi, adițional tratamentului hipotensor ocular. După 6 luni de tratament s-au observat îmbunătățiri ale parametrilor PEV și PERG, precum și scăderea latenței undei PEV P100 și creșterea amplitudinii PERG a P59-N95.(23)

Același autor a publicat recent, în 2019, rezultatele unui alt studiu privind rolul citicolinei sub formă de picături administrate topic la pacienții glaucomatoși. Astfel, administrarea a 3 picături/zi de citicolină pe o perioadă de 4 luni a dus la îmbunătățirea unor parametri PEV, precum scurtarea latenței undei P100 și creșterea amplitudinii P50-N95. Aceste rezultate au fost dependente de tratament, astfel că administrarea citicolinei picături îmbunătățește activitatea bioelectrică a cortexului vizual și crește răspunsul bioelectric retinian.(24)

Contribuția personală

5. Motivația alegerii temei și premisele cercetării

Glaucomul este una dintre principalele cauze de orbire la nivel mondial, de multe ori fiind diagnosticat în stadii avansate, când recuperarea vizuală este ireversibilă. Diagnosticul precoce alături de tratamentul corespunzător pot salva vederea pacienților glaucomatoși. Spre deosebire de GPUI, a cărei simptomatologie zgomotoasă poate conduce la diagnosticarea în stadii precoce, GPUD este adesea depistat tardiv.

Având în vedere importanța GPUD în patologia oftalmologică, prevalența acestuia și impactul asupra calității vieții pacienților, am considerat necesară studierea modalităților terapeutice suplimentare ce pot încetini progresia bolii. Rolul benefic al tratamentului neuroprotector în glaucom, în special al citicolinei, a fost studiat și demonstrat în studii efectuate în ultimii ani, aceasta fiind premisa de la care am pornit în realizarea lucrării de față.

6. Scopul și obiectivele cercetării

Scopul cercetării doctorale a fost acela de a studia în mod aprofundat efectul neuroprotector al citicolinei pe un lot de pacienți cu GPUD, dar și de a realiza comparații cu un alt lot de pacienți, martor, de asemenea cu GPUD dar care nu au primit tratament neuroprotector.

Principalele obiective ale cercetării doctorale au fost:

- Analiza evoluției unor parametri oculari în lotul de studiu, al pacienților cu GPUD tratați cu citicolină, pe parcursul celor 12 luni de studiu
- Stabilirea unor corelații între parametrii analizați în cadrul lotului de studiu
- Analiza rezultatelor obținute după 12 luni la lotul de studiu comparativ cu lotul martor, pentru evidențierea efectului citicolinei.

7. Studiu: Rolul tratamentului neuroprotector cu citicolină în evoluția neuropatiei optice glaucomatoase.

7.1 Ipoteza de lucru

Prezentul studiu se bazează pe ipoteza conform căreia evoluția neuropatiei optice glaucomatoase poate fi încetinită prin administrarea tratamentelor neuroprotectoare, efecte demonstrate prin analiza investigațiilor paraclinice specifice, atât structurale cât și funcționale. De asemenea, evoluția pacienților tratați este mai bună față de cea a pacienților care primesc doar tratament antiglaucomatos hipotensor ocular.

7.2 Metodologia de lucru

Studiul realizat este unul de tip prospectiv, terapeutic, nerandomizat, desfășurat pe o perioadă de 12 luni (ianuarie-decembrie 2017) pe un număr de 37 de pacienți cu GPUD, investigațiile și urmărirea pacienților având loc în Clinica de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență București. Pentru realizarea studiului de față a fost obținut avizul Comisiei de Etica din cadrul Universității de Medicină și Farmacie "Carol Davila" din București, prezentat în *Anexa 1*.

7.2.1 Selecția pacienților și metode

În studiu au fost incluși 37 de participanți, atât de sex masculin cât și feminin, din mediu urban dar și rural, selectați din cadrul pacienților cu GPUD ai Clinicii de Oftalmologie a Spitalului Universitar de Urgență București, respectând criteriile de includere și excludere.

Cei 37 de pacienți cu GPUD au fost împărțiți în 2 loturi:

1. Lotul de studiu – a cuprins un număr de 20 de pacienți cu GPUD, cu un total de 40 de ochi, cărora li s-a administrat zilnic tratament oral cu citicolină ;
2. Lotul martor – format din 17 pacienți cu GPUD, cu un total de 34 ochi.

Primul lot, cel de studiu, a fost format din 20 de pacienți, cu un total de 40 ochi, diagnosticați deja cu GPUD și aflați în tratament cu terapie antiglaucomatoasă hipotensoare topică. Lotul martor a fost alcătuit din 17 pacienți, cu un total de 34 ochi, de asemenea diagnosticați deja cu GPUD și fiind în tratament antiglaucomatos topic. În ambele loturi a fost menținut tratamentul hipotensor topic pe parcursul desfășurării studiului. Inițial lotul de studiu a cuprins 22 de pacienți, însă 2 dintre aceștia s-au retras după primele 6 luni din motive personale. Rezultatele unui studiu pilot efectuat la 6 luni de la debutul studiului includ și

parametrii examinărilor oftalmologice obținute inclusiv de la acești 2 pacienți, iar pentru analiza finală la 12 luni au fost utilizate rezultatele obținute de la pacienții care au parcurs întreg studiul.

Selecția pacienților, atât a celor din lotul de studiu cât și a celor din lotul martor s-a făcut prin respectarea aceluiași criterii de includere și excludere.

Criteriile de includere în studiu au fost următoarele:

- Pacienți de ambele sexe cu vârsta între 18 și 75 de ani;
- Diagnostic confirmat de GPUD;
- TIO < 21 mmHg sub aceeași terapie antiglaucomatoasă topică în ultimele 3 luni;
- Reducerea grosimii stratului RGC pe OCT
- Lipsa administrării unui alt medicament neuroprotector în ultimele 3 luni și pe parcursul desfășurării studiului.

Criteriile de excludere din studiu au fost:

- TIO > 21 mmHg sub aceeași terapie antiglaucomatoasă topică în ultimele 3 luni;
- Afecțiuni maculare sau retiniene;
- Cataracta;
- Alte neuropatii sau nevrite optice;
- Intervenții chirurgicale oftalmologice în ultimele 3 luni;
- Hipersensibilitate la citicolină;
- Pacienți diabetici, cu scleroză multiplă, nistagmus, boală Parkinson.

Înainte de includerea în studiu fiecare pacient a fost supus unui examen oftalmologic complet, ocazie cu care s-a întocmit o fișă de examen oftalmologic, atașată în *Anexa 4*. Informațiile culese la această primă vizită și incluse în fișa de examinare au fost reprezentate de: datele de identificare ale pacientului, anul diagnosticului, antecedente personale patologice, antecedente heredocolaterale de glaucom, tratament efectuat atât pentru glaucom cât și pentru alte patologii, prezența/absența unui alt tratament neuroprotector. De asemenea au fost determinate acuitatea vizuală cu corecția proprie pentru distanță, TIO sub medicație antiglaucomatoasă topică, s-a efectuat examenul polului anterior ocular și al fundului de ochi, câmpul vizual computerizat, pahimetria, gonioscopia, OCT de nerv optic și CGL, precum și PEV Pattern la 1° și la 15 min, dar și PEV de tip flash. Toate aceste date obținute au fost înscrise în fișa de examinare oftalmologică la prima vizită a pacientului, notată V0.

