

lek. Ewa Sikorska

# **Rola czynników neuroprotekcyjnych w patogenezie wybranych chorób oczu**

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

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

Promotor pomocniczy: dr n. med. Kaja Kasarełło

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego  
Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023 r.

**Słowa kluczowe:** BDNF, jaskra, neurodegeneracja, neuroprotekcja, NGF, retinopatia cukrzycowa, retinopatia nadciśnieniowa

**Keywords:** BDNF, glaucoma, neurodegeneration, neuroprotection, NGF, diabetic retinopathy, hypertensive retinopathy

### **Źródło finansowania badań**

Praca powstała w ramach projektu „*TIME 2 MUW doskonałość dydaktyczna szansą rozwoju Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*” współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój na lata 2014-2020, numer umowy o dofinansowanie: POWR.03.05.00-00-Z040/18-00.

## ***Podziękowania***

*Pragnę złożyć szczególne wyrazy podziękowania Promotorowi mojej pracy  
Pani prof. dr hab. n. med. Agnieszce Cudnoch-Jędrzejewskiej  
oraz Promotorowi pomocniczemu Pani dr n. med. Kai Kasarello  
za nieocenioną pomoc, cierpliwość i zaangażowanie  
w trakcie przygotowywania niniejszej pracy doktorskiej.*

*Dziękuję również mojemu Mężowi oraz Rodzinie  
za motywację, wsparcie i zrozumienie.*

## Spis treści

Spis rycin .....	10
Wykaz stosowanych skrótów .....	16
Streszczenie.....	20
Abstract.....	23
1. Wstęp .....	26
1.1. Budowa gałki ocznej.....	26
1.2. Budowa siatkówki.....	27
1.3. Fizjologia procesu widzenia .....	29
1.4. Podział chorób oczu .....	30
1.5. Choroby oczu powodujące ślepotę .....	30
1.6. Choroby neurodegeneracyjne oka.....	31
1.6.1. Jaskra .....	31
1.6.2. Retinopatia nadciśnieniowa .....	35
1.6.3. Retinopatia cukrzycowa .....	37
1.7. Czynniki neuroprotekcjne siatkówki.....	40
1.7.1. BDNF .....	40
1.7.2. NGF.....	45
1.8. Modele zwierzęce badanych chorób .....	46
1.8.1. Zwierzęce modele jaskry .....	47
1.8.2. Zwierzęce modele nadciśnienia tętniczego .....	48
1.8.3. Zwierzęce modele cukrzycy .....	48
2. Założenia i cele pracy .....	50
2.1. Założenia pracy.....	50
2.2. Cele pracy .....	50

3.	Materiały i metody.....	51
3.1.	Zwierzęta i badania przyżyciowe.....	51
3.1.1.	Modele zwierzęce.....	51
3.1.2.	Warunki utrzymania zwierząt.....	51
3.1.3.	Model jaskry i schemat przeprowadzenia badań .....	52
3.1.4.	Model nadciśnienia tętniczego i schemat przeprowadzenia badań.....	54
3.1.5.	Model cukrzycy i schemat przeprowadzenia badań.....	56
3.1.6.	Badania przyżyciowe .....	58
3.1.6.1.	Pomiar masy ciała.....	58
3.1.6.2.	Badania okulistyczne w znieczuleniu wziewnym izofluranem – metoda znieczulenia, obrazowania dna oka i pomiaru ciśnienia śródgałkowego.....	58
3.1.6.3.	Pomiar ciśnienia tętniczego .....	60
3.1.6.4.	Pomiar glikemii .....	61
3.2.	Analiza tkanek wyizolowanych od zwierząt .....	62
3.2.1.	Analiza histopatologiczna.....	63
3.2.2.	Analiza immunoenzymatyczna.....	65
3.3.	Analiza statystyczna.....	65
4.	Wyniki.....	67
4.1.	Model jaskry .....	67
4.1.1.	Badania przyżyciowe .....	67
4.1.1.1.	Ciśnienie śródgałkowe.....	67
4.1.2.	Analiza histopatologiczna.....	69
4.1.2.1.	Grubość siatkówki .....	69
4.1.2.2.	Grubość poszczególnych warstw siatkówki .....	70
4.1.2.3.	Liczba komórek zwojowych siatkówki .....	71
4.1.3.	Analiza immunoenzymatyczna.....	73
4.1.4.	Wyniki korelacji otrzymanych wyników .....	74
4.2.	Model nadciśnienia tętniczego .....	74
4.2.1.	Badania przyżyciowe .....	74
4.2.1.1.	Ciśnienie tętnicze .....	74
4.2.1.2.	Stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka .....	77

4.2.1.3.	Ciśnienie śródgałkowe.....	79
4.2.2.	Analiza histopatologiczna.....	81
4.2.2.1.	Grubość siatkówki.....	81
4.2.2.2.	Grubość poszczególnych warstw siatkówki.....	82
4.2.2.3.	Liczba komórek zwojowych siatkówki.....	83
4.2.3.	Analiza immunoenzymatyczna.....	85
4.2.4.	Wyniki korelacji otrzymanych wyników.....	86
4.2.4.1.	Korelacja wartości SBP i ONL/RT.....	86
4.2.4.2.	Korelacja poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej.....	87
4.2.4.3.	Korelacja poziomu NGF w gałce ocznej i INL/RT.....	88
4.2.4.4.	Pozostałe korelacje.....	89
4.3.	Model cukrzycy.....	89
4.3.1.	Badania przyżyciowe.....	89
4.3.1.1.	Stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka.....	89
4.3.1.2.	Ciśnienie śródgałkowe.....	91
4.3.2.	Analiza histopatologiczna.....	92
4.3.2.1.	Grubość siatkówki.....	92
4.3.2.2.	Grubość poszczególnych warstw siatkówki.....	93
4.3.2.3.	Liczba komórek zwojowych siatkówki.....	94
4.3.3.	Analiza immunoenzymatyczna.....	95
4.3.4.	Wyniki korelacji otrzymanych wyników.....	96
4.3.4.1.	Korelacja współczynnika a/v i poziomu NGF w surowicy.....	96
4.3.4.2.	Korelacja ONL/RT i IPL/RT.....	97
4.3.4.3.	Pozostałe korelacje.....	98
5.	Dyskusja.....	99
5.1.	Model jaskry.....	99
5.1.1.	Rozpoznanie jaskry na podstawie wzrostu ciśnienia śródgałkowego i zmniejszenia ilości komórek zwojowych siatkówki.....	99
5.1.2.	Procesy neurodegeneracyjne siatkówki w przebiegu jaskry.....	100
5.1.3.	Rola BDNF w patogenezie jaskry.....	102
5.1.4.	Rola NGF w patogenezie jaskry.....	104
5.2.	Model nadciśnienia tętniczego.....	105

5.2.1. Rozpoznanie nadciśnienia tętniczego na podstawie pomiarów ciśnienia tętniczego na ogonie .....	105
5.2.2. Morfologia naczyń siatkówki w przebiegu nadciśnienia tętniczego.....	106
5.2.3. Morfologia siatkówki w przebiegu nadciśnienia tętniczego .....	107
5.2.4. Wartości ciśnienia śródgałkowego w przebiegu nadciśnienia tętniczego .....	109
5.2.5. Zmiany poziomu BDNF u szczurów z podwyższonym ciśnieniem tętniczym ..	110
5.2.6. Zmiany poziomu NGF u szczurów z podwyższonym ciśnieniem tętniczym.....	111
5.3. Model cukrzycy .....	113
5.3.1. Rozpoznanie cukrzycy .....	113
5.3.2. Rozpoznanie retinopatii cukrzycowej na podstawie glikemii i współczynnika a/v .....	113
5.3.3. Zaburzenie struktury siatkówki w przebiegu retinopatii cukrzycowej .....	113
5.3.4. Ciśnienie śródgałkowe w przebiegu retinopatii cukrzycowej .....	115
5.3.5. Rola BDNF w przebiegu retinopatii cukrzycowej .....	115
5.3.6. Rola NGF w przebiegu retinopatii cukrzycowej .....	116
6. Wnioski .....	118
7. Podsumowanie.....	119
7.1. Model jaskry .....	119
7.2. Model nadciśnienia tętniczego .....	119
7.3. Model cukrzycy .....	120
7.4. Dalszy kierunek badań .....	121
8. Ograniczenia badania.....	122
9. Piśmiennictwo .....	123
10. Załączniki do pracy doktorskiej .....	146



## Spis tabel

Tabela 1. Podział na grupy myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w doświadczeniu dotyczącym patomechanizmów jaskry.....	53
Tabela 2. Podział na grupy szczurów szczepów SHR i WKY w doświadczeniu dotyczącym patomechanizmów retinopatii nadciśnieniowej. ....	55
Tabela 3. Podział na grupy szczurów szczepu Lewis w doświadczeniu dotyczącym patomechanizmów retinopatii cukrzycowej.....	57
Tabela 4. Analiza opisowa parametrów ocenianych w modelu jaskry (myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6).....	146
Tabela 5. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie C57Bl/6_11t (analiza niekierunkowa [dwustronna]).....	147
Tabela 6. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie C57Bl/6_10m (analiza niekierunkowa [dwustronna]).....	148
Tabela 7. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie DBA/2_11t (analiza niekierunkowa [dwustronna]). ....	149
Tabela 8. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie DBA/2_10m (analiza niekierunkowa [dwustronna]).....	150
Tabela 9. Analiza opisowa parametrów ocenianych w modelu nadciśnienia tętniczego (szczury szczepów SHR i WKY). ....	151
Tabela 10. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie WKY_6t (analiza niekierunkowa [dwustronna]). ....	152
Tabela 11. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie WKY_12t (analiza niekierunkowa [dwustronna]). ....	154
Tabela 12. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie SHR_6t (analiza niekierunkowa [dwustronna]). ....	156
Tabela 13. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie SHR_12t_NAD (analiza niekierunkowa [dwustronna]).....	158
Tabela 14. Analiza opisowa parametrów ocenianych w modelu cukrzycy (szczury szczepu Lewis).....	160
Tabela 15. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie Lewis_KON (analiza niekierunkowa [dwustronna]).....	161
Tabela 16. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie Lewis_CUK (analiza niekierunkowa [dwustronna]).....	163

## Spis rycin

Rycina 1. Mechanizm działania czynników neuroprotekcyjnych (BDNF, NGF) na neurony.	42
Rycina 2. Źródła BDNF wydzielanego do surowicy i gałki ocznej.	43
Rycina 3. Schemat badań przyżyciowych u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w modelu jaskry.	54
Rycina 4. Schemat badań przyżyciowych u szczurów szczepów SHR i WKY w modelu nadciśnienia tętniczego.	56
Rycina 5. Schemat badań przyżyciowych u szczurów szczepu Lewis w modelu cukrzycy.	58
Rycina 6. Przykładowe zdjęcie szczura w trakcie pomiaru ciśnienia śródgałkowego metodą odbiciową.	60
Rycina 7. Przykładowe zdjęcie szczurów w trakcie pomiaru ciśnienia tętniczego na ogonie (szczury szczepów SHR i WKY).	61
Rycina 8. Przykładowe zdjęcie szczurów w trakcie pomiaru glikemii z krwi żyłnej z żyły ogonowej (szczury szczepu Lewis).	62
Rycina 9. Schemat pobrania tkanek do analiz od uśmierconych zwierząt. PFA – paraformaldehyd; sach. – sacharoza.	63
Rycina 10. Średnie wartości ciśnienia śródgałkowego (IOP) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w przebiegu doświadczenia.	68
Rycina 11. Wartości ciśnienia śródgałkowego (IOP) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w dniu uśmiercania. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. * $p < 0,05$ ; ** $p < 0,01$ ; *** $p < 0,001$ .	68
Rycina 12. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka (A) 11-tygodniowej myszy szczepu C57Bl/6; (B) 10-miesięcznej myszy szczepu C57Bl/6; (C) 11-tygodniowej myszy szczepu DBA/2; (D) 10-miesięcznej myszy szczepu DBA/2 z jaskrą. Barwienie hematoksylina + eozyna. RT – grubość siatkówki; ONL – warstwa jądrzasta zewnętrzna; OPL – warstwa spłotowata zewnętrzna; INL – warstwa jądrzasta wewnętrzna; IPL – warstwa spłotowata wewnętrzna. Powiększenie mikroskopowe 200x.	69
Rycina 13. Grubość siatkówki (RT) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. * $p < 0,05$ ; ** $p < 0,01$ ; *** $p < 0,001$ .	70

Rycina 14. Grubość (A) warstwy jądrzastej zewnętrznej; (B) warstwy spłotowatej zewnętrznej; (C) warstwy jądrzastej wewnętrznej; (D) warstwy jądrzastej wewnętrznej siatkówki u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrzastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrzastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  ...71

Rycina 15. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka przedstawiający centralne komórki zwojowe siatkówki (cRGC) i obwodowe komórki zwojowe siatkówki (pRGC): (A) cRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu C57Bl/6; (B) pRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu C57Bl/6; (C) cRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu C57Bl/6; (D) pRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu C57Bl/6; (E) cRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu DBA/2; (F) pRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu DBA/2; (G) cRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu DBA/2 z jaskrą; (H) pRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu DBA/2 z jaskrą. Barwienie hematoksylina + eozyna. Okręgami zaznaczono komórki zwojowe siatkówki, w centralnej i obwodowej części siatkówki. Powiększenie mikroskopowe 200x.....72

Rycina 16. Liczba (A) centralnych komórek zwojowych siatkówki (cRGC) i (B) obwodowych komórek zwojowych siatkówki (pRGC) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  .....73

Rycina 17. Poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w (A) gałce ocznej i (B) surowicy; poziom czynnika wzrostu nerwów (NGF) w (C) gałce ocznej i (D) surowicy u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. Do oznaczeń molekularnych próbki były pulowane – ilość próbek wykorzystana do oznaczeń w każdej grupie wynosiła: C57Bl/6\_11 t – 2 próbki; C57Bl/6\_10m – 4 próbki; DBA/2\_11t – 3 próbki; DBA/2\_10m\_JAS – 3 próbki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej.....74

- Rycina 18. Średnie wartości (A) skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP); (B) rozkurczowego ciśnienia tętniczego (DBP); (C) średniego ciśnienia tętniczego (MAP) u szczurów szczepów SHR i WKY w przebiegu doświadczenia. ....76
- Rycina 19. Wartości (A) skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP); (B) rozkurczowego ciśnienia tętniczego (DBP); (C) średniego ciśnienia tętniczego (MAP) u szczurów szczepów SHR i WKY w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyli oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....77
- Rycina 20. Przykładowe zdjęcia dna oka ze zbliżeniem na tarczę nerwu wzrokowego: (A, B) 6-tygodniowego szczura szczepu WKY; (C, D) 12-tygodniowego szczura szczepu WKY; (E, F) 6-tygodniowego szczura szczepu SHR; (G, H) 12-tygodniowego szczura szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym. Białe odcinki obrazują sposób pomiaru średnicy tętnic siatkówki, czarne odcinki obrazują sposób pomiaru żył siatkówki.....78
- Rycina 21. Średnie wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył siatkówki (a/v) u szczurów szczepów SHR i WKY w przebiegu doświadczenia. ....79
- Rycina 22. Wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył (a/v) u szczurów szczepów SHR i WKY w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyli oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....79
- Rycina 23. Średnie wartości ciśnienia śródgałkowego (IOP) u szczurów szczepów SHR i WKY w przebiegu doświadczenia.....80
- Rycina 24. Wartości ciśnienia śródgałkowego (IOP) u szczurów szczepów SHR i WKY w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyli oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....80
- Rycina 25. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka (A) 6-tygodniowego szczura szczepu WKY; (B) 12-tygodniowego szczura szczepu WKY; (C) 6-tygodniowego szczura szczepu SHR; (D) 12-tygodniowego szczura szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym. Barwienie hematoksylina + eozyna. RT – grubość siatkówki; ONL – warstwa jądrzasta zewnętrzna; OPL – warstwa splotowata zewnętrzna; INL – warstwa jądrzasta wewnętrzna; IPL – warstwa splotowata wewnętrzna. Powiększenie mikroskopowe 200x. ....81
- Rycina 26. Grubość siatkówki (RT) u szczurów szczepów SHR i WKY. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do

- trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....82
- Rycina 27. Grubość (A) warstwy jądrazastej zewnętrznej; (B) warstwy spłotowatej zewnętrznej; (C) warstwy jądrazastej wewnętrznej; (D) warstwy jądrazastej wewnętrznej siatkówki u szczurów szczepów SHR i WKY. ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  ...83
- Rycina 28. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka przedstawiający komórki zwojowe siatkówki (RGC): (A) 6-tygodniowego szczura szczepu WKY; (B) 12-tygodniowego szczura szczepu WKY; (C) 6-tygodniowego szczura szczepu SHR; (D) 12-tygodniowego szczura szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym. Barwienie hematoksylina + eozyna. Okręgami zaznaczono komórki zwojowe siatkówki. Powiększenie mikroskopowe 200x.....84
- Rycina 29. Liczba komórek zwojowych siatkówki (RGC) u szczurów szczepów SHR i WKY. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  .....84
- Rycina 30. Poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w (A) gałce ocznej i (B) surowicy; poziom czynnika wzrostu nerwów (NGF) w (C) gałce ocznej i (D) surowicy u szczurów szczepów SHR i WKY. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....86
- Rycina 31. Korelacja między wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP) i udziałem warstwy jądrazastej zewnętrznej w strukturze siatkówki (ONL/RT) u (A) 6-tygodniowych szczurów WKY; (B) 12-tygodniowych szczurów WKY; (C) 6-tygodniowych szczurów SHR; (D) 12-tygodniowych szczurów SHR z nadciśnieniem tętniczym. ....87
- Rycina 32. Korelacja między poziomem neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) i czynnika wzrostu nerwów (NGF) w gałce ocznej u (A) 6-tygodniowych szczurów WKY; (B) 12-tygodniowych szczurów WKY; (C) 6-tygodniowych szczurów

SHR; (D) 12-tygodniowych szczurów SHR z nadciśnieniem tętniczym. OD <sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm.....	88
Rycina 33. Korelacja między poziomem czynnika wzrostu nerwów (NGF) w gałce ocznej i udziałem warstwy jądrazastej wewnętrznej w strukturze siatkówki (INL/RT) u (A) 6-tygodniowych szczurów WKY; (B) 12-tygodniowych szczurów WKY; (C) 6-tygodniowych szczurów SHR; (D) 12-tygodniowych szczurów SHR z nadciśnieniem tętniczym. OD <sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. ....	89
Rycina 34. Przykładowe zdjęcia dna oka ze zbliżeniem na tarczę nerwu wzrokowego: (A, B) 12-tygodniowego szczura szczepu Lewis; (C, D) 16-tygodniowego szczura szczepu Lewis z cukrzycą. Białe odcinki obrazują sposób pomiaru średnicy tętnic siatkówki, czarne odcinki obrazują sposób pomiaru żył siatkówki. ....	90
Rycina 35. Średnie wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył (a/v) u szczurów szczepu Lewis w przebiegu doświadczenia. STZ – streptozotocyna .....	90
Rycina 36. Stosunek średnicy tętnic do średnicy żył (a/v) u szczurów szczepu Lewis w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.....	91
Rycina 37. Średnie wartości ciśnienia śródgałkowego (IOP) u szczurów szczepu Lewis w przebiegu doświadczenia. STZ – streptozotocyna .....	91
Rycina 38. Wartości ciśnienia śródgałkowego (IOP) u szczurów szczepu Lewis w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.....	92
Rycina 39. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka (A) 12-tygodniowego szczura szczepu Lewis; (B) 16-tygodniowego szczura szczepu Lewis z cukrzycą. W siatkówce szczura z cukrzycą widoczne liczne erytrocyty (zaznaczone strzałkami). Barwienie hematoksylina + eozyna. RT – grubość siatkówki; ONL – warstwa jądrazasta zewnętrzna; OPL – warstwa splotowata zewnętrzna; INL – warstwa jądrazasta wewnętrzna; IPL – warstwa splotowata wewnętrzna. Powiększenie mikroskopowe 200x. ....	92
Rycina 40. Grubość siatkówki (RT) u szczurów szczepu Lewis. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.....	93

- Rycina 41. Grubość (A) warstwy jądrzastej zewnętrznej; (B) warstwy spłotowatej zewnętrznej; (C) warstwy jądrzastej wewnętrznej; (D) warstwy jądrzastej wewnętrznej siatkówki u szczurów szczepu Lewis. ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrzastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrzastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....94
- Rycina 42. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka przedstawiający komórki zwojowe siatkówki (RGC): (A) 12-tygodniowego szczura szczepu Lewis; (B) 16-tygodniowego szczura szczepu Lewis z cukrzycą. Barwienie hematoksylina + eozyna. Okręgami zaznaczono komórki zwojowe siatkówki. Powiększenie mikroskopowe 200x. ....95
- Rycina 43. Liczba komórek zwojowych siatkówki (RGC) u szczurów szczepu Lewis. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  .....95
- Rycina 44. Poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w (A) gałce ocznej i (B) surowicy; poziom czynnika wzrostu nerwów (NGF) w (C) gałce ocznej i (D) surowicy u szczurów szczepu Lewis.  $OD_{450}$  – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .....96
- Rycina 45. Korelacja między wartością stosunku średnicy tętnic do żył (a/v) i poziomem czynnika wzrostu nerwów (NGF) w surowicy u (A) 12-tygodniowych szczurów Lewis; (B) 16-tygodniowych szczurów szczepu Lewis z cukrzycą.  $OD_{450}$  – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm .....97
- Rycina 46. Korelacja między udziałem warstwy jądrzastej zewnętrznej (ONL/RT) i udziałem warstwy spłotowatej wewnętrznej w strukturze siatkówki (IPL/RT) u (A) 12-tygodniowych szczurów Lewis; (B) 16-tygodniowych szczurów szczepu Lewis z cukrzycą. ....97

## Wykaz stosowanych skrótów

<b>a/v</b>	stosunek średnicy tętnic do średnicy żył ( <i>ang. artery/vein</i> )
<b>ADHD</b>	zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi ( <i>ang. Attention Deficit Hyperactivity Disorder</i> )
<b>AF</b>	angiografia fluoresceinowa
<b>AMD</b>	zwyrodnienie plamki żółtej związane z wiekiem ( <i>ang. Age-related Macular Degeneration</i> )
<b>BDNF</b>	neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego ( <i>ang. Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> )
<b>BP</b>	ciśnienie tętnicze ( <i>ang. Blood Pressure</i> )
<b>CACG</b>	przewlekła jaskra z zamkniętym kątem przesączania ( <i>ang. Chronic Angle-Closure Glaucoma</i> )
<b>cGMP</b>	cykliczny guanozyno-3',5'-monofosforan
<b>CNTF</b>	rzęskowy czynnik neurotroficzny ( <i>ang. Ciliary Neurotrophic Factor</i> )
<b>cRGC</b>	centralne komórki zwojowe siatkówki ( <i>ang. central Retinal Ganglion Cells</i> )
<b>DBP</b>	rozkurczowe ciśnienie tętnicze ( <i>ang. Diastolic Blood Pressure</i> )
<b>ELISA</b>	test immunoenzymatyczny ( <i>ang. Enzyme-Linked Immunoassay</i> )
<b>ERG</b>	elektroretinografia ( <i>ang. Electroretinography</i> )
<b>GCL</b>	warstwa komórek zwojowych ( <i>ang. Ganglion Cell Layer</i> )
<b>GDNF</b>	glejopochodny czynnik neurotroficzny ( <i>ang. Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor</i> )
<b>GDx</b>	skaningowa polarymetria siatkówki wykrywająca jaskrę ( <i>ang. laser scanning polarimetry, Glaucoma Detection</i> )
<b>ICD-10</b>	Międzynarodowa Klasyfikacja Chorób, rewizja dziesiąta ( <i>ang. International Classification of Diseases, 10<sup>th</sup> Revision</i> )



<b>IL</b>	interleukina
<b>ILM</b>	warstwa graniczna wewnętrzna ( <i>ang. Inner Limiting Membrane</i> )
<b>INL</b>	warstwa jądrzasta wewnętrzna ( <i>ang. Inner Nuclear Layer</i> )
<b>IOP</b>	ciśnienie śródgałkowe ( <i>ang. Intraocular Pressure</i> )
<b>IPL</b>	warstwa spłotowata wewnętrzna ( <i>ang. Inner Plexiform Layer</i> )
<b>IQR</b>	rozstęp międzykwartyłowy ( <i>ang. Interquartile Range</i> )
<b>MAP</b>	średnie ciśnienie tętnicze ( <i>ang. Mean Arterial Pressure</i> )
<b>NGF</b>	czynnik wzrostu nerwów ( <i>ang. Nerve Growth Factor</i> )
<b>NVG</b>	jaskra neowaskularna ( <i>ang. Neovascular Glaucoma</i> )
<b>OCT</b>	optyczna koherentna tomografia ( <i>ang. Optical Coherence Tomography</i> )
<b>OD</b>	gęstość optyczna ( <i>ang. Optical Density</i> )
<b>OLM</b>	błona graniczna zewnętrzna ( <i>ang. Outer Limiting Membrane</i> )
<b>ONL</b>	warstwa jądrzasta zewnętrzna ( <i>ang. Outer Nuclear Layer</i> )
<b>OPL</b>	warstwa spłotowata zewnętrzna ( <i>ang. Outer Plexiform Layer</i> )
<b>OUN</b>	ośrodkowy układ nerwowy
<b>P2X7R</b>	receptor purynergiczny P2X7
<b>p75<sup>NTR</sup></b>	receptor neurotrofiny pan75 ( <i>ang. pan75 Neurotrophin Receptor</i> )
<b>PEDF</b>	czynnik wywodzący się z nabłonka barwnikowego siatkówki ( <i>ang. Pigment Epithelium-Derived Factor</i> )

<b>PFA</b>	paraformaldehyd
<b>PG</b>	jaskra barwnikowa ( <i>ang. Pigmentary Glaucoma</i> )
<b>POAG</b>	pierwotna jaskra otwartego kąta ( <i>ang. Primary Open-Angle Glaucoma</i> )
<b>pRGC</b>	obwodowe komórki zwojowe siatkówki ( <i>ang. peripheral Retinal Ganglion Cells</i> )
<b>RGC</b>	komórki zwojowe siatkówki ( <i>ang. Retinal Ganglion Cells</i> )
<b>rh-NGF</b>	rekombinowany ludzki czynnik wzrostu nerwów ( <i>ang. recombinant human Nerve Growth Factor</i> )
<b>RNFL</b>	warstwa włókien nerwowych ( <i>ang. Retinal Nerve Fiber Layer</i> )
<b>ROS</b>	reaktywne formy tlenu ( <i>ang. Reactive Oxygen Species</i> )
<b>RPE</b>	nabłonek barwnikowy siatkówki ( <i>ang. Retinal Pigment Epithelium</i> )
<b>RT</b>	grubość siatkówki ( <i>ang. Retinal Thickness</i> )
<b>SBP</b>	skurczowe ciśnienie tętnicze ( <i>ang. Systolic Blood Pressure</i> )
<b>Shp2</b>	białkowa fosfataza tyrozynowa 2 zawierająca region homologii Src 2
<b>SHR</b>	szczur spontanicznie rozwijający nadciśnienie tętnicze ( <i>ang. Spontaneously Hypertensive Rat</i> )
<b>SP-SHR</b>	szczur ze spontanicznym nadciśnieniowym udarem mózgu ( <i>ang. Stroke Prone – Spontaneously Hypertensive Rat</i> )
<b>STZ</b>	streptozotocyna
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	czynnik martwicy nowotworów alfa ( <i>ang. Tumor Necrosis Factor alpha</i> )
<b>TrkA</b>	kinaza receptora tropomiozynowego A ( <i>ang. Tropomyosin Receptor Kinase A</i> )
<b>TrkB</b>	kinaza receptora tropomiozynowego B ( <i>ang. Tropomyosin Receptor Kinase B</i> )

<b>UBM</b>	ultrabiomikroskopia ( <i>ang. Ultrasound Biomicroscopy</i> )
<b>VEGF</b>	czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego ( <i>ang. Vascular Endothelial Growth Factor</i> )
<b>WKY</b>	Wistar-Kyoto
<b>XFG</b>	jaskra w przebiegu zespołu eksfoliacji ( <i>ang. Exfoliative Glaucoma</i> )

## Streszczenie

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **Abstract**

Title: The role of neuroprotective factors in the pathogenesis of selected eye diseases.

The sight is one of the most important senses, and its deterioration or loss is associated with a significant decrease in the quality of life. Blindness is a consequence of many eye diseases, such as cataracts, glaucoma, uncorrected refractive errors, age-related macular degeneration, and diabetic retinopathy. The treatment results are satisfactory only in the case of cataracts and refractive errors, while the therapies for glaucoma, age-related macular degeneration, and diabetic retinopathy are still a significant clinical challenge. These pathologies belong to the group of neurodegenerative diseases, in which irreversible damage to retinal neurons occurs. According to the latest reports, neurodegenerative processes also occur in the course of hypertensive retinopathy. In my doctoral thesis, I focused on researching the pathomechanisms of neurodegenerative diseases, in particular the involvement of neuroprotective proteins, which are responsible for promoting neuron survival.

Glaucoma is a heterogeneous group of diseases that lead to optic neuropathy. In the disease course, the retina shows the loss of retinal ganglion cells, thinning of the retinal nerve fiber layer, and optic nerve head cupping.

Chronic arterial hypertension leads to changes in the structure and function of blood vessels, and their remodeling, which contributes to the development of hypertensive retinopathy. Its course includes the phase of vasoconstriction, sclerosis, exudation, and neuroretinopathy. Although hypertensive retinopathy is known primarily as a vascular disease, there are reports in the literature about the significance of neurodegenerative processes, seen already in the early stages of this disease.

In diabetes mellitus, hyperglycemia leads to damage to vascular cells, which contributes to a change in their morphology and an increase in their permeability, leading to the development of diabetic retinopathy. The following stages of diabetic retinopathy can be distinguished: mild non-proliferative retinopathy, severe non-proliferative retinopathy, and proliferative retinopathy. As a result of retinal vascular disorders, its structure and nerve cells are damaged.

The treatment of glaucoma, hypertensive and diabetic retinopathy is limited to the modification of risk factors - lowering the intraocular pressure, blood pressure, or glycemia. Therefore, new, effective therapies are sought. Proteins that have a potential role in the pathogenesis of

neurodegenerative diseases of the retina are the neuroprotective factors, which include, among others, the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF). However, their role in the process of glaucoma, hypertensive and diabetic retinopathy has not yet been fully explained.

The main purpose of the doctoral thesis was to assess the change in the level of neuroprotective proteins, BDNF and NGF, and to explain their potential role in the pathogenesis of diseases in which retinal neurodegeneration is an underlying mechanism (glaucoma, hypertensive and diabetic retinopathy).

Animal models of eye diseases were used for the research carried out as part of the doctoral thesis. Mice of the DBA/2 strain, that spontaneously develop pigmentary glaucoma, were used as the animal model of glaucoma, rats of the SHR strain, that spontaneously develop arterial hypertension – as the model of arterial hypertension, and rats of the Lewis strain with type 1 diabetes mellitus induced by an intraperitoneal administration of streptozotocin – as the model of diabetes mellitus. Appropriate control groups were selected for all experimental groups. *In vivo* examinations were performed on the animals - eye fundus imaging with the measurement of the ratio of the arterial diameter to the venous diameter, measurement of intraocular pressure, arterial pressure (in the model of hypertension), and glycemia (in the model of diabetes mellitus). In addition, blood and eyeballs were harvested from the animals after sacrifice and subjected to further *postmortem* analyses. A histopathological analysis of the retina was performed (measurement of retinal thickness and thickness of its layers, assessment of the number of retinal ganglion cells) and an enzyme-linked immunoassay to determine the levels of BDNF and NGF in the serum and eyeball homogenate. The results of all assays were compared between the experimental and control groups. In addition, correlations of the measured parameters were counted.

Among mice of the DBA/2 strain, the development of glaucoma was confirmed based on the increased intraocular pressure, while a lower number of retinal ganglion cells and a decrease in the retinal thickness indicated the ongoing process of neurodegeneration. The level of BDNF and NGF in the eyeballs in glaucoma tended to increase with age. The level of BDNF and NGF in the eyeballs of glaucoma mice tended to decrease in comparison to age-matched healthy mice.



Hypertensive retinopathy, characterized by impaired retinal vasculature, was not diagnosed in hypertensive rats; however, significantly higher levels of BDNF in the eyeballs and serum, and NGF in the eyeballs were observed among rats compared to the strain not susceptible to developing arterial hypertension. A higher level of NGF in the eyeballs correlated with a greater thickness of the inner nuclear layer of the retina.

In diabetic rats, diabetic retinopathy was diagnosed based on the dilation of the retinal veins (an increase in the ratio of the arterial diameter to the venous diameter in the eye fundus). In the enzyme-linked immunoassay, a lower level of BDNF was observed in the serum of diabetic rats than in the control group. In addition, there was a very strong correlation between the ratio of the arterial diameter to the venous diameter in the eye fundus and the level of NGF in the serum seen among sick animals.

Based on the obtained results, it can be concluded that: (i) the models of the studied diseases were effectively induced; (ii) neurodegenerative changes of the retina were present in the course of glaucoma and diabetes mellitus; (iii) changes in the level of BDNF and NGF were seen in the tissues of the tested animals (a decrease in the level of proteins in the eyeballs in the glaucoma model, an increase in the level of NGF in the eyeballs in the arterial hypertension model, a decrease in the level of BDNF in the serum in the diabetes mellitus model).

In summary, the involvement of BDNF and NGF in the pathomechanisms associated with the development of retinal pathologies in the course of glaucoma, arterial hypertension, and diabetes mellitus has been demonstrated. Therefore, my doctoral thesis complements the existing knowledge on the role of neuroprotective factors (BDNF, NGF) in the pathogenesis of eye diseases.

## **1. Wstęp**

Narząd wzroku uważany jest za jeden z najważniejszych zmysłów (1), a jego pogorszenie lub utrata znacznie zmniejsza komfort życia. Przeważająca większość chorób oczu może pośrednio lub bezpośrednio prowadzić do utraty wzroku, co jedynie w części przypadków jest odwracalne lub możliwe do ograniczenia. Na przykład, ślepotą spowodowaną spadkiem przezierności rogówki (w wyniku urazu lub infekcji) jest leczona poprzez keratoplastykę (przeszczepienie rogówki) (2). Ślepotą wynikającą ze zmętnienia soczewki w przebiegu zaćmy również może być odwrócona w efekcie zabiegu chirurgicznego, który polega na usunięciu nieprzeziernych soczewki i zastąpieniu jej sztuczną protezą (3). Niestety, w przypadku wielu chorób oczu, utrata wzroku jest nieodwracalna. Choroby oka prowadzące do trwałej ślepoty to między innymi zaburzenia neurodegeneracyjne, w przebiegu których dochodzi do nieodwracanego uszkodzenia neuronów siatkówki oraz drogi wzrokowej (4). Dlatego też, w mojej pracy doktorskiej skupiłam się na badaniach dotyczących patomechanizmów chorób o podłożu neurodegeneracyjnym, a w szczególności roli białek neuroprotektynowych w tym procesie, które odpowiedzialne są przede wszystkim za ochronę neuronów przed śmiercią.

### **1.1. Budowa gałki ocznej**

Gałka oczna to kulista struktura stanowiąca narząd wzroku, której budowa nie różni się znacznie pomiędzy poszczególnymi gatunkami ssaków. Ściana gałki ocznej zbudowana jest z trzech warstw. Najbardziej zewnętrzną warstwą jest twardówka, która dzięki swojej twardej strukturze chroni gałkę oczną przed urazem oraz utrzymuje jej kształt. Twardówka w dużej części jest strukturą nieprzezroczystą, poza przednim biegunem gałki ocznej, w obrębie którego przechodzi w przezierną rogówkę. Pod twardówką zlokalizowana jest błona naczyniowa, której funkcją jest przede wszystkim odżywianie struktur oka. Błona naczyniowa tworzy naczyniówkę, a w obrębie przedniego biegunka gałki ocznej – ciało rzęskowe oraz tęczęwkę. Najbardziej wewnętrzną warstwę stanowi siatkówka, która zbudowana jest z warstwy nabłonka barwnikowego oraz warstw komórek nerwowych odpowiedzialnych za odbiór i transmisję bodźca wzrokowego (5). Niniejsza praca doktorska dotyczy siatkówki, dlatego też jej budowa została dokładnie omówiona w następnym podrozdziale.