Pacienților din lotul de studiu le-a fost furnizată în vederea administrării citicolină oral, sub forma preparatului Neurovert® (SunWave Pharma), acesta fiind furnizat gratuit de către firma producătoare pe durata întregului studiu. Doza zilnică de citicolină administrată a fost de 800 mg, sub forma a 4 capsule, administrate în priză de câte 2 capsule, dimineața și seara. Pe parcursul desfășurării studiului toți pacienții, atât cei din lotul de studiu cât și cei din lotul martor, au administrat fără întrerupere tratamentul topic antiglaucomatos.

Fiecare capsulă de Neurovert® are în compoziție 200 mg citicolină, 100 mg acid alfa lipoic, 50 mg extract de Bacopa monnieri, 50 mg fosfatidilserină, 40 mg extract de Ginkgo biloba și 30 mg extract de Salvia officinalis.

Pe parcursul studiului pentru lotul de studiu au fost efectuate vizite succesive la 3 luni (V1), 6 luni (V2), 9 luni (V3) și 12 luni (V4). În cazul lotului martor au fost realizate doar vizita inițială (V0) și vizita la 12 luni (V4). La fiecare dintre controalele efectuate pe parcursul studiului dar și la sfârșitul lui au fost determinate acuitatea vizuală, TIO, examenul polului anterior și al fundului de ochi, pentru a ne asigura de faptul că se mențin în limitele corespunzătoare. De asemenea au fost efectuate OCT de nerv optic și de maculă, fiind înregistrate pentru prelucrarea statistică valorile RNFL peripapilar și pe cadrane, precum și grosimea medie a complexului CGL-IPL. În urma examinării PEV efectuată în cadrul fiecărei vizite au fost colectate în vederea prelucrării statistice amplitudinea (mV) și latența (ms) undei P100 de la examinările pattern la 1° și la 15 min, dar și ale undei P2 de la examinarea flash.

7.2.2 Metode de examinare clinice și paraclinice

Datele necesare selecției pacienților și urmăririi a celor incluși în studiul doctoral au fost obținute prin mijloace de examinare clinice și paraclinice, precum:

- ***Determinarea acuității vizuale*** – s-a realizat cu ajutorul optotipului Snellen
- ***Determinarea TIO*** – s-a făcut prin intermediul aplanotonometrului Goldman
- ***Examenul polului anterior și al fundului de ochi*** – a fost realizat utilizând biomicroscopul și lentila Volk® de 90D.
- ***Determinarea câmpului vizual computerizat*** – Perimetria automată standard a fost realizată prin intermediul perimetrului automat PTS-910 (Optopol®),
- ***Gonioscopia*** a fost realizată cu lentila de gonioscopie cu 3 oglinzi (Volk®).

- **Determinarea grosimii RNFL peripapilar și a grosimii stratului CGL** - Pentru măsurarea acestor parametrii s-a realizat OCT al nervului optic și maculei cu ajutorul aparatului Cirrus™ HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin)

- **Determinarea PEV**

Pentru **efectuarea PEV** am utilizat un echipament RETI-port MINIganzfeld I8 (Roland Consult™) dotat cu electrozi de aur. Protocolul de examinare utilizat pentru culegerea PEV a fost stabilit de către societatea ce reglementează efectuarea acestei investigații, ISCEV, și se regăsește în ghidul acesteia.

Investigația PEV a fost realizată într-o cameră obscură, prin utilizarea echipamentului mai sus menționat conectat la un calculator prevăzut cu un soft ce înregistrează traseul PEV pe măsura efectuării lui. Au fost realizate 2 tipuri de stimulări, pattern și flash.

Culegerea undelor PEV s-a realizat prin intermediul a 3 electrozi de Au poziționați la nivelul scalpului după degresarea în prealabil a locului în care urmau a fi fixați cu o pastă degresantă și atașarea la scalp cu un agent de cuplare. Amplasarea celor 3 electrozi s-a făcut respectând normele impuse de ISCEV, astfel:

- Electrocul activ – a fost amplasat la 2 cm inferior de tuberozitatea occipitală, la nivelul inionului, locul de proiecție a scoarței a centrilor vizuali occipitali;
- Electrocul de referință – la nivel frontal;
- Electrocul indiferent – la nivelul vertexului.

Ca urmare a stimulării pattern și flash au fost înregistrate trasee ale undelor, cele care au prezentat interes pentru analiza statistică fiind unda P100 (Pattern la 1° și la 15min) și unda P2 (Flash). Amplitudinea (μV) și latența (msec) acestora au fost utilizate pentru prelucrarea statistică ulterioară.

Principalul rol al examinării PEV este acela de a stabili integritatea funcțională a căilor vizuale anterioare. Obținerea unei latențe crescute prin stimularea unui ochi și a unei latențe normale la examinarea ochiului contralateral semnifică afectarea funcțională a căilor vizuale anterioare de partea latenței crescute

În neuropatia din GPUD se produce apoptoza CGL, responsabilă de apariția defectelor câmpului vizual. Latența răspunsului PEV poate oferi informații cu privire la integritatea și

funcționarea acestui strat retinian. Deși PEV este util în diagnosticul defectelor de conducere la nivelul căilor vizuale anterioare, nu poate diferenția etiologia. Măsurarea latenței undelor PEV poate fi un indicator al disfuncției glaucomatoase precoce, înainte să apară pierderi ale CGL, fiind utilizat ca un indicator al afectării CGL în studiile privind rolul tratamentului neuroprotector în GPUD. (25)

7.2.3 Analiza statistică

Datele care au fost colectate de la subiecții incluși în studiu au fost stocate într-o bază de date, transformate în variabile cantitative continue și calitative dihotomiale și analizate cu ajutorul softului IBM SPSS 20.

Inițial s-a realizat o caracterizare descriptivă a fiecăruia dintre grupuri (control și studiu). Pentru variabilele *calitative* s-au calculat frecvențele absolute și s-a folosit reprezentarea grafică sub formă de diagrame circulare. Pentru variabilele *cantitative*, s-au calculat parametrii descriptivi (ai tendinței centrale: medie, mediană; ai dispersiei: deviația standard) și s-au folosit grafice de tip bară, liniare sau tip box-plot.

Când s-a dorit o analiză a varianței între mai mult de 2 grupuri în care distribuția valorilor variabilei de interes a fost una parametrică s-a folosit *testul one-way analysis of variance* (ANOVA). Un astfel de test arată dacă grupurile diferă între ele însă pentru a identifica între care dintre grupuri există o diferență s-au realizat *teste post-hoc cu corecție Bonferroni*.