Wnętrze gałki ocznej podzielone jest na trzy przestrzenie. Komora przednia znajduje się pomiędzy rogówką, a tęczęwką i soczewką. Tęczęwka jest strukturą okrężną, w środku której znajduje się otwór zwany źrenicą. W miejscu połączenia rogówki z tęczęwką znajduje się kąt

przesączenia, w którym wyspecjalizowany system beleczek odprowadza ciecz wodnistą z gałki ocznej do systemu żylnego. Komorę tylną ogranicza tęczówka, ciało rzęskowe i soczewka, a także utrzymujące ją w miejscu włókna obwódki rzęskowej Zinna. Za soczewką znajduje się natomiast komora ciała szklanego, która jest największą przestrzenią gałki ocznej. W komorze tej znajduje się ciało szklane, które przylega do siatkówki na całej jej powierzchni, przez co stabilizuje jej położenie. Na zewnątrz gałki ocznej znajdują się mięśnie gałkoruchowe oraz aparat ochronny gałki ocznej zbudowany przez powieki, spojówkę oraz narząd łzowy (5).

## 1.2. Budowa siatkówki

Siatkówka jest wysoce wyspecjalizowaną strukturą oka odbierającą bodźce świetlne w zakresie światła widzialnego – u ludzi zakres ten dotyczy długości fal 400-700 nm (6). Zbudowana jest z komórek różnego typu. Pierwszą grupą komórek są neurony, których rolą jest odbiór i przekazanie impulsu wzrokowego. Do neuronów siatkówki należą komórki: fotoreceptorowe (czopki i pręciki), poziome, dwubiegunowe, amakrynowe oraz zwojowe siatkówki (*ang. Retinal Ganglion Cells; RGC*) (7, 8). Poza neuronami obecne są również komórki glijowe, do których należą komórki Müllera, astrocyty oraz mikroglej. Komórki te obecne są we wszystkich warstwach siatkówki, w których pełnią bardzo wiele funkcji. Do najważniejszych z nich należą: odżywanie neuronów, współtworzenie bariery krew-siatkówka, utrzymanie warstwowej budowy siatkówki poprzez strukturalne wsparcie neuronów, regulacja ich metabolizmu, wydzielanie białek czynnych biologicznie odpowiedzialnych za funkcjonowanie, wzrost i przeżycie komórek nerwowych oraz wpływ na procesy immunologiczne. Istotny dla moich badań jest fakt, że komórki gleju wydzielają czynniki neuroprotekcyjne, które wpływają na czas przeżycia neuronów siatkówki (9). Trzecim typem komórek budujących siatkówkę są barwnikowe komórki nabłonkowe tworzące jej najbardziej zewnętrzną warstwę. Jako bariera między naczyniówką i siatkówką, komórki nabłonka barwnikowego regulują dwukierunkowy transport produktów przemiany materii i składników odżywczych. Funkcja ta jest bardzo istotna dla komórek fotoreceptorowych, które znajdują się z bezpośrednim sąsiedztwem komórek nabłonka barwnikowego i są odżywiane głównie przez naczynia krwionośne znajdujące się w obrębie błony naczyniowej. Komórki nabłonka barwnikowego dodatkowo chronią siatkówkę przed uszkodzeniem pochłaniając energię świetlną i neutralizując wytwarzane przez światło reaktywne formy tlenu (10).

W siatkówce ssaków wyróżnia się dziesięć warstw:

- nabłonek barwnikowy siatkówki (*ang. Retinal Pigment Epithelium; RPE*),
- warstwa komórek fotoreceptorowych – pręcików i czopków,
- błona graniczna zewnętrzna (*ang. Outer Limiting Membrane; OLM*),
- warstwa jądrzasta zewnętrzna (*ang. Outer Nuclear Layer; ONL*),
- warstwa spłotowata zewnętrzna (*ang. Outer Plexiform Layer; OPL*),
- warstwa jądrzasta wewnętrzna (*ang. Inner Nuclear Layer; INL*),
- warstwa spłotowata wewnętrzna (*ang. Inner Plexiform Layer; IPL*),
- warstwa komórek zwojowych (*ang. Ganglion Cell Layer; GCL*),
- warstwa włókien nerwowych (*ang. Retinal Nerve Fiber Layer; RNFL*),
- warstwa graniczna wewnętrzna (*ang. Inner Limiting Membrane; ILM*) (7).

Najgrubszymi warstwami siatkówki są trzy warstwy ciał neuronów z jądrami (ONL, INL, GCL) i dwie warstwy wypustek z połączeniami synaptycznymi pomiędzy nimi (OPL, IPL) (11). Jądra komórek fotoreceptorowych tworzą warstwę ONL, a ich wypustki presynaptyczne zlokalizowane są w warstwie OPL, gdzie łączą się z dendrytami komórek dwubiegunowych i poziomych. Wewnątrz warstwy INL zlokalizowane są ciała i jądra komórek poziomych, dwubiegunowych oraz amakrynowych. Aksony komórek dwubiegunowych i amakrynowych tworzą warstwę IPL, gdzie łączą się poprzez synapsy z dendrytami RGC. Ciała RGC zlokalizowane są w obrębie GCL, a ich aksony wewnątrz gałki ocznej tworzą RNFL. Włókna RGC pochodzące z całego obwodu siatkówki kierują się do tarczy nerwu wzrokowego, za którą w formie jednolitego nerwu opuszczają gałkę oczną, aby dotrzeć do mózgu i ośrodków wzrokowych (12, 13, 14).

Siatkówka odżywiana jest przez krew pochodzącą z dwóch źródeł. Środkowa tętnica siatkówki (będąca odgałęzieniem tętnicy ocznej) zaopatruje wnętrze gałki ocznej, do której kieruje się wraz z włóknami nerwu wzrokowego. Następnie dzieli się dychotomicznie, a naczynia włosowate dochodzą aż do warstwy OPL. To unaczynienie odpowiada za 20 – 30% ukrwienia gałki ocznej. 65 – 85% zapewnione jest przez naczynia krwionośne naczyniówki, które odżywiają zewnętrzne warstwy siatkówki, zwłaszcza warstwę fotoreceptorów (15).

### 1.3. Fizjologia procesu widzenia

Światło wpadające do gałki ocznej pokonuje drogę, którą tworzą kolejno: rogówka, komora przednia oka, źrenica, soczewka oraz ciało szkliste. Zadaniem wymienionych struktur jest skupienie promieni świetlnych na siatkówce (refrakcja). Komórkami siatkówki odpowiedzialnymi za odebranie bodźca świetlnego są komórki fotoreceptorowe (czopki i pręciki) (16).

Komórki fotoreceptorowe zawierają barwniki wzrokowe – w czopkach znajduje się jodopsyna, a w pręcikach rodopsyna. Barwniki te, obecne w błonie komórkowej fotoreceptorów, zbudowane są z połączenia dwóch związków: 11-cis-retinalu oraz opsyny. Opsyna przyjmuje kilka form, które różnią się od siebie rodzajem chromoforu, z którym występują w kompleksie – stąd wyróżnić można m. in. rodopsynę i jodopsynę. 11-cis-retinal to cząsteczka posiadająca wiązanie podwójne pomiędzy atomami węgla, przy których podstawniki ustawione są w izomerii *cis*. W warunkach pobudzenia tej cząstki światłem, pojedynczy foton powoduje wzbudzenie elektronu w obrębie wiązania podwójnego. Zaburzenie struktury wiązania umożliwia cząstce izomeryzację z formy *cis* w formę *trans* (11-trans-retinal – forma aktywna o zmienionej konformacji). Odsłonięte miejsca aktywne rozpoczynają kaskadę przekazywania sygnału, aktywując transducynę, która pobudza fosfodiesterazę, a ta z kolei aktywuje hydrolizę cząsteczek cyklicznego guanozyno-3',5'-monofosforanu (cGMP). Następnie otwarte zostają cGMP-zależne kanały błonowe, przez które do cytoplazmy dostają się jony sodowe, powodując depolaryzację błony komórkowej. Cząstka barwnika wzrokowego jest fosforylowana i rozpada się do opsyny i 11-trans-retinalu. 11-trans-retinal jest transportowany do komórek RPE, które odtwarzają strukturę barwnika wzrokowego (17).

Sygnał z fotoreceptorów (I neuronu drogi wzrokowej) przekazywany jest następnie przy pomocy glutaminianu przez synapsy do komórek dwubiegunowych (II neuronu drogi wzrokowej). Proces ten jest regulowany przez komórki poziome. Następnie, impuls z komórek dwubiegunowych dociera do komórek RGC (III neuronu drogi wzrokowej), których włókna tworzą nerw wzrokowy (18, 19, 20). Komórki amakrynowe regulują z kolei pracę oraz sygnał odbierany przez RGC (21). Nerw wzrokowy opuszcza gałkę oczną tworząc tarczę nerwu wzrokowego, a następnie przechodzi przez szczelinę górną oczodołu, za którą spleta się z przeciwległym nerwem wzrokowym tworząc skrzyżowanie wzrokowe. W obrębie skrzyżowania krzyżuje się jedynie część włókien, które stanowią wypustki RGC zlokalizowanych w nosowej części siatkówki (odbierającej impulsy świetlne ze skroniowej

części pola widzenia). Następnie, włókna tworzą pasma wzrokowe, które docierają do jądra kolankowatego bocznego wzgórza, gdzie tworzą synapsę z IV neuronem drogi wzrokowej. Poprzez promienistość wzrokową, włókna docierają do kory wzrokowej zlokalizowanej w płacie potylicznym mózgu, gdzie bodźce wzrokowe są analizowane i interpretowane (22).

Komórki drogi wzrokowej, których aksony łączą gałkę oczną z mózgiem to RGC. Ich obecność jest niezbędna w procesie widzenia, a ich uszkodzenie skutkuje trwałą ślepotą (23). Ochrona tych komórek przed neurodegeneracją stanowi szeroko badaną, potencjalną strategię terapeutyczną w wielu chorobach oczu (24).

#### **1.4. Podział chorób oczu**

Podział chorób oczu może być dokonywany w różny sposób, w zależności od przyjętego kryterium. Najczęściej stosowanym jest podział oparty na obszarze oka zajętego chorobą i ten właśnie podział znalazł zastosowanie w Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób, rewizji dziesiątej (*ang. International Classification of Diseases, 10<sup>th</sup> Revision; ICD-10*) z roku 2008 (25). Klasyfikacja ICD-10 dzieli choroby oczu na:

- zaburzenia powiek, narządu łzowego i oczodołu,
- zaburzenia spojówek,
- zaburzenia twardówki, rogówki, tęczówki i ciała rzęskowego,
- zaburzenia soczewki,
- zaburzenia błony naczyniowej i siatkówki,
- jaskrę,
- zaburzenia ciała szklistego i gałki ocznej,
- zaburzenia nerwu wzrokowego i drogi wzrokowej,
- zaburzenia mięśni gałki ocznej, obuocznej motoryki, akomodacji i refrakcji,
- upośledzenie widzenia i ślepotę,
- inne zaburzenia oka i przydatków oka (25).

#### **1.5. Choroby oczu powodujące ślepotę**

Wiele chorób oczu, jeśli nie jest odpowiednio leczona, może prowadzić do uszkodzenia narządu wzroku, a wtórnie do ślepoty. Dodatkowo, wiele chorób oczu prowadzi do utraty wzroku pomimo prawidłowej terapii. Obszerna meta-analiza oceniająca dane pochodzące z całego

świata z lat 1980-2018 wykazała, że do najczęstszych zaburzeń powodujących ślepotę u osób po 50. roku życia należy zaćma, następnie, w kolejności: jaskra, nieskorygowana wada refrakcji, zwyrodnienie plamki żółtej związane z wiekiem (*ang. Age-related Macular Degeneration; AMD*) oraz retinopatia cukrzycowa (26). Warto zwrócić uwagę na fakt, że spośród wymienionych pięciu najczęstszych chorób powodujących ślepotę, wyniki leczenia są satysfakcjonujące jedynie w przypadku zaćmy i wad refrakcji. Terapia jaskry, AMD oraz retinopatii cukrzycowej stanowi nadal istotne wyzwanie kliniczne. Dlatego też, w pracy doktorskiej skupiłam się na patogenezie jednostek chorobowych należących do grupy chorób neurodegeneracyjnych.

## **1.6. Choroby neurodegeneracyjne oka**

Neurodegeneracja to proces, w przebiegu którego komórki układu nerwowego ulegają uszkodzeniu na skutek czego dochodzi do zaburzenia ich funkcji i ostatecznie śmierci. Większość chorób neurodegeneracyjnych jest nieuleczalnych, a ich objawy pogłębiają się z upływem czasu (27). W okulistyce, choroby neurodegeneracyjne powodują istotne problemy kliniczne obniżające jakość życia pacjentów. Choroby neurodegeneracyjne oka dotyczą siatkówki i/lub nerwu wzrokowego, czyli struktur, które zbudowane są z neuronów. Prowadzą do nieodwracalnej ślepoty, gdyż w ich przebiegu, trwałemu uszkodzeniu ulegają komórki odpowiedzialne za przekazanie informacji z siatkówki do kory wzrokowej mózgu (4). Do chorób tych należą między innymi jaskra, retinopatia cukrzycowa, AMD, dystrofia siatkówki i zwyrodnienie barwnikowe siatkówki (4, 28). Według najnowszych doniesień, degeneracja siatkówki jest również obserwowana w przebiegu retinopatii nadciśnieniowej (29, 30). Dlatego też w pracy doktorskiej skupiono się na roli wybranych czynników neuroprotektoryjnych w patomechanizmie jaskry, retinopatii nadciśnieniowej oraz cukrzycowej (jednostki chorobowe wybrano w oparciu o ich częstość występowania oraz brak skutecznej terapii).

### **1.6.1. Jaskra**

Jaskra jest chorobą przewlekłą, na którą choruje 76 milionów osób na świecie, a przewiduje się, że liczba ta w roku 2040 wzrośnie do 111,8 miliona (31). Jaskra stanowi jedną z najczęstszych przyczyn nieodwracalnej ślepoty u dorosłych na całym świecie (32), choć jej patogeneza do dziś nie została w pełni wyjaśniona.

Definicja jaskry jako choroby zmieniała się wraz z postępem technologicznym oraz diagnostycznym w okulistyce. Początkowo definiowana była jako stan podwyższonego ciśnienia śródgałkowego (*ang. Intraocular Pressure; IOP*), przekraczającego 21 mmHg. W miarę rozwoju oftalmoskopii (wziernikowania dna oka) umożliwiającej coraz dokładniejszą ocenę tarczy nerwu wzrokowego, jaskrę zaczęto definiować jako przewlekłą neuropatię nerwu wzrokowego (33). Podwyższone IOP traktowane jest natomiast jako czynnik ryzyka jej rozwoju, będący wynikiem utrudnionego odpływu cieczy wodnistej z przedniej komory oka (34, 35).

Jaskra to heterogenna grupa chorób prowadząca do uszkodzenia komórek RGC i ich wypustek tworzących nerw wzrokowy. Wspólnymi cechami wszystkich typów jaskry są: utrata komórek RGC, zmniejszenie warstwy włókien nerwowych siatkówki i widoczne zagłębienie w obrębie tarczy nerwu wzrokowego (36, 37). Jaskra jest najczęściej dzielona na podstawie morfologii kąta przesączania ocenianego w gonioskopii (wizualna ocena obrazu kąta przesączania przy użyciu specjalnej soczewki lub lustra). Wyróżnić można jaskrę kąta otwartego, gdzie kąt stworzony przez rogówkę oraz tęczęwkę i ciało rzęskowe jest większy niż  $20^\circ$ , i jaskrę kąta zamkniętego, charakteryzującą się mniejszą wartością kąta. Inny podział wyróżnia jaskrę pierwotną, której przyczyna jest często niezidentyfikowana, oraz jaskrę wtórną do innej choroby leżącej u podłoża patologii (38).

Najczęstszym typem jaskry jest pierwotna jaskra otwartego kąta (*ang. Primary Open-Angle Glaucoma; POAG*), stanowiąca nawet 75% przypadków. POAG spowodowana jest zwiększoną opornością na drenaż cieczy wodnistej przez beleczkowanie w obrębie kąta przesączania, który jest otwarty. Z powodu tej blokady ciśnienie w oku stopniowo wzrasta, powodując uszkodzenie nerwu wzrokowego (w obrazowaniu dna oka widoczna jest typowa zmiana tarczy nerwu wzrokowego – zwężenie pierścienia nerwowo-siatkówkowego i obecność centralnego zagłębienia w obrębie tarczy). Z czasem dochodzi do utraty widzenia obwodowego, co powoduje postępującą utratę wzroku, do ślepoty włącznie. Należy jednak pamiętać, że podwyższone IOP nie jest kryterium wymaganym do rozpoznania POAG (39).

Jaskra kąta zamkniętego spowodowana jest zbliżeniem tęczęwki do rogówki i zamknięciem drogi odpływu cieczy wodnistej z komory przedniej oka, co skutkuje wzrostem IOP. Proces ten może być nagły – stanowi podstawę rozpoznania ostrego ataku jaskry. Zamknięcie kąta może być również spowodowane długotrwałym pociągnięciem tęczęwki do przodu, na przykład przez zrosty w obrębie przedniej komory oka (wytworzone w odpowiedzi na zapalenie), lub



przesunięcie tęczówki jako skutek bloku źrenicznego (który może być spowodowany m.in. przez dociśnięcie tęczówki przez powiększającą się soczewkę w przebiegu zaćmy). Stan przewlekły, w którym zmiany pojawiają się stopniowo, nazywany jest przewlekłą jaskrą z zamkniętym kątem przesączania (*ang. Chronic Angle-Closure Glaucoma; CACG*). CACG jest drugim co do częstości typem jaskry rozpoznawanym u pacjentów (40).