7.3 Rezultate

7.3.1 Analiza parametrilor din lotul de studiu

Sexul

Din totalul celor 20 de pacienți incluși în lotul de studiu și care s-au menținut pe parcursul celor 12 luni, 85% au fost de sex feminin, respectiv 17 pacienți, iar 15% de sex masculin, respectiv 3 pacienți. (Figura 15)

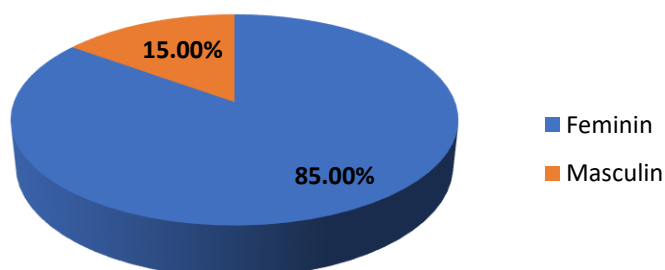


Figura 15. Distribuția pe sexe a subiecților din lotul de studiu

Vârsta

Subiecții lotului de studiu au avut vârste cuprinse între 33 și 73 de ani, cu o medie \pm SD = 59.50 \pm 11.25 și o mediană de 63 de ani. În histograma din Figura 16 se observă o distribuție alungită la stânga (skewness = -1.24) cu intervalul având cea mai mare frecvență (nr. Subiecți = 7) fiind între aproximativ 60 și 65 de ani.

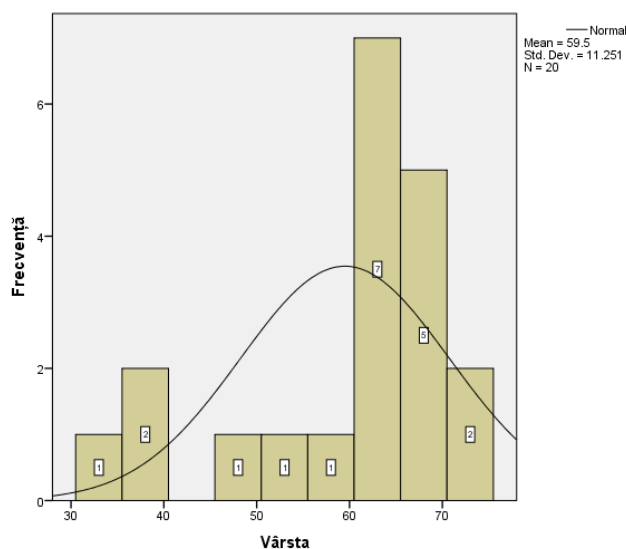


Figura 16. Distribuția pe grupe de vârstă a pacienților din lotul de studiu

Grosimea stratului CGL retiniene în lotul de studiu

Prin aplicarea unui test one-way ANOVA cu corecție Bonferroni s-a arătat că nu a existat o diferență semnificativă statistic între media valorilor grosimii stratului CGL retiniene între cele 5 vizite ($F = .11$, $p = .98$, $df = 4$). Evoluția grosimii medii a stratului CGL pe parcursul celor 12 luni de studiu, pentru fiecare vizită, este redată în *Figura 17*.

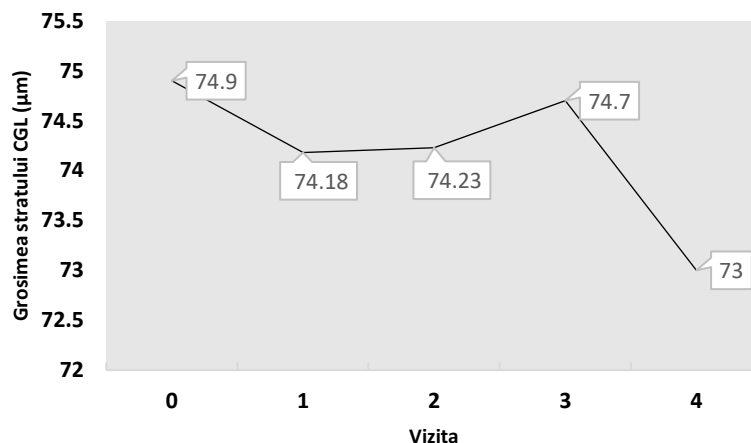


Figura 17. Evoluția grosimii medii a stratului CGL în lotul de studiu la vizite succesive pe parcursul a 12 luni

Evoluția grosimii RNFL în fiecare cadran la lotul de studiu

Am analizat evoluția grosimii stratului de fibre nervoase retiniene peripapilar la lotul de studiu pentru a observa dacă tratamentul cu citicolină poate induce modificări la acest nivel. Astfel, analiza statistică a fost realizată pentru fiecare cadran în parte, rezultatele fiind prezentate în cele ce urmează.

La vizita inițială pacienții din lotul de studiu au avut valori ale grosimii RNFL în *cadranul superior* cuprinse între 49 µm și 135 µm cu o medie \pm SD = 89.58 µm \pm 25.03 µm, pentru ca la vizitele ulterioare valorile să fie cele redată în *tabelul 13*. Un test One-Way ANOVA cu corecție Bonferroni a arătat că nu a existat o diferență semnificativă statistic între media valorilor RNFL din cadranul superior între vizite ($F = .01$, $p = 1$, $df = 4$).

Vizită	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	40	89.58	25.028	3.957	81.57	97.58	49	135
1	40	89.35	26.374	4.170	80.92	97.78	46	145
2	40	88.98	25.783	4.077	80.73	97.22	46	141
3	40	88.78	24.743	3.912	80.86	96.69	50	144
4	40	88.40	24.438	3.864	80.58	96.22	46	137
Total	200	89.02	25.031	1.770	85.52	92.51	46	145

Tabel 13. Date de statistică descriptivă pentru grosimea RNFL din cadranul superior la vizite succesive în lotul de studiu

Grosimea RNFL din *cadranul inferior* la debut în lotul de studiu a avut valori cuprinse între 39 μm și 146 μm cu o medie \pm -SD = 89.2 μm \pm -32.54 μm , iar la celelalte vizite valorile măsurate sunt redate în *tabelul 15*.

Vizite	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	40	89.23	32.543	5.146	78.82	99.63	39	146
1	40	88.38	34.218	5.410	77.43	99.32	27	161
2	40	87.98	33.345	5.272	77.31	98.64	20	145
3	40	87.70	31.922	5.047	77.49	97.91	40	140
4	40	87.40	33.416	5.284	76.71	98.09	21	146
Total	200	88.14	32.770	2.317	83.57	92.70	20	161

Tabel 15. Date de statistică descriptivă pentru valorile grosimii RNFL din cadranul inferior la vizite succesive în lotul de studiu

7.3.2 Studii de corelație între parametrii structurali și cei funcționali în glaucom

- Corelația grosimii stratului CGL cu parametrii undei P100 la examinarea PEV pattern la 1°

Am studiat corelația dintre grosimea stratului CGL și amplitudinea undei P100 obținută în urma examinării PEV pattern la 1°, obținând o valoare a coeficientului Pearson de 0.47, ceea ce semnifică existența unei corelații moderate între cei doi parametri. ($p=.00$) (Figura 29) Astfel observăm faptul că valorile reduse ale grosimii stratului CGL au drept corespondent valori scăzute ale amplitudinii undei P100, iar o grosime crescută a stratului CGL au drept corespondent valori mari ale amplitudinii aceleiași unde.