Jako że nie każdy przypadek jaskry jest związany z podwyższeniem IOP, wyodrębniony został specjalny podtyp POAG – jaskra normalnego ciśnienia. Jest to pierwotna neuropatia nerwu wzrokowego nieznanego przyczyny, która charakteryzuje się: (i) prawidłowymi wartościami IOP (< 22 mmHg), (ii) obecnością charakterystycznych dla POAG zmian w obrębie tarczy nerwu wzrokowego oraz uszkodzeniem warstwy siatkówki RNFL zawierającej aksony RGC, (iii) ubytkami w polu widzenia odpowiadającymi uszkodzeniom RNFL, (iv) otwartym kątem przesączania oraz (v) wykluczeniem innych przyczyn patologii.

Do często rozpoznawanych typów jaskry, które charakteryzują się określoną przyczyną, należą jaskra barwnikowa (*ang. Pigmentary Glaucoma; PG*), jaskra w przebiegu zespołu eksfoliacji (*ang. Exfoliative Glaucoma; XFG*) oraz jaskra neowaskularna (*ang. Neovascular Glaucoma; NVG*). PG to typ wtórnej jaskry otwartego kąta, gdzie odpływ cieczy wodnistej z gałki ocznej jest utrudniony z powodu akumulacji cząstek pigmentu w obrębie struktur przedniego odcinka gałki ocznej, w tym w rejonie kąta przesączania. Prowadzi to do wzrostu IOP i neuropatii (41). XFG to najczęściej spotykany typ wtórnej jaskry otwartego kąta rozwijającej się w przebiegu zespołu eksfoliacji – związanej z wiekiem elastozy (choroba związana z zaburzeniem metabolizmu elastyny), w wyniku której do cieczy wodnistej przedniej komory oka wydzielane są nieprawidłowe cząsteczki białka, które odkładają się na jej strukturach. Również beleczkowanie w obrębie kąta przesączania jest blokowane przez gromadzące się włókna białkowe, co prowadzi do wzrostu IOP i uszkodzenia nerwu wzrokowego (42). NVG spowodowana jest neowaskularyzacją w okolicach kąta przesączania (patologicznym procesem rozrostu naczyń w obrębie tkanki, która nie powinna być unaczyniona). Do neowaskularyzacji dochodzi w odpowiedzi na niedotlenienie i niedokrwienie. Częstymi przyczynami NVG jest długotrwała cukrzyca oraz niedrożność żyły centralnej siatkówki w wyniku zakrzepu. W przebiegu NVG dochodzi do zamknięcia drogi odpływu cieczy wodnistej, wzrostu IOP i neuropatii (43).

Pomimo bardzo licznych i różnorodnych przyczyn jaskry, efekt końcowy w formie uszkodzenia nerwu wzrokowego jest wspólny. Śmierć komórek RGC odbywa się w wyniku apoptozy, która

indukowana jest w różny sposób. Aktualne hipotezy wskazują, że apoptoza RGC w przebiegu jaskry promowana jest przez czynniki: genetyczne, neurotroficzne, autoimmunologiczne, i/lub ekscytotoksyczne (zwyrodnienie neuronów promowane przez aktywację receptorów glutaminergicznych) (44). Przewlekła jaskra w większości przypadków ma przebieg bezobjawowy, przy czym zauważalna utrata wzroku (ubytki w polu widzenia) pojawiają się dopiero przy zaawansowanej neuropatii (32, 45). Ostry atak jaskry jest natomiast związany z: silnym bólem oka oraz głowy, postrzeganiem kolorowego halo wokół źródeł światła, nudnościami i wymiotami, zaczerwienieniem oka oraz niereaktywną, owalną źrenicą (46).

W celu postawienia rozpoznania jaskry oraz różnicowania jej typów, wymagane jest przeprowadzenie szeregu badań diagnostycznych. Podstawowe badania oceniające stan układu wzrokowego pacjenta to:

- fundoskopia (obrazowanie dna oka) – wizualna ocena morfologii tarczy nerwu wzrokowego z uwzględnieniem oceny pierścienia nerwowo-siatkówkowego i obecności centralnego zagłębienia; dodatkowo oceniany jest ubytek RNFL, widoczny jako jaśniejsze kliny odchodzące od tarczy nerwu wzrokowego;
- gonioskopia – wizualna ocena kąta przesączania;
- tonometria – pomiar wartości IOP;
- perymetria – ocena pola widzenia (47, 48).

Pośród metod pomiaru IOP wyróżnić można tonometrię: aplanacyjną, wgłobieniową, odbiciową oraz dynamiczną konturową. W badaniach przedklinicznych wykonywanych u zwierząt laboratoryjnych najczęściej wykorzystuje się tonometrię odbiciową. Przewagą tej metody jest możliwość wykonania pomiaru bez znieczulenia, bez wykorzystania lampy szczelinowej bądź dodatkowych substancji podawanych na powierzchnię oka. Zaletą jest również mały rozmiar sprzętu, który umożliwia zastosowanie go u małych zwierząt (49, 50, 51, 52, 53, 54).

Diagnostykę jaskry rozszerzyć można o badania dodatkowe, takie jak: optyczna koherentna tomografia (*ang. Optical Coherence Tomography; OCT*), elektroretinografia (*ang. Electroretinography; ERG*), skaningowa polarymetria siatkówki wykrywająca jaskrę (*ang. laser scanning polarimetry, Glaucoma Detection; GDx*), czy też ultrabiomikroskopia (*ang. Ultrasound Biomicroscopy; UBM*). OCT oraz UBM to badania umożliwiające ocenę morfologii struktur gałki ocznej, w tym morfologii przedniego odcinka oka wraz z kątem

przesączenia (55). W badaniu GDx ocenić można grubość warstwy RNFL zawierającej aksony komórek RGC tworzących nerw wzrokowy (56). ERG natomiast to badanie czynnościowe siatkówki oceniające zmianę potencjału na powierzchni oka w odpowiedzi na bodziec świetlny (57). Badania te obecnie nie należą jednak do złotego standardu diagnostyki jaskry.

Leczenie jaskry jest ograniczone do modyfikacji najważniejszego czynnika ryzyka – podwyższonego IOP. Zaleca się leczenie farmakologiczne. Najczęściej wykorzystywane są krople do oczu zawierające: analogi prostaglandyn (trawoprost, bimatoprost, tafluprost), antagonistów receptorów  $\beta$  (tymolol, betaksolol), inhibitory anhidrazy węglanowej (dorzolamid, brinzolamid), agonistów receptorów  $\alpha$ -2 (brymonidyna) lub leki cholinergiczne (pilocarpina) (58). Aktualnie prowadzone są badania kliniczne z zastosowaniem leków wspomagających funkcję układu nerwowego (czynniki neuroprotektcyjne, nikotynamid, cytolina i inne) oraz regulujących przepływ krwi przez siatkówkę (fosfodiesteraza, tetrahydrokannabinol) (59). Drugą metodą leczenia jaskry są zabiegi okulistyczne, wśród których wyróżnić można między innymi: trabekuloplastykę, trabekulektomię, irydotomię, czy też zastosowanie przetok filtracyjnych (60, 61). Trabekuloplastyka to metoda laserowa, która polega na selektywnym naświetlaniu fragmentów beleczkowania, co skutkuje uszkodzeniem struktury, zwiększając tym samym przepływ cieczy wodnistej. Trabekulektomia jest natomiast metodą chirurgiczną uważaną za złoty standard leczenia zabiegowego jaskry, polegającą na wytworzeniu przetoki z przedniej komory oka do przestrzeni podspojówkowej. Te dwie metody są najczęściej wykorzystywane w leczeniu jaskry kąta otwartego (62). Irydotomia również jest metodą laserową, która polega na wytworzeniu za pomocą wiązki laserowej otworu w tęczęwce, stanowiącego dodatkową drogę odpływu cieczy z tylnej komory gałki ocznej do przedniej. Metoda ta jest przede wszystkim stosowana w jaskrze kąta zamkniętego (63). W przypadku niektórych pacjentów dostępne leczenie jest jednak niewystarczające (nie dochodzi do zatrzymania progresji zmian patologicznych). Dlatego też, poszukuje się nowych, skutecznych terapii, a lepsze poznanie patogenezы jaskry pozwoli również na rozwój profilaktyki.

### **1.6.2. Retinopatia nadciśnieniowa**

Nadciśnienie tętnicze to jedna z najczęstszych chorób przewlekłych dotykająca około 1,3 miliarda osób w wieku 30-79 lat na całym świecie (64). Źle kontrolowane nadciśnienie tętnicze prowadzi do uszkodzenia naczyń, szczególnie w obrębie układu sercowo-naczyniowego, mózgu, nerek i siatkówki. Najczęstszym powikłaniem nadciśnienia tętniczego gałce ocznej jest

retinopatia nadciśnieniowa (65). Częstość występowania retinopatii nadciśnieniowej u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym różni się w zależności od badanej populacji, i wynosi odpowiednio od 10,7% w Niemczech (66) do 38,95% w Nepalu (67). Wykazano, że stopień zaawansowania retinopatii koreluje z uszkodzeniem innych narządów w przebiegu nadciśnienia tętniczego, ogólnym stanem zdrowia i śmiertelnością pacjentów (68). Ta zależność podkreśla wagę badania okulistycznego u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, ponieważ obrazowanie dna oka to jedyna metoda umożliwiająca bezpośrednią wzrokową ocenę morfologii tętnic i żył krążenia obwodowego pacjenta, która dodatkowo może dostarczyć informacji o stanie naczyń całego organizmu.

Przewlekłe nadciśnienie tętnicze prowadzi do zmian struktury i czynności naczyń krwionośnych oraz ich przebudowy. Procesy te są zapoczątkowywane zarówno przez mechaniczne uszkodzenie naczyń wynikające ze zwiększonego naprężenia ścian, ale również przez zmiany zachodzące w układzie neurohormonalnym, między innymi: wzrost aktywności układu renina-angiotensyna-aldosteron, poziomu katecholamin, czy mediatorów zapalnych (69). W początkowych fazach choroby przebieg może być bezobjawowy dla pacjenta, a zmiany świadczące o retinopatii mogą być widoczne jedynie w badaniu dna oka. W pierwszej fazie choroby (fazie wazokonstrykcji), tętniczki siatkówki reagują skurczem na wysokie ciśnienie tętnicze, co ma na celu optymalizację przepływu krwi. W obrazie dna oka zaobserwować można wówczas odcinkowy lub uogólniony skurcz tętnic siatkówki powodujący zmniejszenie stosunku średnicy tętnic do średnicy żył (*ang. artery/vein; a/v; norma 2:3*). W miarę rozwoju choroby dochodzi do uszkodzenia śródbłonna naczyń przez wysokie ciśnienie tętnicze krwi oraz przebudowę ściany naczyń, która zachodzi na skutek wzrostu, migracji i śmierci komórek oraz syntezy lub degradacji macierzy pozakomórkowej. Procesy te zachodzą pod wpływem lokalnych czynników troficznych, substancji wazoaktywnych i bodźców hemodynamicznych. Strukturalne zmiany tętniczek prowadzą do ich zwężenia, co wpływa na wzrost wartości ciśnienia tętniczego (70). Przebudowa naczyń obejmuje procesy: hialinizacji (szkliwienia) i martwicy włóknikowatej ścian tętnic siatkówki (zwyrodnienie z odkładaniem złogów fibrynoidego), pogrubienia błony podstawnej, degeneracji warstwy mięśni gładkich i zamknięcia kapilar (71). Jest to faza sklerotyzacji, w której zmiany są już utrwalone i nieodwracalne. Pogrubienie ścian tętniczek może być obserwowane w fundoskopii jako objaw „drutu miedzianego” bądź „drutu srebrnego” świadczących o przebudowie ścian tętnic tudzież objawów na skrzyżowaniach tętniczo-żylnych. W miejscu skrzyżowania naczyń, tętnice i żyły dzielą pochewkę. Pogrubiała tętniczka może uciskać żyłę powodując jej wygięcie, rozdęcie,

a nawet zamknięcie światła widziane jako „przerwanie słupa krwi”. Kolejną fazą retinopatii nadcisnieniowej jest faza wysiękowa, gdzie uszkodzeniu ulega bariera krew-siatkówka, przez co z krwi do siatkówki przedostają się jej elementy. Wysięk płynu obserwowany jest jako obrzęk, a krwi jako wybroczyny i krwotoki siatkówkowe. Obecne mogą być również mikrotętniaki oraz zmiany niedokrwienne dające objaw „kłębków waty” (mikrozawały siatkówki). Ostatecznym etapem retinopatii nadcisnieniowej jest uszkodzenie nerwu wzrokowego (neuroretinopatia nadcisnieniowa), prowadzące do utraty wzroku (72, 73). Rozpoznanie stawiane jest klinicznie na podstawie zmian na dnie oka odpowiadającym poszczególnym fazom choroby, u pacjenta z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym (73). W badaniach przedklinicznych z użyciem małych zwierząt, popularnością cieszą się ręczne funduskamery (74, 75, 76) oraz mikroskopy do obrazowania siatkówki (77, 78), które mogą uwidoczniać zmiany naczyniowe o podobnej morfologii.

Choć retinopatia nadcisnieniowa jest znana przede wszystkim jako choroba naczyń, w piśmiennictwie pojawiają się doniesienia o udziale i roli procesów neurodegeneracyjnych już we wczesnych jej fazach (29, 30). Leczenie retinopatii nadcisnieniowej przede wszystkim polega na normalizacji wartości ciśnienia tętniczego, czyli na profilaktyce pierwotnej (68). Aktualnie nie ma wystarczających dowodów na skuteczność innych metod leczniczych (79).

### **1.6.3. Retinopatia cukrzycowa**

Cukrzyca jest przewlekłą chorobą dotyczącą aż 463 milionów ludzi na świecie (9,3% populacji) (80). Retinopatia cukrzycowa to mikrowaskularne powikłanie cukrzycy, w którym dochodzi do uszkodzenia naczyń siatkówki w przebiegu przewlekłej hiperglikemii (81). Globalne występowanie retinopatii cukrzycowej u pacjentów z cukrzycą szacowane jest na 34,6% (82). Choroba ta stanowi jedną z głównych przyczyn ślepoty u dorosłych osób, której można byłoby zapobiec przy prawidłowym i wczesnym leczeniu choroby podstawowej (83).

Rozwój retinopatii cukrzycowej ma silny związek z czasem trwania cukrzycy, wysoką hiperglikemią i współwystępowaniem nadciśnienia tętniczego (84). W klasycznym ujęciu, retinopatia cukrzycowa rozumiana jest jako choroba naczyń, w której dochodzi do ich uszkodzenia w wyniku akumulacji zaawansowanych produktów końcowych glikacji oraz aktywacji szlaku polioli, kinazy białkowej C i heksozaminy. Szlaki te prowadzą do wzrostu poziomu reaktywnych form tlenu (*ang. Reactive Oxygen Species; ROS*) i powodują nieodwracalne uszkodzenia komórek poprzez modyfikacje histonów oraz metylację DNA.

Dodatkowo dochodzi do pobudzenia wydzielania czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (*ang. Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF*), który pobudza angiogenezę. Uszkodzenie komórek ściany prowadzi do zmiany morfologii naczyń oraz zwiększenia ich przepuszczalności, co skutkuje wystąpieniem objawów obserwowanych w badaniu dna oka (85). W ostatnich latach, coraz więcej uwagi w kontekście patofizjologii zmian w przebiegu retinopatii cukrzycowej poświęcane jest zrozumieniu towarzyszącego przewlekłego procesu zapalnego oraz procesom neurodegeneracyjnym, które mogą odpowiadać za utratę wzroku w przebiegu choroby. Za teorią zapalną retinopatii cukrzycowej przemawia obserwowana leukostaza (leukocytoza przekraczająca 100 000/ $\mu$ l powodująca zaburzenie przepływu krwi w naczyniach włosowatych) oraz podwyższone stężenie cytokin prozapalnych (czynnika martwicy nowotworów alfa [*ang. Tumor Necrosis Factor alpha; TNF- $\alpha$* ] oraz interleukin [II]: IL-6, IL-8 i IL-1 $\beta$ ). Procesy neurodegeneracyjne siatkówki mogą natomiast być obserwowane jeszcze przed pojawieniem się jakichkolwiek zmian naczyniowych i prawdopodobnie wynikają z uszkodzenia komórek siatkówki przez ROS. U pacjentów z retinopatią cukrzycową dochodzi do spadku liczby RGC oraz zmniejszenia grubości siatkówki (86, 87, 88).

Początek choroby u pacjentów może być bezobjawowy, stąd niezbędna jest regularna kontrola u specjalisty chorób oczu (83). W zależności od stadium rozwoju choroby obserwowanym w badaniu dna oka, retinopatię cukrzycową dzieli się na nieproliferacyjną i proliferacyjną. Retinopatia nieproliferacyjna to stan, w którym doszło do zaburzenia morfologii i funkcji naczyń siatkówki, lecz nie jest widoczna neowaskularyzacja (proces tworzenia nowych naczyń o nieprawidłowej budowie, stymulowany przez VEGF). W łagodnej retinopatii nieproliferacyjnej obserwuje się poszerzenie tętniczek w formie mikrotętniaków; w umiarkowanej dodatkowo widoczne są wybroczyny w obrębie siatkówki, wysięki twarde (białozółte ogniska lipoprotein przesączonych z krwi do siatkówki przez nieprawidłowe naczynia) oraz wysięki miękkie (białawe obszary niedotlenionej siatkówki wyglądem przypominające kłębki waty); w ciężkiej retinopatii nieproliferacyjnej dochodzi ponadto do krwotoków śródsiatkówkowych i zniekształcenia ścian żył siatkówki w formie licznych przewężeń. Retinopatia proliferacyjna to najbardziej zaawansowane stadium retinopatii cukrzycowej, w którym widoczna jest neowaskularyzacja w obrębie wewnętrznych struktur oka oraz krwawienia doszklistkowe i/lub przedsiatkówkowe. Dodatkowo, w przebiegu cukrzycy, na każdym etapie retinopatii może dojść do cukrzycowego obrzęku płamki żółtej (w badaniu obserwowanego jako pogrubienie siatkówki i/lub obecność wysięków twardych w okolicy płamki). W wyniku zaburzeń unaczynienia siatkówki dochodzi do uszkodzenia jej

struktury oraz komórek nerwowych. Zmiany te mogą być nieodwracalne i prowadzić do ślepoty (89, 90, 91, 92).