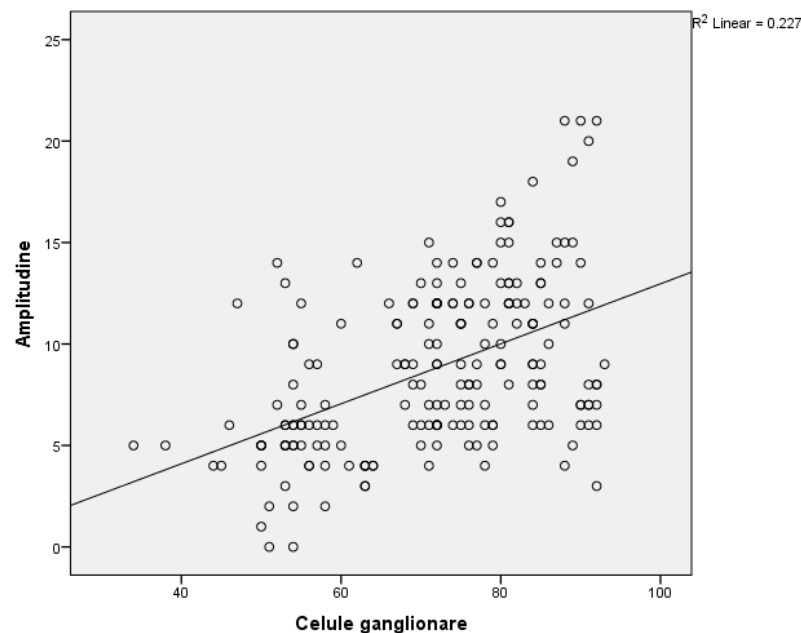


Figura 29. Corelație între grosimea stratului CGL și amplitudinea P100 la PEV pattern 1° la pacienții cu glaucom

Analiza relației dintre grosimea stratului CGL și latența undei P100 la examinarea PEV pattern la 1° arată existența unei corelații negative, semnificativă statistic (coeficient Pearson -3.45, $p = .00$), aceasta fiind ilustrată în Figura 30, ceea ce reprezintă asocierea valorilor mici ale grosimii stratului CGL cu valori crescute ale latenței și invers.

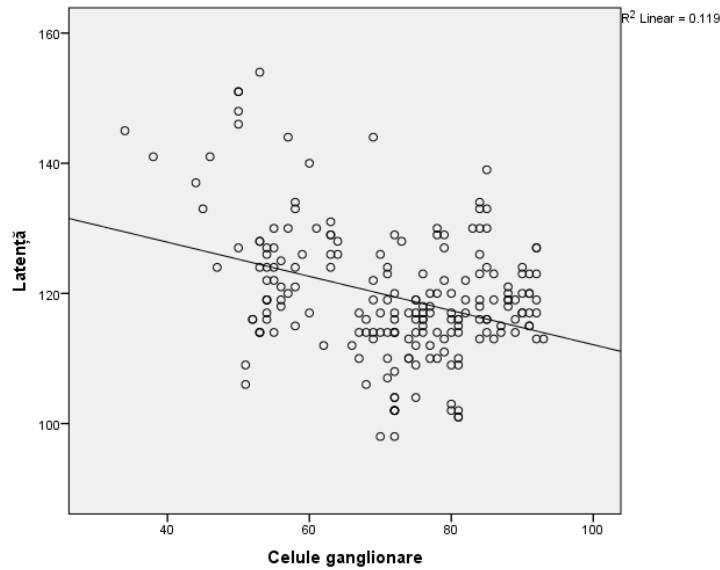


Figura 30. Corelație între grosimea stratului CGL și latența P100 la PEV pattern 1° la pacienții cu glaucom

- Corelația grosimii RNFL cu parametrii undei P100 la examinarea PEV pattern la 15'

În ceea ce privește relația grosimii RNFL cu amplitudinea PEV pattern la 15', am identificat o relație liniară între acestea, corelația fiind semnificativă din punct de vedere statistic, moderată (Pearson = .52, $p=0.00$) și pozitivă. Aceasta semnifică faptul că valorilor scăzute ale RNFL le sunt asociate amplitudini reduse ale undei P100, iar valorilor RNFL crescute, amplitudini mari ale undei P100. (Figura 34.) Nu s-a identificat o relație liniară între grosimea RNFL la pacienții cu glaucom și latența undei P100 măsurată la 15'.

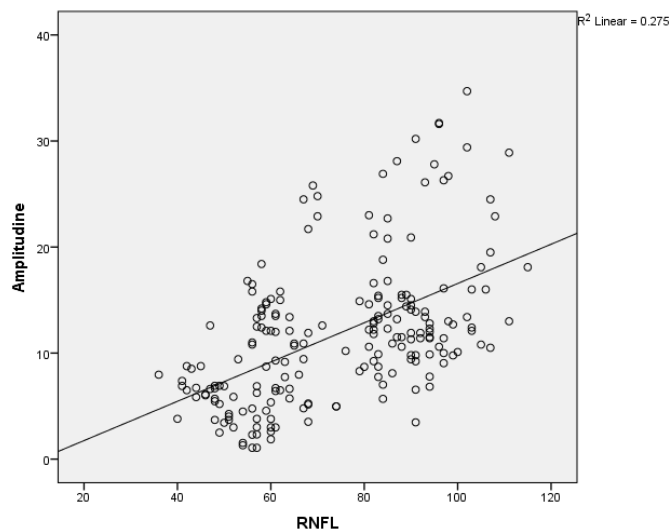


Figura 34. Corelație între grosimea RNFL și amplitudinea P100 la PEV pattern la 15' la pacienții cu glaucom

7.3.4 Analiza parametrilor din lotul martor și evoluția comparativ cu lotul de studiu

Evoluția grosimii RNFL total

În ceea ce privește evoluția comparativă a grosimii stratului fibrelor nervoase retiniene peripapilar, un test Split-Plot ANOVA a arătat că diferența dintre valorile RNFL în lotul martor la începutul studiului și cele de la finalul studiului a fost semnificativ mai mare comparativ cu diferența măsurată între aceleași două intervale de timp în lotul de studiu ($F = 9.42$, $p = .00$) (Figura 37). Deși în ambele loturi evoluția RNFL a avut un trend descendent între vizita inițială și cea de la 12 luni, scădere mai pronunțată s-a înregistrat în rândul pacienților din lotul martor.

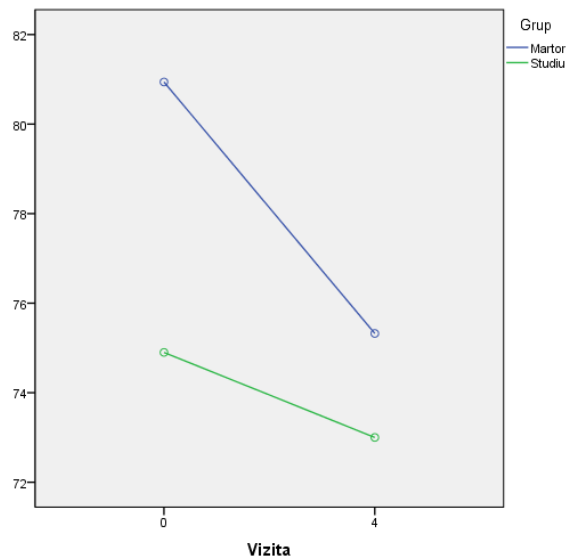


Figura 37. Evoluția comparativă a valorilor grosimii RNFL total în cele două loturi între începutul și finalul studiului

Analiza evoluției RNFL pe cadrane în lotul martor și comparativ între cele două loturi

Printr-un test Split-Plot ANOVA am arătat că diferența dintre valorile RNFL din cadrantul superior în lotul martor la începutul studiului și cele de la finalul studiului a fost semnificativ mai mare comparativ cu diferența măsurată între aceleași două intervale de timp în lotul de studiu ($F = 9.17$, $p = .00$) (Figura 39)

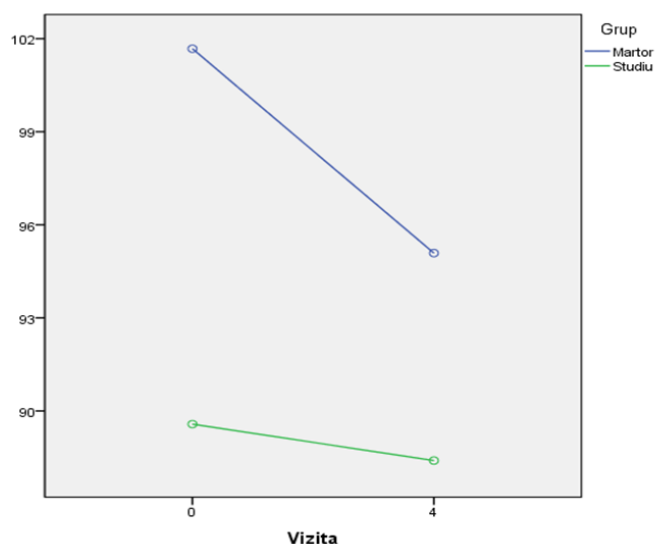


Figura 39. Evoluția comparativă a valorilor medii ale RNFL din cadranul superior în cele două loturi între începutul și finalul studiului

Un test Split-Plot ANOVA a arătat că diferența dintre RNFL măsurat în cadranul inferior la momentul V0 și RNFL măsurat în același cadran la momentul V4 în grupul martor a fost semnificativ mai mare decât diferența dintre RNFL măsurat în același cadran și în același interval de timp în lotul studiu ($F = 8.35$, $p = .00$). (Figura 41)

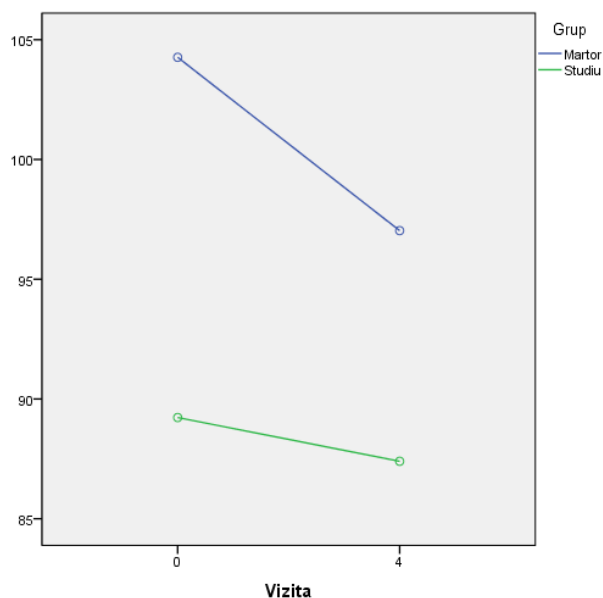


Figura 41. Split-plot ANOVA pentru RNFL măsurat în cadranul inferior la lotul martor vs lotul de studiu între V0 și V4

Analiza statistică a parametrilor examinării PEV pattern la 1° în lotul martor și evoluția comparativ cu lotul de studiu

În *Figura 43* se poate observa trendul descendent al amplitudinii medii a undei P100 între vizita inițială și cea de la vizita de 12 luni în grupul martor spre deosebire de trendul ascendent al amplitudinii medii a undei P100 în grupul de studiu în același interval de timp.

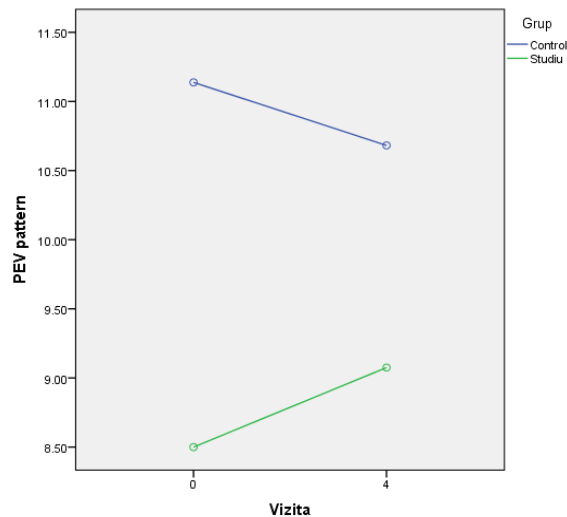


Figura 43. Split Plot ANOVA pentru evoluția valorilor amplitudinii P100 (PEV pattern la 1°) între cele două evaluări la lotul martor vs lotul de studiu

Figura 45 ilustrează trendul ascendent al latenței undei P100 la pacienții din grupul martor consecutiv PEV pattern la 1°, în comparație cu trendul descendent al latenței undei P100 la pacienții din grupul de studiu.

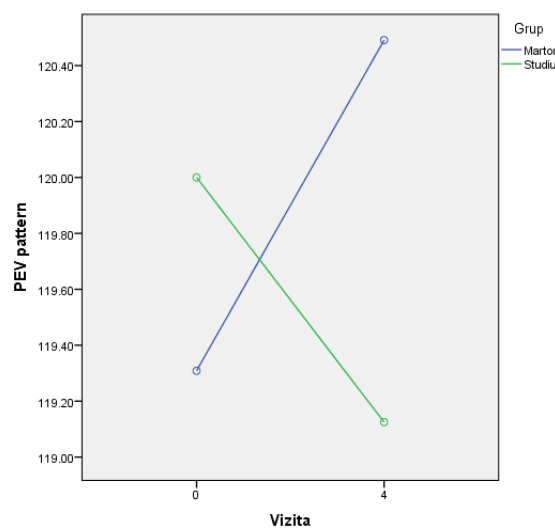


Figura 45. Split Plot ANOVA pentru evoluția valorilor latenței P100 (PEV pattern 1°) între cele două evaluări la grupul de control vs grupul de studiu

7.4 Discuții

Pornind de la definiția conform căreia glaucomul este o neuropatie optică, numeroase studii au încercat să evidențieze rolul diverșilor factori în apariția și progresia acestei afecțiuni. Neurodegenerarea glaucomatoasă apărută ca urmare a stresului oxidativ, mecanic, a ischemiei, a toxicității glutamatului sau a deprivării de factori de creștere neuronală, a fost intens studiată în ultimii ani. Prin urmare neuroprotecția în glaucom reprezintă un domeniu aflat într-o continuă cercetare, fiind explorat de către numeroși cercetători cu scopul identificării unor noi modalități terapeutice menite să îi încetinească progresia. (26-29)

Citicolina este una dintre substanțele cu rol neuroprotector studiate din ce în ce mai intens în ultimii ani, proprietățile sale asupra anumitor parametri fiind evidențiate în cursul a numeroase studii experimentale și terapeutice. (19, 21, 30) Cu toate acestea potențialul moleculei în glaucom m-a determinat să continui cercetările anterioare și să îi studiez suplimentar efectul asupra altor parametri.