Diagnostyka retinopatii cukrzycowej opiera się na badaniu dna oka, gdzie wizualnie dokonuje się oceny występowania charakterystycznych zmian naczyniowych. Do podstawowych badań wykonywanych u pacjenta z podejrzeniem retinopatii cukrzycowej należą: fundoskopia z oceną siatkówki, tarczy nerwu wzrokowego i ciała szklanego wykonywana po rozszerzeniu źrenicy, ocena kąta przesączania w gonioskopii pod względem potencjalnej neowaskularyzacji oraz pomiar IOP. W badaniach dodatkowych stosowanych w diagnostyce retinopatii cukrzycowej wykorzystać można OCT, angiografię fluoresceinową (AF) oraz ultrasonografię w projekcji B (prezentującej przekrój poprzeczny przez narząd, tworząc dwuwymiarowy, czarno-biały obraz; B – brightness [jasność]). Metoda OCT umożliwia ocenę struktur wewnętrznych gałki ocznej w przekroju poprzecznym, w tym ocenę potencjalnego obrzęku plamki żółtej. AF umożliwia ocenę unaczynienia siatkówki obrazując obszary awaskularne tudzież neowaskularyzacji i stosowana jest do różnicowania patologii plamki żółtej. Ultrasonografia jest natomiast niezastąpioną metodą umożliwiającą ocenę siatkówki u pacjentów z nieprzeziernymi ośrodkami optycznymi (na przykład z powodu krwotoku do ciała szklanego w przebiegu retinopatii cukrzycowej, ale też w wyniku zaćmy i innych chorób oczu) (93).

Leczenie retinopatii cukrzycowej łączy (i) działania farmakologiczne podejmowane w celu modyfikacji czynników ryzyka (prawidłowa kontrola glikemii, ciśnienia tętniczego, lipidemii), (ii) leki hamujące angiogenezę oraz (iii) zabiegi laserowe i (iv) chirurgiczne. Metoda leczenia dobierana jest do stopnia zaawansowania retinopatii. Do podstawowych metod laseroterapii należy fotokoagulacja laserowa, której celem jest zniszczenie nieprawidłowych naczyń krwionośnych w siatkówce, co zmniejsza ryzyko krwotoków i uszkodzeń siatkówki. Najczęściej stosowaną metodą chirurgiczną jest witrektomia, wybierana w zaawansowanych lub powikłanych przypadkach retinopatii cukrzycowej, na przykład, jeśli doszło do krwotoku do ciała szklanego, lub trakcyjnego odwarstwienia siatkówki. Zabieg polega na usunięciu zmienionego patologicznie ciała szklanego, aby zmniejszyć ryzyko uszkodzenia siatkówki. Lekiem hamującym angiogenezę jest na przykład przeciwciało monoklonalne anti-VEGF, podawane w iniekcji doszklanekowej. Wykazano jego skuteczność w leczeniu cukrzycowego obrzęku plamki żółtej oraz retinopatii w fazie proliferacyjnej (94, 95). Mimo poprawy skuteczności leczenia retinopatii cukrzycowej, nadal brakuje terapii wpływających na hamowanie procesów neurodegeneracyjnych zachodzących w siatkówce, stanowiących ważny

element obserwowanych zmian patofizjologicznych. Rolę taką, wobec komórek nerwowych siatkówki, pełnią białka neuroprotektoryjne.

## **1.7. Czynniki neuroprotektoryjne siatkówki**

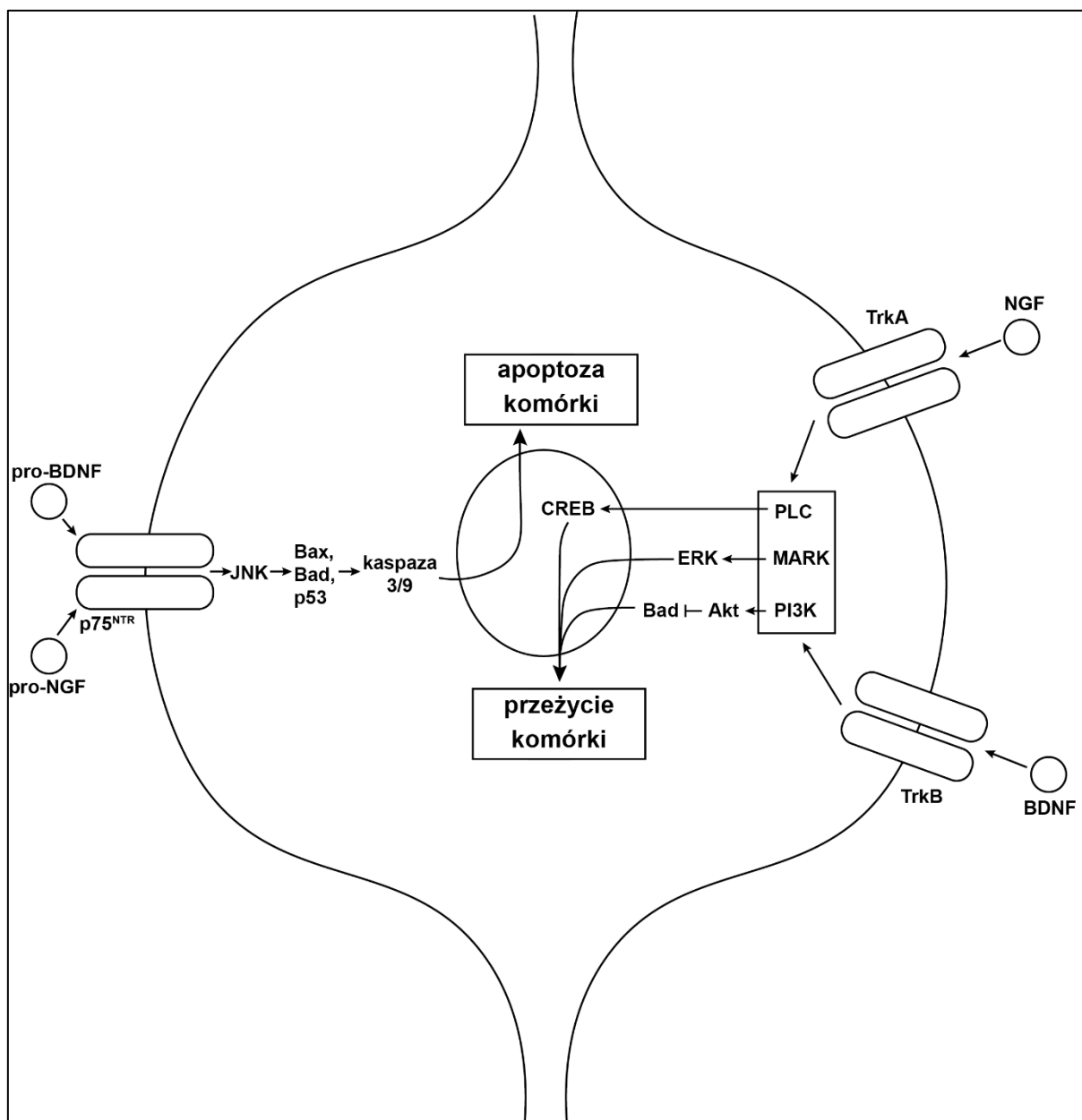
W przebiegu chorób neurodegeneracyjnych siatkówki dochodzi do uszkodzenia, a nawet śmierci komórek nerwowych, co prowadzi do nieodwracalnej utraty wzroku. Organizm może chronić komórki nerwowe przed uszkodzeniem wydzielając czynniki neuroprotektoryjne, których rola jest istotna nie tylko w przebiegu chorób neurologicznych, ale również siatkówki, gdyż gałka oczna stanowi wypustkę ośrodkowego układu nerwowego (OUN) (96, 97, 98). Do białek o potwierdzonej roli ochronnej w chorobach neurodegeneracyjnych oka należą między innymi: neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (*ang. Brain-Derived Neurotrophic Factor*; BDNF), czynnik wzrostu nerwów (*ang. Nerve Growth Factor*; NGF), rzęskowy czynnik neurotroficzny (*ang. Ciliary Neurotrophic Factor*; CNTF), czynnik wywodzący się z nabłonka barwnikowego siatkówki (*ang. Pigment Epithelium-Derived Factor*; PEDF), glejopochodny czynnik neurotroficzny (*ang. Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor*; GDNF), VEGF oraz białko Norrin (99). Czynniki neuroprotektoryjne są przedmiotem zainteresowania badaczy, ze względu na ich potencjalne zastosowanie w terapii chorób neurodegeneracyjnych. Obiecujące wyniki prac na modelach zwierzęcych nie znalazły jak dotąd zastosowania w terapiach ludzkich. Trwają jedynie nieliczne badania kliniczne, w których stosuje się czynniki neuroprotektoryjne w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych oka. Badania te dotyczą przede wszystkim oceny profilu bezpieczeństwa i skuteczności podawania kropli zawierających ludzki rekombinowany NGF oraz stosowania implantów wydzielających GDNF u pacjentów z jaskrą, zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki, chorobami plamki żółtej i niedokrwienną neuropatią nerwu wzrokowego (99). W pracy doktorskiej skupiłam się na dwóch neuroprotektoryjnych białkach, BDNF oraz NGF, o stosunkowo dobrze poznanych mechanizmach działania.

### **1.7.1. BDNF**

BDNF to białko neurotroficzne, którego podstawowe funkcje w układzie nerwowym obejmują regulację rozwoju neuronów, neuroprotekcję i modulację synaptogenezy. BDNF, wraz z NGF oraz neurotrofiną 3 i 4, poprzez podobieństwo w budowie cząsteczki tworzą rodzinę neurotrofin (100). Synteza BDNF rozpoczyna się w jądrze komórkowym, gdzie gen *BDNF* jest transkrybowany na mRNA. Prekursor mRNA *BDNF* jest następnie transportowany z jądra do



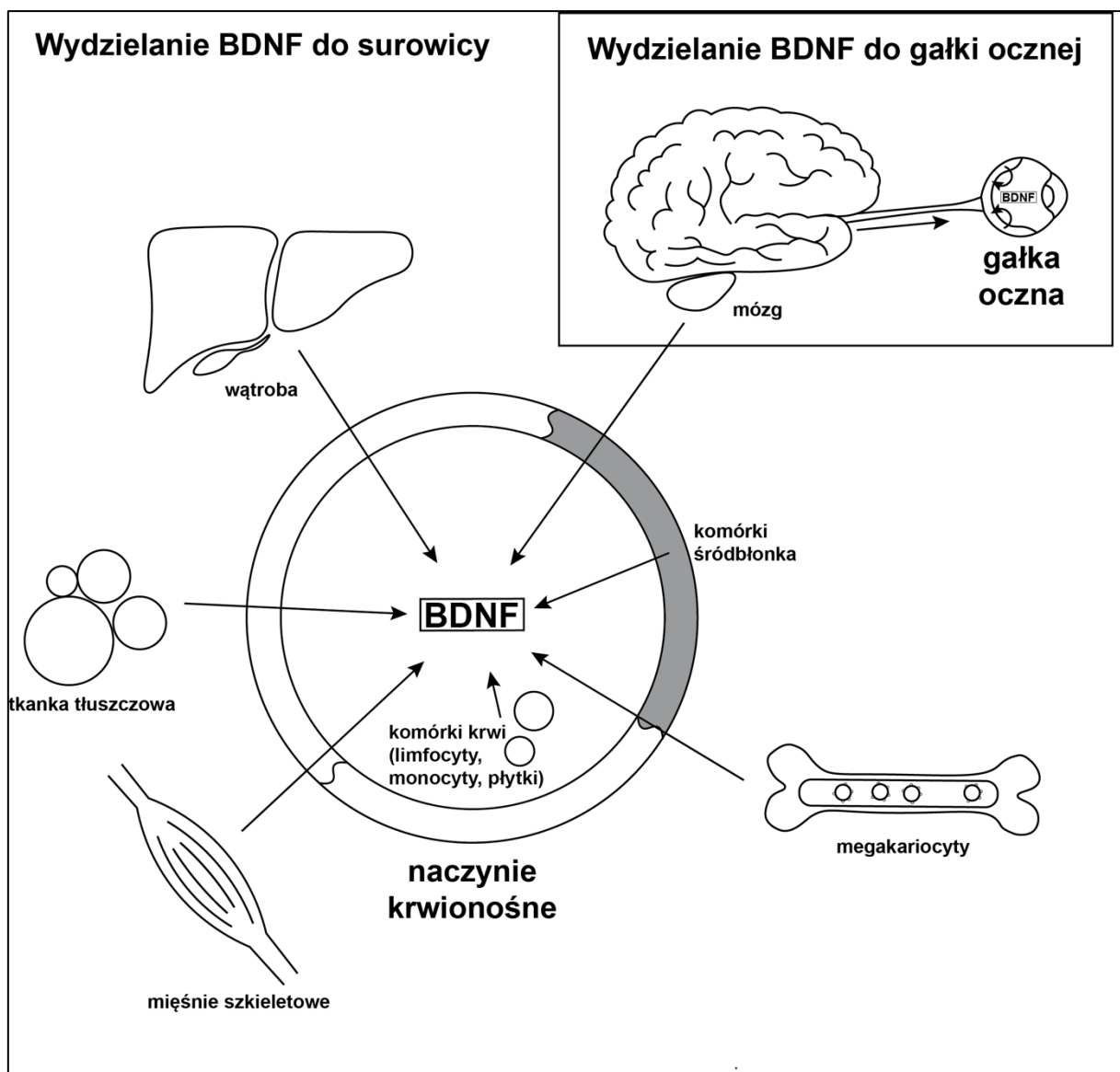
cytoplazmy, a translacja zachodzi kolejno do pre-pro-BDNF w siateczce śródplazmatycznej i do pro-BDNF i BDNF w aparacie Golgiego. Dojrzała forma BDNF jest transportowana z ciała komórki do szczeliny synaptycznej wzdłuż aksonów za pomocą kinezy i dyneiny, gdzie może oddziaływać z receptorami na powierzchni innych neuronów. Białko uwalniane jest z komórki przez błonę komórkową i następnie wiąże się z receptorami na powierzchni neuronów, w tym kinazą receptora tropomiozynowego B (ang. *Tropomyosin Receptor Kinase B*; TrkB) oraz receptorem neurotrofiny pan75 (ang. *pan75 Neurotrophin Receptor*; p75<sup>NTR</sup>), przy czym TrkB ma większe powinowactwo do BDNF, a p75<sup>NTR</sup> do pro-BDNF. Po związaniu z receptorami, BDNF aktywuje szereg wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, które wpływają na funkcjonowanie neuronów i plastyczność synaptyczną (szlaki kinaz PI3K/Akt, MAPK/ERK, PLC/CREB) (101, 102). Wpływ aktywacji receptorów TrkB i p75<sup>NTR</sup> na neurony przedstawia *Rycina 1*.



Rycina 1. Mechanizm działania czynników neuroprotekcyjnych (BDNF, NGF) na neurony.

BDNF wydzielany jest przede wszystkim przez komórki należące do układu nerwowego (103), a także wątrobę, mięśnie szkieletowe czy tkankę tłuszczową. BDNF znajdujący się w gałce ocznej pochodzi z dwóch źródeł: (i) jest transportowany przez nerw wzrokowy z OUN (104, 105) oraz (ii) jest produkowany przez komórki siatkówki: RGC, komórki amakrynowe, komórki glejowe siatkówki (komórki Müllera, astrocyty) i fotoreceptory (106, 107). W gałce ocznej BDNF odgrywa istotną rolę w rozwoju siatkówki poprzez wpływ na rozwój dendrytów RGC (108). W dojrzałej siatkówce BDNF wywiera działanie neuroprotekcyjne wobec RGC, istotnie ograniczając ich uszkodzenie w obliczu niedotlenienia czy neurohipoglikemii (109),

jak również w przebiegu nadciśnienia ocznego i jaskry (104, 110). Poza układem nerwowym, BDNF wydzielany jest również do surowicy. Badania przeprowadzone u pacjentów z chorobami neuropsychiatrycznymi wykazały, że zwiększona aktywność fizyczna poprawiała funkcjonowanie poznawcze – wysuwane są więc hipotezy, że BDNF produkowany obwodowo może przekraczać barierę krew-mózg i wpływać na czynność OUN. BDNF w surowicy pochodzi z kilku źródeł: (i) narządów takich jak wątroba, tkanka tłuszczowa i mięśnie szkieletowe, (ii) komórek szpiku kostnego i krwi, takich jak megakariocyty, płytki, limfocyty i monocyty, (iii) komórek śródbłonka naczyń oraz (iv) neuronów (102). Tkanki i narządy wydzielające BDNF schematycznie przedstawia Rycina 2.



Rycina 2. Źródła BDNF wydzielanego do surowicy i gałki ocznej.

W związku z działaniem neuroprotekcijnym, podjęto liczne próby zastosowania BDNF w terapii w zwierzęcych modelach jaskry. Podanie rekombinowanego białka do ciała szklistego może jednak mieć ograniczony efekt terapeutyczny wynikający z kompensacyjnego zmniejszenia ilości receptorów TrkB dla BDNF w błonach komórkowych (efekt ten został wykazany w neuronach hipokampa i komórkach ziarnistych mózdzku) (111, 112, 113). Aby przeciwdziałać takiemu działaniu, zaproponowano terapię genową zwiększającą jednocześnie ekspresję genu zarówno BDNF, jak i TrkB. W ten sposób w zwierzęcym modelu uszkodzenia nerwu wzrokowego osiągnięto długoterminowe przeżycie RGC (114).

Efekt neuroprotekcyny w modelach zwierzęcych był również wywoływany poprzez selektywną aktywację receptora TrkB specyficznymi immunoglobulinami. Wykazano, że podanie mysich przeciwciał monoklonalnych, które działają jako egzogeni selektywni agoniści TrkB, promuje procesy antyapoptotyczne RGC w zwierzęcych modelach uszkodzenia i neurodegeneracji siatkówki (115). Kolejnym białkiem odgrywającym rolę w szlaku sygnałowym BDNF-TrkB jest białkowa fosfataza tyrozynowa 2 zawierająca region homologii Src 2 (Shp2). Defosforylacja TrkB za pośrednictwem Shp2 hamuje szlak sygnałowy, a tym samym prowadzi do zmniejszenia przeżywalności RGC. Dlatego też, modulacja aktywności Shp2 stanowi punkt uchwytu dla potencjalnych, nowych terapii jaskry i pozostałych chorób neurodegeneracyjnych u pacjentów (116).

Kolejnym elementem wpływającym na aktywność neuroprotekcijną szlaku BDNF/TrkB jest aktywność receptora purynergicznego P2X7 (P2X7R), gdyż hamowanie aktywności P2X7R prowadzi do aktywacji TrkB (117). P2X7R jest receptorem jonotropowym obecnym na licznych komórkach OUN i siatkówki, aktywowanym przez zewnątrzkomórkowy adenozy-5'-trifosforan, który promuje syntezę mediatorów prozapalnych. Stan zapalny w obrębie tkanki nerwowej prowadzi do neurodegeneracji (118, 119). Zablockowanie P2X7R osłabia odpowiedź zapalną i prowadzi do neuroprotekcji (118, 120, 121, 122). Wykazano, że przewlekłe stosowanie kropli do oczu zawierających antagonistę P2XR7 u myszy z jaskrą zmniejszało aktywację mikrogleju i zapobiegało utracie RGC (121). Ekspresja BDNF może być również modulowana przez receptory purynergiczne należące do rodziny P1 receptorów metabotropowych aktywowanych przez zewnątrzkomórkową adenozyne. Dlatego też, zablockowanie receptorów P1A1 i P2A2A może stanowić przyszłą metodę leczenia chorób neurodegeneracyjnych OUN (119, 123).

Wyniki licznych badań przedklinicznych, badających potencjał terapeutyczny BDNF, przyczyniły się do rozpoczęcia badań klinicznych, dotychczas jednak tylko w chorobach neurologicznych (u pacjentów z chorobą Alzheimera i łagodnymi zaburzeniami poznawczymi) (124).

### 1.7.2. NGF

NGF jest czynnikiem neuroprotekcijnym z rodziny neurotrofin, który reguluje neurogenezę i apoptozę, promuje plastyczność neuronów oraz moduluje odpowiedź neuronów na ciepło i ból. W organizmie jest wydzielany przez komórki wielu układów: nerwowego, odpornościowego, skóry, a nawet przez komórki mięśni gładkich, skąd może trafiać również do krwi krążącej (125). NGF znajdujący się w siatkówce, podobnie jak BDNF, nie jest wytwarzany jedynie *in situ*, ale pochodzi także z mózgu, skąd jest transportowany poprzez wsteczny transport aksonalny przez włókna nerwu wzrokowego do siatkówki.

W siatkówce znajdują się dwa typy receptorów dla NGF: w błonie RGC obecna jest przezłonowa kinaza receptora tropomiozynowego A (*ang. Tropomyosin Receptor Kinase A*; TrkA), podczas gdy komórki glejowe posiadają receptor p75<sup>NTR</sup> (126). Brak funkcji troficzej NGF prowadzi do zmniejszenia przeżywalności komórek siatkówki (127). Podobnie jak BDNF, białko NGF przechodzi szereg modyfikacji w trakcie dojrzewania. Ostatnią formą przejściową białka jest proNGF, która następnie przekształcana jest w formę dojrzałą NGF. Receptory TrkA i p75<sup>NTR</sup> mają działanie przeciwstawne: NGF wywiera działanie neuroprotekcyjne poprzez aktywację TrkA (poprzez aktywację szlaków kinaz PI3K/Akt, MAPK/ERK, PLC/CREB), lecz proNGF (prekursor NGF) aktywuje receptor p75<sup>NTR</sup> promujący apoptozę (poprzez aktywację szlaku kinazy JNK). Ostatecznym wynikiem tych dwóch procesów jest degeneracja RGC (128). Wpływ aktywacji receptorów TrkA i p75<sup>NTR</sup> na neurony przedstawia *Rycina 1*. W celu wykorzystania potencjału neuroprotekcijnego NGF w terapii, w zwierzęcych modelach jaskry wykorzystano leki selektywnie aktywujące TrkA oraz selektywnie hamujące p75<sup>NTR</sup> osiągając dobry efekt leczniczy (129, 130). Selektywną aktywację TrkA osiągnięto również przez miejscowe podawanie rekombinowanego ludzkiego czynnika wzrostu nerwów (*ang. recombinant human Nerve Growth Factor*; rh-NGF) wykazującego efekt neuroprotekcyny w zwierzęcych modelach neuropatii nerwu wzrokowego (131).

W ostatnich latach rozpoczęto liczne badania kliniczne koncentrujące się na wykorzystaniu neuroprotekcynnego działania NGF, zarówno w neurologii, jak i w okulistyce. Badania kliniczne z zastosowaniem NGF w chorobach oczu dotyczą terapii: zespołu suchego oka, zespołu Sjögrena, keratopatii, uszkodzeń nerwu wzrokowego, zwyrodnienia barwnikowego siatkówki, zapalenia rogówki, jaskry, teleangiektazji płamkowej typu 2. Pacjentom podawany jest rh-NGF w formie kropli do worka spojówkowego lub iniekcji domięśniowych. Badania kliniczne w większości wykazują bezpieczeństwo stosowanej terapii, lecz nie wskazują na poprawę objawów klinicznych, ostrości wzroku czy pola widzenia (132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144).

### **1.8. Modele zwierzęce badanych chorób**

Wiele chorób oczu, w tym choroby neurodegeneracyjne siatkówki, to choroby nieuleczalne, które nieuchronnie prowadzą do ślepoty (4). Badania przedkliniczne z użyciem zwierząt doświadczalnych stwarzają możliwość oceny patomechanizmów leżących u podłoża chorób oczu oraz rozwój nowych strategii leczniczych. Zwierzęta są często wykorzystywane jako modele chorób, ponieważ ich układy wzrokowe cechują się podobną anatomią i fizjologią do układu ludzkiego. Wszystkie ssaki są podobne w zakresie budowy siatkówki, cech biologicznych komórek, wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych i sposobu przetwarzania sygnału w siatkówce. Różnice pomiędzy poszczególnymi gatunkami dotyczą zwykle różnic we względnych objętościach poszczególnych struktur oka, właściwościach optycznych, poziomie wyspecjalizowania ciała szklistego, wzorcach rozmieszczenia fotoreceptorów oraz budowie plamki. Aby prawidłowo wykorzystać modele zwierzęce do badań translacyjnych należy właściwie zrozumieć fizjologię danego gatunku oraz wziąć pod uwagę ograniczenia danego modelu. Drugą możliwością w badaniach przedklinicznych jest wykorzystywanie linii komórkowych bądź hodowli narządów, lecz wszystkie modele *ex vivo* pozbawione są złożoności żywego organizmu i interakcji pozostałych układów organizmu z układem wzrokowym (145). Choroby oka mogą być modelowane zarówno u zwierząt dużych (małpy, krowy, psy i koty), jak i małych (króliki, szczury, myszy i danio przegowane). Wykorzystanie większych zwierząt umożliwia lepszy dostęp do oka ze względu na jego rozmiar. Doświadczenia wykonywane z użyciem gryzoni cechują się natomiast łatwością wykonywania, a ich stosunkowo szybki rozród umożliwia hodowlę szczepów wsobnych cechujących się podatnością na wystąpienie niektórych chorób (146, 147). Wśród zwierzęcych modeli chorób wyróżnić można między innymi: modele indukowane, spontaniczne oraz

genetycznie modyfikowane (148). Choroby mogą być indukowane poprzez interwencje chirurgiczne bądź farmakologiczne, modele spontaniczne są tworzone przy użyciu selektywnej hodowli, natomiast modele genetycznie modyfikowane – przez edycję genów.

### 1.8.1. Zwierzęce modele jaskry

W modelach jaskry indukowanej, choroba może być wywołana przez sztuczne podwyższenie ciśnienia śródgałkowego, na przykład poprzez podanie lateksowych mikrokulek lub kwasu hialuronowego do komory przedniej oka, hipertonicznego roztworu chlorku sodu do żył nadtwardówkowych czy też fotokoagulację żył nadtwardówkowych lub rąbka (149, 150). Drugą metodą wywołania jaskry jest bezpośrednie uszkodzenie aksonów komórek RGC poprzez przecięcie lub zmiżdżenie nerwu wzrokowego (151). Spontaniczna postać jaskry rozwija się natomiast u myszy szczepu DBA/2, zwierząt z mutacją genu miocyliny oraz z dysgenezją przedniego segmentu gałki ocznej (posiadających mutacje w obrębie genów czynników transkrypcyjnych, białek międzykomórkowych szlaków sygnałowych, czy też białek kolagenowych) (152, 153).

W pracy doktorskiej, jako model jaskry wybrałam spontanicznie rozwijające jaskrę myszy szczepu DBA/2. Jest to jeden z najczęściej wykorzystywanych modeli tej choroby, co umożliwia powtarzalność i porównywalność wyników pomiędzy badaniami. Myszy te posiadają mutacje w obrębie genów *Tyrp1b* (gen kodujący białko melanosomalne o funkcjach strukturalnych i enzymatycznych) oraz *Gpnmb* (gen kodujący transbłonową glikoproteinę), które prowadzą do rozwoju przewlekłej jaskry barwnikowej związanej z wiekiem, będącej podtypem POAG (110, 154, 155). Mutacje obecne u myszy szczepu DBA/2 prowadzą do wadliwego rozwoju tęczęwki i rozproszenia barwnika, który zamyka drogę odpływu cieczy wodnistej. Dodatkowo, u zwierząt dochodzi do wytworzenia zrostów w obrębie przedniego odcinka gałki ocznej. Zmiany te prowadzą do stopniowego wzrostu ciśnienia śródgałkowego i w konsekwencji – jaskry. U samic, wzrost IOP obserwowany jest już od 6. miesiąca życia, a u samców od 9., przy czym wartości IOP są wyższe u samic (156). Wiek rozwoju jaskry, której poza podwyższonym IOP towarzyszą cechy neurodegeneracji (utrata aksonów RGC i glejoza nerwu wzrokowego – reakcja komórek glejowych polegająca na wzmożonej proliferacji i hipertrofii astrocytów i komórek mikrogleju w odpowiedzi na uraz bądź chorobę prowadzącą do degeneracji w obrębie tkanki nerwowej (157)) szacowany jest na 8-9 miesiąc życia (155, 158, 159, 160). Ze względu na genetyczną postać choroby, szczep DBA/2 stanowi najbardziej odpowiedni i szeroko wykorzystywany model do badań nad patogenezą i rozwojem

jaskry z uwzględnieniem szlaków wewnątrzkomórkowych (155). Należy zaznaczyć, że jaskra typu POAG jest najczęściej rozpoznawanym typem jaskry u ludzi (31).

### **1.8.2. Zwierzęce modele nadciśnienia tętniczego**

Wśród modeli spontanicznych nadciśnienia tętniczego wyróżnić można szczep szczurów spontanicznie rozwijających nadciśnienie tętnicze (*ang. Spontaneously Hypertensive Rat; SHR*) (71, 161) oraz szczep podwójnie transgenicznym szczurów wykazujących nadekspresję genów reniny i angiotensyny (162). Modele indukowane nadciśnienia tętniczego obejmują gryzonie poddane nefrektomii (163) oraz zwierzęta z nadciśnieniem tętniczym wywołanym przez kilkutygodniowe podskórne infuzje angiotensyny II (164, 165). Zwierzęce modele retinopatii nadciśnieniowej opierają się w większości o modele nadciśnienia tętniczego, w których zwierzęta rozwijają retinopatię jako powikłanie choroby podstawowej.

Jako model nadciśnienia tętniczego w pracy doktorskiej użyłam szczury szczepu SHR. Stanowią one szeroko stosowany model w pracach doświadczalnych z powodu samoistnie rozwijającego się w ciągu życia nadciśnienia tętniczego, przy czym wartości ciśnienia tętniczego są istotnie podwyższone już około 10. tygodnia życia (166, 167). Z czasem nadciśnienie tętnicze prowadzi do rozwoju retinopatii nadciśnieniowej, która objawia się zmianami naczyniowymi na dnie oka oraz prowadzi do uszkodzenia komórek nerwowych siatkówki (77, 168). Szczep SHR wywodzi się ze szczepu Wistar-Kyoto (WKY), dlatego też nierozwijające nadciśnienia tętniczego szczury szczepu WKY są standardowo wykorzystywane jako grupy kontrolne w badaniach, w których wykorzystywane są szczury szczepu SHR (168). Samoistne nadciśnienie tętnicze rozwijane przez szczury szczepu SHR odpowiada pierwotnemu nadciśnieniu tętniczemu obserwowanemu nawet u 95% pacjentów (169).

### **1.8.3. Zwierzęce modele cukrzycy**

Cukrzyca typu 1 u zwierząt może być indukowana przez chirurgiczne usunięcie trzustki, podanie leków uszkadzających trzustkę (alloksan, streptozotocyna [STZ]), natomiast cukrzyca typu 2 – przez zastosowanie odpowiedniej diety (na przykład bogatej w galaktozę). W przebiegu cukrzycy może dochodzić do rozwoju retinopatii cukrzycowej jako powikłania. Sama retinopatia cukrzycowa u naczelnych wywołana może być bezpośrednio przez laserowe uszkodzenie żył siatkówki prowadzące do niedotlenienia tkanki, co przypomina zmiany obserwowane w przebiegu cukrzycy. Wśród spontanicznych mysich modeli cukrzycy wyróżnić



można szczepy: Ins2Akita, Non-Obese Diabetic, Kimba i Akimba rozwijające cukrzycę typu 1 oraz szczep Leprdb prezentujący objawy cukrzycy typu 2. U szczurów, cukrzycę typu 1 spontanicznie rozwijają osobniki ze szczepu Biobreeding Diabetes-prone, a cukrzycę typu 2 – Zucker Diabetic Fatty, Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty, WBN/Kob, Spontaneously Diabetic Torii, and Goto-Kakizaki (170, 171).

Do przeprowadzenia badań w pracy doktorskiej wybrałam model cukrzycy indukowanej przez podanie STZ u szczurów szczepu Lewis. Jest to popularny model, w którym dochodzi do rozwoju retinopatii cukrzycowej jako powikłania choroby podstawowej. Popularność modelu umożliwia przeprowadzenie szerokiej i dokładnej dyskusji otrzymanych wyników. Cukrzyca indukowana jest u dorosłych zwierząt poprzez dootrzewnowe podanie STZ (172, 173, 174). W ciągu 72 godzin od iniekcji STZ dochodzi do zniszczenia wysp trzustkowych powodującego rozwój cukrzycy typu 1, a równoległe z nią retinopatii cukrzycowej. W pracy doktorskiej wybrałam model cukrzycy typu 1, ponieważ w Polsce retinopatia u pacjentów stosunkowo częściej pojawia się jako powikłanie właśnie tego typu cukrzycy (175). U szczurów szczepu Lewis nie dochodzi do samoistnego rozwoju chorób oczu. Dzięki temu mogą być stosowane jako grupa kontrolna dla szczurów z wyindukowaną cukrzycą. Do przedklinicznych badań nad retinopatią cukrzycową częściej stosowane są szczury niż myszy, gdyż u myszy z indukowaną cukrzycą powikłanie w postaci retinopatii występuje rzadziej (176).

## **2. Założenia i cele pracy**

### **2.1. Założenia pracy**

W związku z rosnącym zainteresowaniem procesami neurodegeneracyjnymi w chorobach oczu, coraz więcej badań ukierunkowanych jest na poszukiwanie mechanizmów regulujących je. Badanie czynników neuroprotektoryjnych jako białek o potwierdzonym działaniu ochronnym wobec neuronów siatkówki obejmuje analizę ich wydzielania podczas uszkodzenia siatkówki oraz użycia jako potencjalne biomarkery czy czynniki terapeutyczne. Dotychczasowe wyniki badań zarówno przedklinicznych, jak i klinicznych, pozostają niejednoznaczne. Nadal brakuje dokładnych danych dotyczących mechanizmów wydzielania białek neuroprotektoryjnych w chorobach neurodegeneracyjnych, co przekłada się na niepełne zrozumienie ich potencjału diagnostycznego i terapeutycznego. W pracy doktorskiej podjęłam próbę dokładniejszej oceny roli białek neuroprotektoryjnych (BDNF, NGF) w patogenezie wybranych chorób siatkówki – jaskry, retinopatii nadcisnieniowej i cukrzycowej.

### **2.2. Cele pracy**

Głównym celem pracy doktorskiej była ocena zmiany poziomu białek neuroprotektoryjnych BDNF i NGF oraz wyjaśnienie ich potencjalnej roli w patogenezie chorób przebiegających z neurodegeneracją siatkówki (jaskrą, retinopatią nadcisnieniową i cukrzycową). Aby zrealizować cel główny, wyznaczono cele szczegółowe:

- a) potwierdzenie rozwoju choroby w modelach zwierzęcych wykorzystanych w pracy doktorskiej i identyfikacja fazy rozwoju choroby;
- b) ocena ciśnienia śródgałkowego i naczyń siatkówki w przebiegu choroby na podstawie badań przyżyciowych;
- c) ocena zmian histopatologicznych siatkówki;
- d) ocena immunoenzymatyczna poziomu BDNF i NGF w gałkach ocznych oraz surowicy zwierząt;
- e) ocena korelacji poziomu BDNF i NGF z wynikami badań przyżyciowych oraz analizą histopatologiczną gałek ocznych w celu oceny współwystępowania zmian w przebiegu choroby.