Monitorizarea evoluției glaucomului se realizează clinic și paraclinic prin examenul oftalmologic complet, câmp vizual computerizat, OCT de nerv optic și celule ganglionare. În plus, PEV poate oferi date suplimentare prin analiza evoluției parametrilor undelor obținute, așa cum arată studiile efectuate în acest sens. (31-33)

Prezentul studiu doctoral și-a propus analizarea evoluției neuropatiei optice la pacienții glaucomatoși tratați cu citicolină, dar și comparativ cu un lot martor. Ipoteza de la care am pornit a fost cea conform căreia tratamentul neuroprotector poate încetini evoluția progresiei neuropatiei optice glaucomatoase, lucru evidențiat prin investigații specifice structurale, precum OCT de nerv optic și CGL, dar și funcționale precum PEV. Am considerat ca fiind rezultate pozitive ale tratamentului cu citicolină creșterea amplitudinii și scăderea latenței undelor obținute în urma examinărilor PEV, comparând evoluția cu cea a lotului martor, dar și menținerea grosimii RNFL și a stratului CGL pe parcursul tratamentului, de asemenea prin comparație cu lotul martor. În ceea ce privește grosimea RNFL și a stratului CGL consider necesară menționarea faptului că modificările valorilor acestora la vizite succesive în sensul creșterii se pot datora unor erori de măsurare prin subestimarea acestora la vizitele anterioare, așa cum precizează *Chhablani* într-un studiu, având în vedere imposibilitatea regenerării celulelor neuronale. (34)

În paragrafele ce urmează vom prezenta rezultatele unor studii din literatura de specialitate relevante pentru tema studiată, acestea evidențiind importanța tratamentului neuroprotector în glaucom, precum și efectele pozitive ale citicolinei asupra încetirii progresiei neuropatiei optice glaucomatoase.

Distribuția pacienților din studiul doctoral corespunde distribuției din populația generală, majoritatea fiind de sex feminin.(35)

Parisi și colaboratorii au realizat o indexare a studiilor clinice și experimentale cu privire la efectul CDP-colinei asupra populației de CGL, accentuând efectul neuroprotector. Astfel, în studiile experimentale s-a observat că administrarea citicolinei menține stratul CGL și împiedică subțierea RNFL. *Matteuci* și colaboratorii au demonstrat capacitatea citicolinei de a scădea rata apoptozei induse de glutamat într-un model experimental realizat pe o cultură de celule retiniene.(20) Pe de altă parte, în urma studiilor clinice s-a evidențiat reducerea ratei de pierdere a CGL la pacienții glaucomatoși tratați cu citicolină.(18) Rezultatul prezentului studiu doctoral în ceea ce privește populația CGL nu este relevant deoarece diferența înregistrată la finalul studiului față de momentul inițial nu este semnificativă statistic, însă acest aspect ar putea sta la baza continuării cercetării în această direcție.

Același efect protector asupra CGL a fost demonstrat într-un studiu experimental de către *Schuettauf* și colaboratorii prin evidențierea conservării CGL și a axonilor lor la un model animal căruia i-a fost administrată o substanță neurotoxică.(19)

În ceea ce privește evoluția RNFL, literatura de specialitate descrie conservarea stratului de fibre nervoase retiniene măsurate peripapilar la pacienți cu neuropatie optică, însă de cauză ischemică, tratați cu citicolină atât comparativ cu valoarea inițială, dar și comparativ cu un lot martor, la care RNFL, atât total cât și pe sectoare, a înregistrat o reducere pe aceeași perioadă de observație.(36) Rezultatele noastre sunt în concordanță cu cele descrise în literatura de specialitate, constatându-se o ușoară scăderea a RNFL total în lotul de studiu la 12 luni de tratament, dar mai redusă față de cea din lotul martor, în care pierderea RNFL a fost mai accentuată. Având în vedere rata mai crescută de pierdere a RNFL din cadranele superior și inferior în neuropatia optică glaucomatoasă, am analizat de asemenea evoluția RNFL din aceste sectoare. Rezultatele au fost în concordanță cu cele obținute în studiul precedent în ceea ce privește RNFL total, și anume o scădere mai accentuată a RNFL din sectoarele superior și inferior la pacienții din lotul martor pe parcursul studiului comparativ cu cei din lotul de studiu, la care scăderea RNFL în aceleași sectoare a fost semnificativ mai redusă.

În urma celor 2 tipuri de examinare PEV pattern efectuate la pacienții din lotul de studiu s-a constatat tendința de creștere a amplitudinii undei P100 și de scădere a latenței undei P100, însă diferențele constatate de asemenea nu au fost semnificative statistic. Se pune în discuție dacă extinderea lotului într-un studiu ulterior ar putea confirma tendința de evoluție a acestor parametri. Un studiu efectuat de *Rejdak* și colaboratorii a arătat o creștere a amplitudinii și o reducere a latenței undelor PEV după tratamentul oral cu citicolină la pacienții glaucomatoși.(21) Rezultatul acestuia este susținut și de *Parisi* care a demonstrat efectul citicolinei administrată sub forma de colir în îmbunătățirea parametrilor electrofiziologici, în special de reducere a latenței undei P100.(24) Conform unui studiu realizat de același cercetător administrarea citicolinei sub formă injectabilă intramuscular poate de asemenea să îmbunătățească parametrii examinărilor electrofiziologici prin comparație cu un lot martor.(33)

Roberti și colaboratorii identifică scăderea latenței și menținerea la valori constante a amplitudinii undei P100 la pacienții cu GPUD tratați cu citicolină sub formă de colir după 3 luni de tratament.(37) Efecte pozitive asupra testelor electrofiziologice descrie și *Mendonça* și anume normalizarea latenței undelor PEV precum și îmbunătățirea AV la copiii cu ambliopie după 2 luni de tratament oral cu citicolină.(38) *Bubella* și colaboratorii demonstrează de asemenea creșterea amplitudinii și scăderea latenței P100 la pacienții glaucomatoși tratați cu soluție buvabilă de citicolină, comparativ cu un lot de control la care acești parametri au fost staționari.(39) O posibilă explicație a acestor modificări pozitive induse de citicolină ar fi creșterea nivelului de dopamină la nivelul sinapselor neuronale, ceea ce induce o creștere a trăsmiterii impulsului nervos la nivelul căilor vizuale retiniene și postretiniene, așa cum arată literatura de specialitate.(40, 41)

Rezultatele studiului nostru din punct de vedere al parametrilor electrofiziologici între cele 2 loturi de pacienți indică o îmbunătățire a acestora la pacienții tratați cu citicolină comparativ cu lotul martor. Astfel amplitudinea undei P100 înregistrată la PEV Pattern la 1° a crescut la lotul de studiu pe parcursul tratamentului, comparativ cu lotul martor la care în același interval s-a redus, diferența fiind semnificativă statistic. Rezultatele sunt comparabile cu cele obținute de *Parisi* prin administrarea orală a citicolinei la un lot de pacienți glaucomatoși, și la care s-a observat după o perioadă de 1 an o creștere a amplitudinii și o scădere a latenței undei P100 față de un lot martor la care acești parametri au fost staționari.(42) Același autor menționează o creștere a amplitudinii undei P100 la stimularea PEV pattern și o reducere a latenței aceleiași unde la pacienții glaucomatoși cărora le-a fost administrată citicolină oral sau injectabil intramuscular, efecte identificate la 60 de zile după

inițierea tratamentului și pozitive față de grupul de control la care valorile parametrilor au fost staționare. După o perioadă de washout rezultatele obținute în grupul de studiu s-au diminuat, însă cu toate acestea au fost superioare celor dinaintea inițierii tratamentului cu citicolină și celor din grupul martor. Evoluția parametrilor undei P100 este similară cu cea înregistrată în studiul nostru după perioada de tratament, atât în grupul pacienților tratați cu citicolină oral cât și în cel al martorilor.(43)