### **3. Materiały i metody**

Niniejsza praca doktorska obejmuje badania przedkliniczne przeprowadzone z wykorzystaniem zwierzęcych modeli chorób oczu. Przeprowadzone zostały zarówno badania przyżyciowe, jak i analiza histopatologiczna oraz immunoenzymatyczna tkanek (krwi i gałek ocznych) pobranych od zwierząt po uśmierceniu przez dyslokację kręgów szyjnych. Na podstawie zebranych danych literaturowych, wybrano najodpowiedniejsze modele zwierzęce, metody pomiaru ciśnienia śródgałkowego, obrazowania dna oka, a także opracowano protokół analizy histopatologicznej gałek ocznych wyizolowanych od zwierząt.

#### **3.1. Zwierzęta i badania przyżyciowe**

##### **3.1.1. Modele zwierzęce**

W pracy doktorskiej, do badań wykorzystano modele zwierzęce trzech chorób: jaskry, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy. Jako model jaskry wybrane zostały myszy szczepu DBA/2, rozwijające spontanicznie jaskrę wraz z wiekiem, dla których grupę kontrolną stanowiły myszy szczepu C57Bl/6. Model nadciśnienia tętniczego stanowiły szczury szczepu SHR samoistnie rozwijające nadciśnienie tętnicze wraz z wiekiem, a grupę kontrolną odpowiednio szczury szczepu WKY. Jako model cukrzycy wykorzystane zostały natomiast szczury szczepu Lewis z cukrzycą indukowaną przez dootrzewnowe podanie streptozotocyny, a grupę kontrolną stanowiły szczury szczepu Lewis, którym nie podano STZ. Badanie zostało przeprowadzone na podstawie uchwały WAW2/122/2020 wydanej przez II Lokalną Komisję Etyczną w Warszawie (w załączeniu).

##### **3.1.2. Warunki utrzymania zwierząt**

Zwierzęta przebywały w pomieszczeniu z wentylacją mechaniczną (wymiany powietrza 8-10 razy na godzinę), regulowaną dobą świetlną (cykl 12 h światło – 12 h ciemność), temperaturą (20-24<sup>0</sup>C) i wilgotnością powietrza (55% ± 10% wilgotności względnej). Zwierzęta utrzymywane były w standardowych klatkach plastikowych ze wzbogaceniami w formie plastikowych domków i tekturowych rurek, po 2 w klatce w przypadku szczurów i po 5-6 w klatce w przypadku myszy. Karma i woda była dostępna *ad libitum*. Przed rozpoczęciem badań zwierzęta przechodziły 2-tygodniowy okres aklimatyzacji.

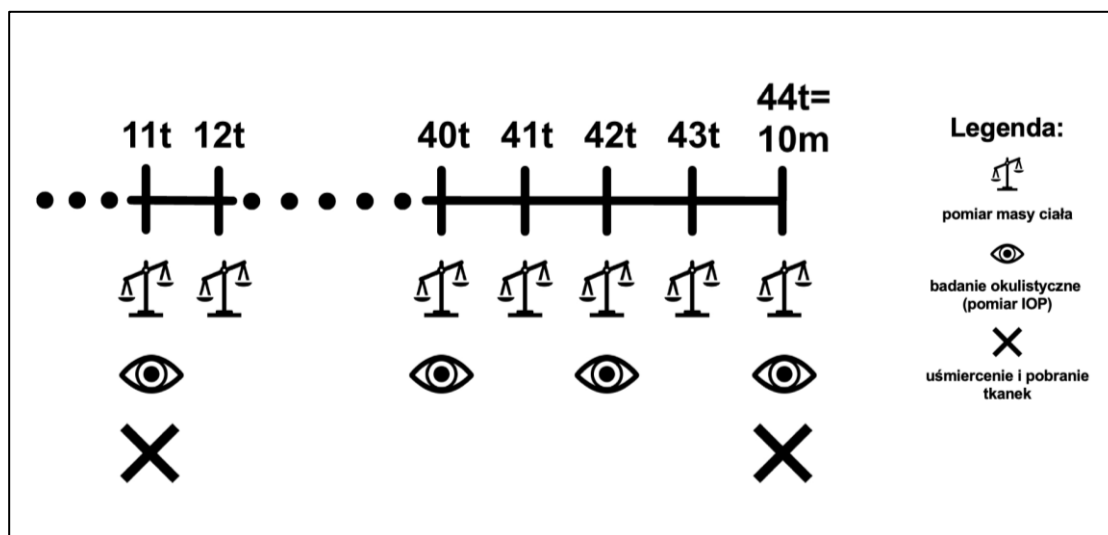
### 3.1.3. Model jaskry i schemat przeprowadzenia badań

Jako model jaskry wybrano samice myszy szczepu DBA/2 u których choroba rozwija się samoistnie, co umożliwia analizę patomechanizmów leżących u podłoża jej rozwoju. Do doświadczenia włączono młode myszy, które poddano obserwacji. Rozwój choroby z neuropatią następuje około 8-9 miesiąca życia, dlatego też zwierzęta uśmiercano przez dyslokację kręgów szyjnych w dwóch punktach czasowych, przed i po rozwinięciu choroby: grupa zwierząt z jaskrą (grupa doświadczalna) – DBA/2\_10m\_JAS i grupa zwierząt przed wystąpieniem objawów (grupa kontrolna) – DBA/2\_11t. Jako dodatkowe grupy kontrolne do doświadczenia wykorzystano zwierzęta bez predyspozycji genetycznej do rozwinięcia jaskry, uśmiercone przez dyslokację kręgów szyjnych w odpowiadającym wieku: grupa zwierząt młodszych, nierozwijających jaskry – C57Bl/6\_11t i grupa zwierząt starszych, nierozwijających jaskry – C57Bl/6\_10m (*Tabela 1*).

Tabela 1. Podział na grupy myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w doświadczeniu dotyczącym patomechanizmów jaskry.

Nazwa grupy	Gatunek i szczep	Typ grupy	Wiek uśmiercenia	Opis grupy	Liczebność (n)
<b>C57Bl/6_11t</b>	Myszy C57Bl/6	Kontrolna	11 tygodni	11-tygodniowe myszy ze szczepu nierozwijającego jaskry	n=10
<b>C57Bl/6_10m</b>	Myszy C57Bl/6	Kontrolna	10 miesięcy (44 tygodnie)	10-miesięczne myszy ze szczepu nierozwijającego jaskry	n=12
<b>DBA/2_11t</b>	Myszy DBA/2	Kontrolna	11 tygodni	11-tygodniowe myszy ze szczepu rozwijającego jaskrę, przed wystąpieniem objawów choroby	n=10
<b>DBA/2_10m_JAS</b>	Myszy DBA/2	Doświadczalna	10 miesięcy (44 tygodnie)	10-miesięczne myszy z jaskrą	n=10

Myszy z grup C57Bl/6\_11t i DBA/2\_11t były ważone i jednokrotnie poddane badaniu IOP, a następnie uśmiercone przez dyslokację kręgów szyjnych. Myszy z grup C57Bl/6\_10m i DBA/2\_10m\_JAS były ważone co tydzień i badane okulistycznie co dwa tygodnie w znieczuleniu wziewnym izofluranem, od 11. tygodnia do 10. miesiąca życia (*Rycina 3*). Po wykonaniu ostatniego badania myszy zostały uśmiercone przez dyslokację kręgów szyjnych. Od uśmierconych zwierząt izolowano tkanki (krew i gałki oczne) do dalszych analiz. Krew pobierano bezpośrednio z lewej komory serca.



Rycina 3. Schemat badań przyżyciowych u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w modelu jaskry.

Rozpoznanie jaskry u myszy stawiano na podstawie istotnego statystycznie wzrostu IOP oraz zmian świadczących o procesach degeneracyjnych w analizie histopatologicznej (mniejsza liczba komórek zwojowych siatkówki) (49, 177).

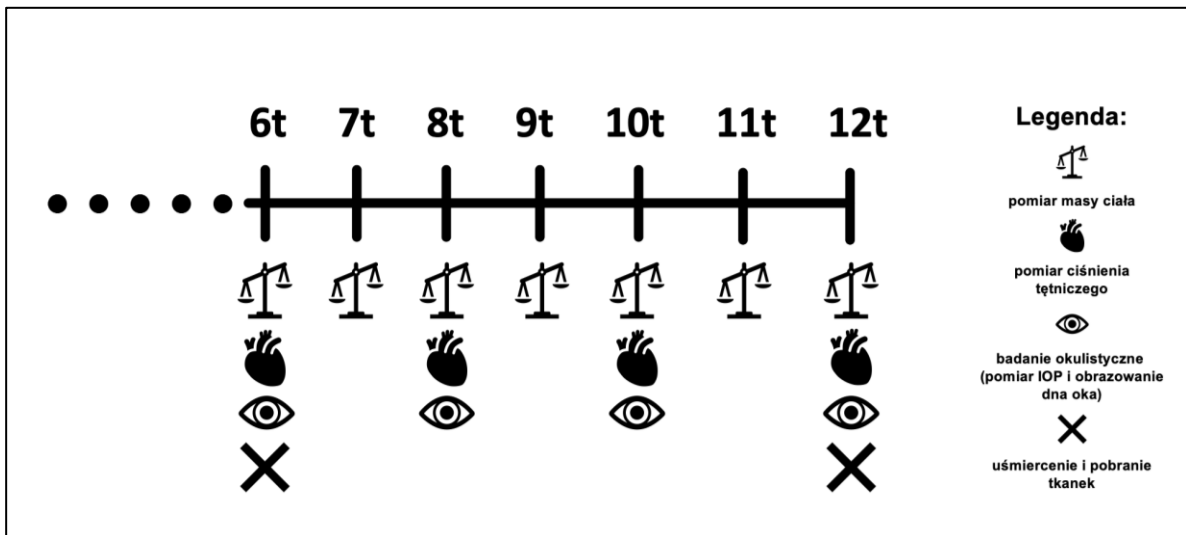
### 3.1.4. Model nadciśnienia tętniczego i schemat przeprowadzenia badań

Jako model nadciśnienia tętniczego wybrano samce szczurów szczepu SHR, które spontanicznie rozwijają chorobę. W związku z tym, wyznaczono dwa punkty czasowe, w których uśmiercano zwierzęta przez dyslokację kręgow szyjnych: grupa szczurów z nadciśnieniem tętniczym (grupa doświadczalna) – SHR\_12t\_NAD i grupa zwierząt ze szczepu podatnego na rozwój nadciśnienia tętniczego, przed pojawieniem się choroby (grupa kontrolna) – SHR\_6t. Dodatkowe grupy kontrolne stanowiły nierozwijające nadciśnienia tętniczego szczury ze szczepu WKY, uśmiercone przez dyslokację kręgow szyjnych w odpowiadającym wieku (grupy WKY\_6t i WKY\_12t) (Tabela 2).

Tabela 2. Podział na grupy szczurów szczepów SHR i WKY w doświadczeniu dotyczącym patomechanizmów retinopatii nadciśnieniowej.

Nazwa grupy	Gatunek i szczep	Typ grupy	Wiek uśmiercenia	Opis grupy	Liczebność (n)
<b>WKY_6t</b>	Szczury WKY	Kontrolna	6 tygodni	6-tygodniowe szczury ze szczepu nierozwijającego nadciśnienia tętniczego	n=9
<b>WKY_12t</b>	Szczury WKY	Kontrolna	12 tygodni	12-tygodniowe szczury ze szczepu nierozwijającego nadciśnienia tętniczego	n=10
<b>SHR_6t</b>	Szczury SHR	Kontrolna	6 tygodni	6-tygodniowe szczury ze szczepu rozwijającego nadciśnienie tętnicze, przed wystąpieniem objawów choroby	n=10
<b>SHR_12t_NAD</b>	Szczury SHR	Doświadczalna	12 tygodni	12-tygodniowe szczury z nadciśnieniem tętniczym	n=12

Zwierzęta z grup WKY\_6t i SHR\_6t zostały jednokrotnie poddane pomiarowi masy ciała, pomiarowi ciśnienia tętniczego i badaniom okulistycznym w znieczuleniu wziewnym izofluranem (pomiar IOP i obrazowanie dna oka), a następnie uśmiercone przez dyslokację kręgów szyjnych. U szczurów z grup WKY\_12t i SHR\_12t\_NAD raz w tygodniu dokonywano pomiaru masy ciała, a co dwa tygodnie wykonywano badania okulistyczne w znieczuleniu wziewnym izofluranem (pomiar IOP i obrazowanie dna oka) oraz pomiar ciśnienia tętniczego. Pozostające w znieczuleniu szczury zostały uśmiercone poprzez dyslokację kręgów szyjnych. Krew z lewej komory serca oraz gałki oczne zostały pobrane do dalszych analiz (*Rycina 4*).



Rycina 4. Schemat badań przyżyciowych u szczurów szczepów SHR i WKY w modelu nadciśnienia tętniczego.

Nadciśnienie tętnicze u szczurów było rozpoznane na podstawie wysokich wartości skurczowego ciśnienia tętniczego ( $> 150$  mmHg) (178). Retinopatię nadciśnieniową można rozpoznać na podstawie charakterystycznych zmian naczyniowych widocznych na dnie oka (zmiana wartości współczynnika a/v).

### 3.1.5. Model cukrzycy i schemat przeprowadzenia badań

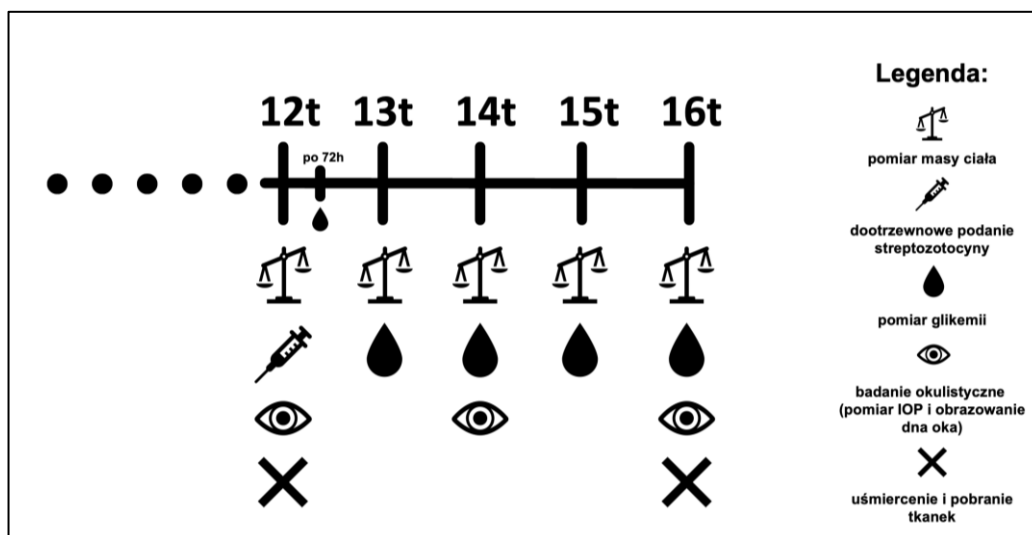
Jako model cukrzycy wykorzystano szczury szczepu Lewis z cukrzycą typu 1 wyindukowaną przez dootrzewnowe podanie STZ. Do doświadczenia włączono młode dorosłe samce szczurów szczepu Lewis podzielone na dwie grupy: zdrowe szczury, którym nie podano STZ (grupa kontrolna, Lewis\_KON) oraz szczury, którym podano STZ powodującą rozwój cukrzycy. STZ, roztworzoną w buforze cytrynianowym, podano w formie dootrzewnowej iniekcji w dawce 60 mg/kg masy ciała (172, 173, 174). Po 72 godzinach zmierzono glikemię w celu potwierdzenia rozwoju cukrzycy – szczury z poziomem glukozy we krwi przekraczającym 300 mg/dl (16,7 mmol/l) zostały włączone do grupy doświadczalnej (179, 180, 181). Szczury te obserwowano przez 4 tygodnie i następnie uśmiercono przez dyslokację kręgów szyjnych (grupa doświadczalna – Lewis\_CUK; Tabela 3).



Tabela 3. Podział na grupy szczurów szczepu Lewis w doświadczeniu dotyczącym patomechanizmów retinopatii cukrzycowej.

Nazwa grupy	Gatunek i szczep	Typ grupy	Wiek uśmiercenia	Opis grupy	Liczebność (n)
<b>Lewis_KON</b>	Szczury Lewis	Kontrolna	12 tygodni	12-tygodniowe szczury bez cukrzycy (bez podania STZ)	n=10
<b>Lewis_CUK</b>	Szczury Lewis	Doświadczalna	12 tygodni + 4 tygodnie trwania cukrzycy	16-tygodniowe szczury z cukrzycą (po podaniu STZ)	n=10

Szczury z grupy kontrolnej (Lewis\_KON) jednorazowo poddane zostały badaniu masy ciała i badaniom okulistycznym w znieczuleniu wziewnym izofluranem (pomiar IOP, obrazowanie dna oka), a następnie, pozostając w znieczuleniu, zostały uśmiercone poprzez dyslokację kręgów szyjnych. U zwierząt z grupy doświadczalnej (Lewis\_CUK) w ciągu 4 tygodni obserwacji, raz w tygodniu dokonywano pomiaru masy ciała oraz glikemii. Badania okulistyczne wykonywano w odstępach dwutygodniowych w znieczuleniu wziewnym izofluranem. Po zakończeniu ostatniego badania, znieczulone zwierzęta uśmiercono poprzez dyslokację kręgów szyjnych, a następnie pobrano gałki oczne oraz krew z lewej komory serca do dalszych analiz (Rycina 5).



Rycina 5. Schemat badań przyżyciowych u szczurów szczepu Lewis w modelu cukrzycy.

Cukrzycę u szczurów rozpoznano na podstawie wysokich wartości glikemii (>300 mg/dl), a retinopatię cukrzycową na podstawie zmian naczyniowych widocznych na dnie oka (zmiana wartości współczynnika a/v).

### 3.1.6. Badania przyżyciowe

Zwierzęta poddawane były regularnym badaniom przyżyciowym, na które składały się pomiar masy ciała oraz badania okulistyczne wykonane u zwierząt w znieczuleniu wziewnym izofluranem (pomiar IOP, obrazowanie dna oka). Dodatkowo przeprowadzane były badania niezbędne do monitorowania rozwoju chorób układowych: badanie ciśnienia tętniczego u szczurów szczepów SHR i WKY oraz badanie glikemii u szczurów szczepu Lewis.