În ceea ce privește corelațiile obținute în studiul nostru, dintre parametrii structurali și cei funcționali, respectiv dintre grosimea stratului CGL și amplitudinea și latența undei P100, rezultate similare a identificat și *Lee* într-un studiu propriu. Acesta a menționat o corelație mai puternică a grosimii stratului CGL cu latența P100 față de amplitudinea aceleiași unde. Pe baza acestei relații liniare se poate anticipa funcția vizuală a pacienților glaucomatoși.(44)

Rezultatul obținut în prezentul studiu cu privire la corelația RNFL cu amplitudinea și latența P100 este subliniat de *Horn* într-un studiu ce arată relația liniară între RNFL și amplitudinea undelor examinării PEV.(45)

7.5 Concluzii

1. Grosimea medie a stratului CGL nu a înregistrat modificări semnificative din punct de vedere statistic la pacienții tratați cu citicolină pe parcursul celor 12 luni. Menținerea grosimii stratului CGL în limite constante, fără a înregistra variații majore, în sensul reducerii acestuia, ar putea fi rezultatul efectului neuroprotector al citicolinei, însă studii ulterioare sunt necesare în această direcție, pe un lot extins de pacienți, pentru a putea confirma această ipoteză. Menținerea CGL suspuse apoptozei a fost deja demonstrată în studii experimentale.
2. Pacienții glaucomatoși suferă o scădere a grosimii RNFL total peripapilar în decursul unui an, însă pierderile sunt mai reduse la cei tratați cu citicolină ($1.9\mu\text{m}$) față de un lot martor ($5.61\mu\text{m}$), ceea ce demonstrează efectul neuroprotector al acestei substanțe.
3. Citicolina conservă fibrele nervoase din sectoarele superior și inferior ale nervului optic, cele mai susceptibile la degenerarea glaucomatoasă, lucru demonstrat prin pierderea mai redusă a grosimii medii a RNFL din aceste sectoare la lotul de studiu (superior $1.18\mu\text{m}$, inferior $1.83\mu\text{m}$) comparativ cu lotul martor (superior $6.59\mu\text{m}$, inferior $6.96\mu\text{m}$).
4. Parametrii electrofiziologici s-au îmbunătățit la pacienții cu GPUD tratați cu citicolină. Astfel, evoluția amplitudinii undei P100 la lotul de studiu a avut un trend ascendent pe parcursul celor 12 luni, pe când la pacienții din lotul martor trendul amplitudinii undei P100 a fost descendent. Aceste observații sunt evidențiate la ambele tipuri de examinare PEV Pattern, atât la 1° cât și la $15'$, iar diferențele înregistrate au fost semnificative din punct de vedere statistic.
5. Latența undei P100 a scăzut în lotul de studiu raportat la lotul martor, în care s-a observat o creștere pe parcursul celor 12 luni. La ambele timpuri de examinare PEV Pattern, atât la 1° cât și la $15'$ am obținut aceleași rezultate.

6. Ameliorarea parametrilor electrofiziologici ai PEV Pattern după 12 luni, semnificativă din punct de vedere statistic, respectiv creșterea amplitudinii și scăderea latenței în lotul de studiu, pot fi considerate rezultate pozitive ale tratamentului oral cu citicolină la pacienții cu GPUD.
7. Examinarea PEV de tip Flash a oferit informații contradictorii față de cele 2 examinări PEV Pattern, iar diferențele înregistrate între debutul și finalul studiului nu au fost semnificative statistic.
8. De asemenea am identificat o corelație medie și pozitivă între grosimea stratului CGL și amplitudinea undei P100, atât la examinarea PEV Pattern la 1° cât și la 15', dar și o relație liniară semnificativă statistic între grosimea stratului CGL și latența P100 la 1°.
9. Există o corelație medie și semnificativă statistic, pozitivă, între grosimea RNFL peripapilar și amplitudinea undei P100 atât la 1° cât și la 15', precum și o relație liniară, negativă, între același parametru și latența P100 la 1°. Nu am identificat o corelație între grosimea RNFL peripapilar și latența undei P100 la 15'. Corelațiile identificate în cadrul studiului pot contribui la aprecierea integrității funcționale a căilor vizuale la pacienții glaucomatoși prin raportarea la datele structurale precum grosimea stratului CGL sau a RNFL peripapilar.
10. Rolul neuroprotector al citicolinei administrată oral la pacienții cu GPUD este demonstrat în studiul de față prin conservarea unor elemente structurale și îmbunătățirea anumitor parametri funcționali specifici monitorizării neuropatiei optice glaucomatoase.
11. Trebuie luate în considerare totodată limitele studiului, care au fost reprezentate de numărul redus de pacienți înrolați precum și de durata relativ scurtă de 12 luni. Extinderea studiului pe o perioadă mai lungă de timp ar putea contribui la întărirea rezultatelor obținute și la confirmarea acelor ce nu au fost semnificative statistic în prezentul studiu.

Bibliografie selectivă (din totalul celor 177 note bibliografice ale tezei)

1. Wallace L, Alward M. AAO - Color Atlas of Gonioscopy - Anatomy of the Angle. 2017.
2. Dumitrache M. Tratat de Oftalmologie: Editura Universitară "Carol Davila", București. 2012.
3. Ophthalmology AAo. Glaucoma - Basic and Clinical Science Course: American Academy of Ophthalmology. 2012;10.
4. Kanski J, Bowling B. Clinical Ophthalmology - A Systematic Approach. 2011:311-99.
5. Ophthalmology AA. AAO - Fundamentals and Principles of Ophthalmology. 2012.
6. Yanoff M, Dunker JS. Ophthalmology, 4th Edition. Elsevier Saunders. 2014:1001-173.
7. EUGS. Terminology and Guidelines for Glaucoma, 4th Edition: European Glaucoma Society. 2014.
8. Chiseliță D. Glaucom primitiv cu unghi deschis-gânduri și sinteze practice: Editura "Gr.T.Popa", U.M.F. Iași. 2014.
9. Fleenor DL, Shepard AR, Hellberg PE, Jacobson N, Pang I-H, Clark AFJIo, et al. TGFβ2-induced changes in human trabecular meshwork: implications for intraocular pressure. 2006;47(1):226-34.
10. Kielczewski JL. Insight into the Immune System and Glaucoma. The Ophthalmology Open Journal. 2017.
11. Jonas JB, Königsreuther KAJAjo. Optic disk appearance in ocular hypertensive eyes. 1994;117(6):732-40.
12. Airaksinen PJ, Tuulonen A, Alanko HIJAoO. Rate and pattern of neuroretinal rim area decrease in ocular hypertension and glaucoma. 1992;110(2):206-10.
13. Tuulonen A, Airaksinen PJJAJoo. Initial glaucomatous optic disk and retinal nerve fiber layer abnormalities and their progression. 1991;111(4):485-90.
14. Hitchings RA, Spaeth GJBjoo. The optic disc in glaucoma. I: Classification. 1976;60(11):778-85.
15. Nouri-Mahdavi K, Hoffman D, Coleman AL, Liu G, Li G, Gaasterland D, et al. Predictive factors for glaucomatous visual field progression in the Advanced Glaucoma Intervention Study. 2004;111(9):1627-35.
16. Adhi M, Duker JSJCoio. Optical coherence tomography—current and future applications. 2013;24(3):213.
17. Grieb P, Rejdak RJJOnr. Pharmacodynamics of citicoline relevant to the treatment of glaucoma. 2002;67(2):143-8.
18. Parisi V, Oddone F, Ziccardi L, Roberti G, Coppola G, Manni GJCN. Citicoline and retinal ganglion cells: effects on morphology and function. 2018;16(7):919-32.
19. Schuettauf F, Rejdak R, Thaler S, Bolz S, Lehaci C, Mankowska A, et al. Citicoline and lithium rescue retinal ganglion cells following partial optic nerve crush in the rat. 2006;83(5):1128-34.
20. Matteucci A, Varano M, Gaddini L, Mallozzi C, Villa M, Pricci F, et al. Neuroprotective effects of citicoline in in vitro models of retinal neurodegeneration. 2014;15(4):6286-97.
21. Rejdak R, Toczolowski J, Kurkowski J, Kamiński M, Rejdak K, Stelmasiak Z, et al. Oral citicoline treatment improves visual pathway function in glaucoma. 2003;9(3):PI24-PI8.
22. Parisi V, Coppola G, Centofanti M, Oddone F, Angrisani AM, Ziccardi L, et al. Evidence of the neuroprotective role of citicoline in glaucoma patients. Prog Brain Res. 2008;173:541-54.

23. Parisi V, Centofanti M, Ziccardi L, Tanga L, Michelessi M, Roberti G, et al. Treatment with citicoline eye drops enhances retinal function and neural conduction along the visual pathways in open angle glaucoma. 2015;253(8):1327-40.
24. Parisi V, Oddone F, Roberti G, Tanga L, Carnevale C, Ziccardi L, et al. Enhancement of Retinal Function and of Neural Conduction Along the Visual Pathway Induced by Treatment with Citicoline Eye Drops in Liposomal Formulation in Open Angle Glaucoma: A Pilot Electrofunctional Study. 2019;36(4):987-96.
25. Aminoff MJ. Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology: Expert Consult-Online and Print: Elsevier Health Sciences; 2012.
26. Tamm ER, Ethier CR, Dowling JE, Downs C, Ellisman MH, Fisher S, et al. Biological aspects of axonal damage in glaucoma: A brief review. 2017;157:5-12.
27. Schwartz MJLo, science v. Neurodegeneration and neuroprotection in glaucoma: development of a therapeutic neuroprotective vaccine: the Friedenwald lecture. 2003;44(4):1407-11.
28. Tezel GJPir, research e. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. 2006;25(5):490-513.
29. Schwartz M, Shaked I, Fisher J, Mizrahi T, Schori HJTIN. Protective autoimmunity against the enemy within: fighting glutamate toxicity. 2003;26(6):297-302.
30. Roberti G, Tanga L, Michelessi M, Quaranta L, Parisi V, Manni G, et al. Cytidine 5'-Diphosphocholine (Citicoline) in Glaucoma: Rationale of Its Use, Current Evidence and Future Perspectives. 2015;16(12):28401-17.
31. Jha MK, Thakur D, Limbu N, Badhu BP, Paudel BHJJond. Visual evoked potentials in primary open angle glaucoma. 2017;2017.
32. Parisi VJCN. Impaired visual function in glaucoma. 2001;112(2):351-8.
33. Parisi VJDo. Electrophysiological assessment of glaucomatous visual dysfunction during treatment with cytidine-5'-diphosphocholine (citicoline): a study of 8 years of follow-up. 2005;110(1):91-102.
34. Chhablani J, Krishnan T, Sethi V, Kozak IJSJoO. Artifacts in optical coherence tomography. 2014;28(2):81-7.
35. Vajaranant TS, Nayak S, Wilensky JT, Joslin CEJCoio. Gender and glaucoma: what we know and what we need to know. 2010;21(2):91.
36. Parisi V, Barbano L, Di Renzo A, Coppola G, Ziccardi LJPo. Neuroenhancement and neuroprotection by oral solution citicoline in non-arteritic ischemic optic neuropathy as a model of neurodegeneration: A randomized pilot study. 2019;14(7).
37. Roberti G, Tanga L, Parisi V, Sampalmieri M, Centofanti M, Manni GJJoo. A preliminary study of the neuroprotective role of citicoline eye drops in glaucomatous optic neuropathy. 2014;62(5):549.
38. Mendonça RHFd, Ferreira ELJRBdO. Visual evoked potentials (VEP) and visual acuity improvement after cytidine 52-diphosphocholine (CDP-Choline) therapy in amblyopic patient. 2012;71(5):328-30.
39. Bubella RM, Carità S, Badalamenti R, Bubella DMJOf. Neuroprotezione del paziente con glaucoma cronico ad an golo aperto: Ruolo della citicolina in soluzione orale. 2011;16:171-7.
40. Fresina M, Dickmann A, Salerni A, De Gregorio F, Campos ECJGsAfC, Ophthalmology E. Effect of oral CDP-choline on visual function in young amblyopic patients. 2008;246(1):143-50.
41. Pawar PV, Mumbare SS, Patil MS, Ramakrishnan SJJoo. Effectiveness of the addition of citicoline to patching in the treatment of amblyopia around visual maturity: a randomized controlled trial. 2014;62(2):124.

42. Parisi V, Manni G, Centofanti M, Angrisani A, Ricci B, Bucci MG. Oral Treatment With Cytidine-5'-Diphosphocholine (Citicoline) Improves Visual Evoked Cortical Responses in Patients With Optic Nerve Diseases. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2007;48(13):4817-.
43. Parisi V, Coppola G, Centofanti M, Oddone F, Angrisani AM, Ziccardi L, et al. Evidence of the neuroprotective role of citicoline in glaucoma patients. 2008;173:541-54.
44. Lee J-Y, Cho K, Park K-A, Oh SYJ. Analysis of retinal layer thicknesses and their clinical correlation in patients with traumatic optic neuropathy. 2016;11(6):e0157388.
45. Horn FK, Kaltwasser C, Jünemann AG, Kremers J, Tornow RP. Objective perimetry using a four-channel multifocal VEP system: correlation with conventional perimetry and thickness of the retinal nerve fibre layer. 2012;96(4):554-9.

Lista lucrărilor științifice publicate pe tema tezei de doctorat

1. **Iulia Chitu**, Ruxandra Tudosescu, Costin Leasu-Branet, Liliana-Mary Voinea, "Citicoline – a neuroprotector with proven effects on glaucomatous disease", *Romanian Journal of Ophthalmology*, Volume 61, Issue 3, July-September 2017. pp:152-158.

<http://rjo.ro/volume-61-issue-3-2017/>

2. **Chițu Iulia**, Voinea Liliana-Mary, Istrate Sânziana, Vrapciu Alexandra, Ciuluvică Radu Constantin, Tudosescu Ruxandra, "The neuroprotective role of citicoline treatment in glaucoma – 6 months results of a prospective therapeutic trial", *Romanian Journal of Ophthalmology*, Volume 63, Issue 3, July-September 2019. pp:222-230

<http://rjo.ro/volume-63-issue-3-2019/>