#### 3.1.6.1. Pomiar masy ciała

U zwierząt dokonywano pomiaru masy ciała co tydzień, przy użyciu wagi laboratoryjnej, w celu monitorowania ich wzrostu i dobrostanu, a także w celu obliczenia dawek leku znieczulającego.

#### 3.1.6.2. Badania okulistyczne w znieczuleniu wziewnym izofluranem – metoda znieczulenia, obrazowania dna oka i pomiaru ciśnienia śródgąłkowego

Badania okulistyczne przeprowadzano co dwa tygodnie u zwierząt znieczulonych wziewnie izofluranem, gdyż zdjęcia dna oka odpowiedniej jakości i ostrości były możliwe do uzyskania

jedynie u gryzoni pozostających w bezruchu. Zwierzęta znieczulano przy pomocy izofluranu dostarczanego przez system anestezjologiczny o niskim przepływie (SomnoSuite®). Do wprowadzenia znieczulenia stosowano 4% roztwór izofluranu w powietrzu atmosferycznym, a do podtrzymania znieczulenia roztwór 2%. Przepływ środka znieczulającego obliczany był przy pomocy wzoru: przepływ (ml/min) = 0,65 x masa ciała (g).

W celu rozszerzenia źrenic, do każdego oka szczura zakraplano po jednej kropli 0,5% roztworu tropikamidu (Tropicamidum WZF 0,5%, Polfa Warszawa). Następnie za pomocą ręcznej kamery weterynaryjnej EpiCam V (EpiCam) obrazującej dno oka z odwzorowaniem kolorów rejestrowano obraz fragmentu dna oka, w którym wyraźnie widoczna była tarcza nerwu wzrokowego oraz naczynia wychodzące z jej okolicy. Zarejestrowane obrazy cyfrowe analizowano za pomocą oprogramowania ImageJ (wersja 1.53). W każdym oku mierzono średnicę naczyń tętniczych i żylnych. Następnie obliczano współczynnik a/v dzieląc wartość pomiaru średnicy tętnic przez średnicę żył, co pozwoliło uniknąć błędów pomiarowych wynikających z wpływu odległości ustawienia kamery od oka na obserwowaną wielkość obrazowanego naczynia. Wyniki przedstawiono na wykresach jako średnie wartości współczynnika a/v osobników w danej grupie zwierząt w kolejnych punktach czasowych.

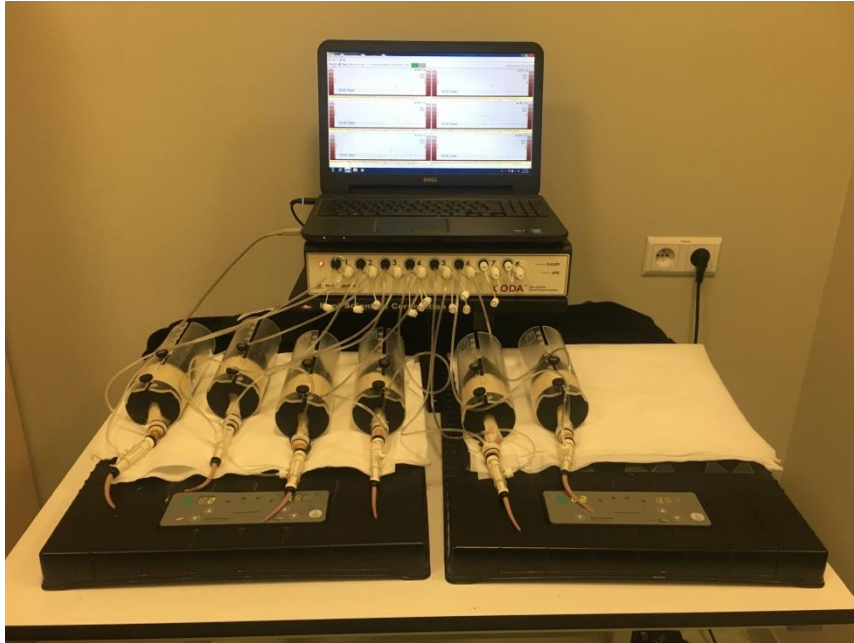
U zwierząt pozostających w znieczuleniu wziewnym, po obrazowaniu dna oka dokonywano pomiaru IOP w obu gałkach ocznych. Do tego celu wykorzystywano ręczny tonometr weterynaryjny TonoVet Plus (iCare), za pomocą którego pomiar IOP wykonywany był metodą tonometrii odbiciowej (*Rycina 6*). Metoda ta wykorzystywana była przez szerokie grono badaczy oceniających wartości IOP u gryzoni w okulistyce eksperymentalnej (49, 50, 51, 52, 53, 54). Wyniki pomiarów IOP przedstawiono jako średnie wartości pomiarów.



Rycina 6. Przykładowe zdjęcie szczura w trakcie pomiaru ciśnienia śródgąłkowego metodą odbiciową.

### 3.1.6.3. Pomiar ciśnienia tętniczego

Pomiar ciśnienia tętniczego (*ang. Blood Pressure; BP*) wykonywany był co 2 tygodnie u szczurów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym oraz z grup kontrolnych (szczury szczepów SHR i WKY). W celu ograniczenia wpływu stresu na wartość BP, zwierzęta na 2 tygodnie przed rozpoczęciem doświadczenia poddano procedurze przyuczenia do badania, polegającej na wykonaniu wszystkich czynności, jednak bez zapisu i analizy BP. Pomiar ciśnienia krwi wykonywany był metodą nieinwazyjną, za pomocą mankietu zakładanego na ogon szczura, połączonego z urządzeniem analizującym sygnał CODA® High Throughput System (Kent Scientific). W celu wykonania badania szczury unieruchamiano w plastikowych cylindrach o wymiarach 21 x 7 cm (Kent Scientific) oraz umieszczano na platformie grzewczej na 10 minut, aby doszło do rozszerzenia naczyń krwionośnych w ogonie. Następnie dokonywano 15 pomiarów, gdzie pierwsze 5 pomiarów stanowiło cykle aklimatyzacyjne (*Rycina 7*). Na podstawie uzyskanych wyników dla każdego szczura wyliczone zostały średnie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego (*ang. Systolic Blood Pressure; SBP*), rozkurczowego ciśnienia tętniczego (*ang. Diastolic Blood Pressure; DBP*) i średniego ciśnienia tętniczego (*ang. Mean Arterial Pressure; MAP*). Wyniki przedstawiono jako średnie wartości SBP, DBP i MAP osobników w danej grupie zwierząt w czasie.



Rycina 7. Przykładowe zdjęcie szczurów w trakcie pomiaru ciśnienia tętniczego na ogonie (szczury szczepów SHR i WKY).

#### **3.1.6.4. Pomiar glikemii**

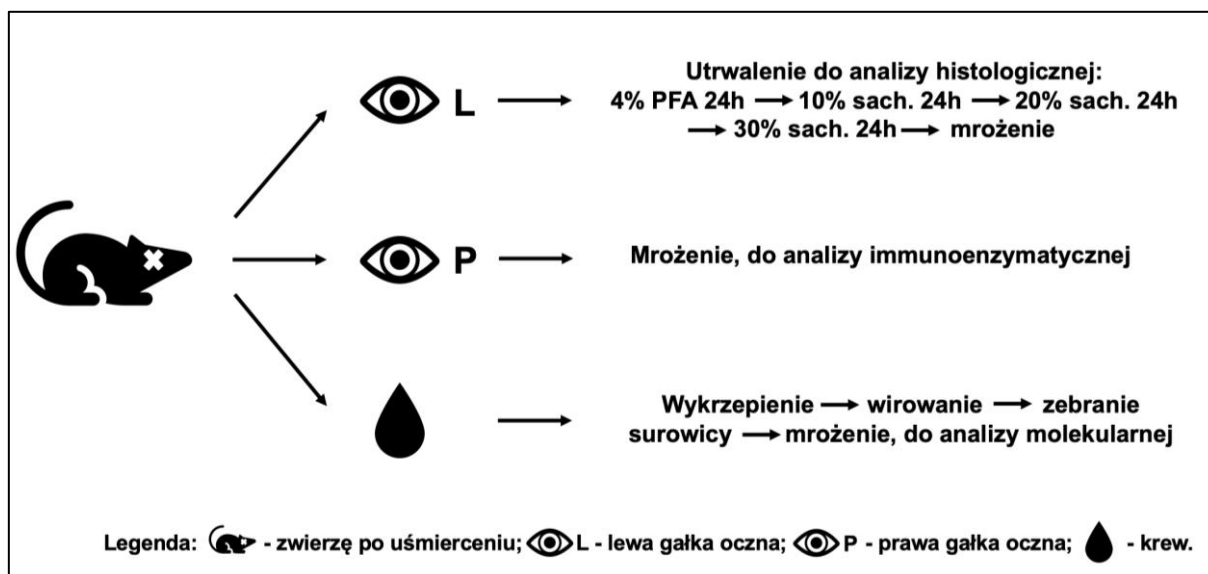
Pomiar glikemii wykonywany był u szczurów z cukrzycą (szczury ze szczepu Lewis). Zwierzęta unieruchamiano w plastikowych cylindrach o wymiarach 21 x 7 cm (Kent Scientific) oraz umieszczano na platformie grzewczej na 10 minut. Po rozszerzeniu naczyń krwionośnych w ogonie, nakłuwano igłą żyłę ogonową w celu pozyskania kropli krwi, umieszczonej następnie na pasku glukometru dokonującego odczytu glikemii (OneTouch® Select Plus Flex) (Rycina 8).



Rycina 8. Przykładowe zdjęcie szczurów w trakcie pomiaru glikemii z krwi żyłnej z żyły ogonowej (szczury szczepu Lewis).

### 3.2. Analiza tkanek wyizolowanych od zwierząt

Od wszystkich zwierząt bezpośrednio po uśmierceniu pobrane zostały tkanki (krew i gałki oczne). Krew pobierano z lewej komory serca i następnie pozostawiano do wykrzepienia (1 godzina, temperatura pokojowa). Po wykrzepieniu, krew wirowano (3000 obrotów na minutę, temperatura pokojowa, 15 minut) i zbierano surowicę, którą następnie zamrażano. Gałki oczne pobierano do analiz histopatologicznych (lewa gałka oczna) i immunoenzymatycznych (prawa gałka oczna). W tym celu lewą gałkę po pobraniu utrwalano (kolejno w: 4% roztworze paraformaldehydu [PFA] przez 24 godziny, 10% roztworze sacharozy przez 24 godziny, 20% roztworze sacharozy przez 24 godziny, 30% roztworze sacharozy przez 24 godziny) i następnie zamrażano, a prawą zamrażano bezpośrednio po pobraniu. Zamrożone tkanki przechowywano w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do czasu analiz (Rycina 9).



Rycina 9. Schemat pobrania tkanek do analiz od uśmierconych zwierząt. PFA – paraformaldehyd; sach. – sacharoza

### 3.2.1. Analiza histopatologiczna

Analiza histopatologiczna siatkówki nie jest elementem standardowej diagnostyki u ludzi, lecz jest szeroko stosowaną metodą w badaniach przedklinicznych. Wyniki histopatologicznej oceny siatkówki mogą być odniesione do wyników przyżyciowego badania OCT u ludzi, również obrazującego poprzeczny przekrój przez siatkówkę. Preparaty histopatologiczne z gałek ocznych zostały przygotowane na podstawie metodologii opracowanej w oparciu o prace Chai i wsp., Igarashi i wsp., Zhang i wsp. oraz Dorfman i wsp. (182, 183, 184, 185). Sposób pomiaru grubości siatkówki oraz poszczególnych warstw opisano na podstawie metodologii przedstawionej przez Chai i wsp. oraz Barber i wsp. (182, 186). Metodę zliczania RGC w siatkówce opracowano na podstawie przeglądu prac Chai i wsp., Zhang i wsp., Steinle i wsp. oraz Dorfman i wsp. (182, 184, 185, 187).

Analizie histopatologicznej poddawano mysie gałki w całości, natomiast gałki oczne szczurze przekrawano na pół w płaszczyźnie strzałkowej. Przecięcie wykonywano w celu zapewnienia wystarczającej penetracji odczynników chemicznych wykorzystywanych w kolejnych etapach utrwalania i barwienia tkanki, co było potrzebne jedynie przy przygotowywaniu gałek szczurzych, ze względu na ich 10-krotnie większą objętość w porównaniu do gałek mysich. Po rozmrożeniu, gałki oczne płukano w wodzie celem wypłukania sacharozy i dalej procesowano w roztworach alkoholu etylowego o wzrastających stężeniach (70%; 80%; 96%; 99,8%), acetonie i ksylenie. Następnie tkanki zatapiano w bloczkach parafinowych układając gałkę

oczną na boku. Tkankę skrawano na skrawki grubości 3,5  $\mu\text{m}$  przy użyciu mikrotomu (Microm HM 340 E, Thermo Scientific), w płaszczyźnie strzałkowej tak, aby uwidocznić przekrój przez rogówkę, tęczówkę, ciało rzęskowe, siatkówkę obwodową oraz centralną. Skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną według standardowej metody i skanowano za pomocą histopatologicznego skanera slajdów (NanoZoomer 2.0HT, Opta-Tech). Obrazy zapisywano w formie pliku cyfrowego wysokiej rozdzielczości. Siatkówkę analizowano na przekrojach przechodzących przez źrenicę gałki ocznej, na trzech kolejnych skrawkach, przy pomocy programu NDP.view 2 (wersja 2.9.29). Na uzyskanych obrazach analizie poddawano:

- grubość siatkówki (*ang. Retinal Thickness*; RT) mierzona jako odległość od błony granicznej gwałowej zewnętrznej do wewnętrznej w najszerszym miejscu [ $\mu\text{m}$ ],
- grubość poszczególnych warstw siatkówki – ONL, OPL, INL i IPL, w ich najszerszym miejscu [ $\mu\text{m}$ ].

Wartości grubości poszczególnych warstw przedstawiono jako stosunek grubości danej warstwy do wartości RT:

- ONL/RT (stosunek grubości warstwy jądrazstej zewnętrznej do grubości siatkówki),
- OPL/RT (stosunek grubości warstwy splotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki),
- INL/RT (stosunek grubości warstwy jądrazstej wewnętrznej do grubości siatkówki),
- IPL/RT (stosunek grubości warstwy splotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki).

Liczbę komórek zwojowych u myszy (model jaskry) analizowano w części centralnej siatkówki na długości 500  $\mu\text{m}$  (centralne komórki zwojowe siatkówki; *ang. central Retinal Ganglion Cells*; cRGC) oraz w części obwodowej, na długości 250  $\mu\text{m}$  po jednej stronie i 250  $\mu\text{m}$  po przeciwnej stronie przekroju (pomiar rozpoczynano w odległości 500  $\mu\text{m}$  od brzegu ciała rzęskowego). Liczbę obwodowych komórek zwojowych sumowano, aby wyrazić ilość komórek na 500  $\mu\text{m}$  siatkówki obwodowej (obwodowe komórki zwojowe siatkówki; *ang. peripheral Retinal Ganglion Cells*; pRGC).

Podczas skrawania przeciętych na pół szczurzych gałek ocznych na mikrotomie (modele nadciśnienia tętniczego i cukrzycy), siatkówka ulegała drobnym rozerwaniom, co powodowało trudności w jednoznacznym rozróżnieniu centralnych i obwodowych fragmentów siatkówki. Na każdym z analizowanych przekrojów, losowo wybierano pięć odcinków o długości 100  $\mu\text{m}$



wzdłuż siatkówki i liczono komórki RGC. Liczbę komórek z każdego fragmentu sumowano, aby uzyskać łączną liczbę RGC dla każdej gałki ocznej.

### **3.2.2. Analiza immunoenzymatyczna**

Poziom czynników neuroprotekcyjnych BDNF i NGF oznaczano w surowicy i 10% homogenatach gałek ocznych przy użyciu testu immunoenzymatycznego (*ang. Enzyme-Linked Immunoassay*; ELISA) zgodnie z protokołem dołączonym do zestawu przez producenta. Homogenaty przygotowano w zimnym roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanem poprzez mechaniczne rozdrobnienie tkanki (50 Hz, 9 minut) za pomocą homogenizatora kulkowego (TissueLyser LT, Qiagen). Próbkę poddano dwóm cyklom zamrażania-rozmrażania w celu rozerwania błon komórkowych, a następnie wirowano (20 000 obrotów na minutę, 4°C, 15 minut). Supernatant zebrano i zamrożono w -80°C. Do analizy poziomu BDNF użyto testów: Rat BDNF ELISA Kit (FineTest® Wuhan Fine Biotech Co.), Mouse BDNF ELISA Kit (FineTest® Wuhan Fine Biotech Co.). Do analizy poziomu NGF użyto testów: Rat NGF/NGFβ ELISA Kit (FineTest® Wuhan Fine Biotech Co.), Mouse NGF/NGFβ ELISA Kit (FineTest® Wuhan Fine Biotech Co.). W przypadku zbyt małej objętości materiału niewystarczającej do wykonania analiz (tkanki mysie), próbki pulowano (łączono) w obrębie grup (ilość analizowanych próbek w grupach: C57Bl/6\_11t – 2 próbki homogenatu gałek ocznych, 0 próbek surowicy; C57Bl/6\_10m – 4 próbki homogenatu gałek ocznych, 4 próbki surowicy; DBA/2\_11t – 3 próbki homogenatu gałek ocznych, 0 próbek surowicy; DBA/2\_10m\_JAS – 4 próbki homogenatu gałek ocznych, 4 próbki surowicy). Metoda pulowania próbek opisywana była również przez innych badaczy (188). Płytki analizowano za pomocą czytnika płytek iMark Microplate Reader (Bio-Rad), przy długości fali 450 nm. Wyniki przedstawiano jako średnie wartości gęstości optycznej próbek (*ang. Optical Density*; OD).

### **3.3. Analiza statystyczna**

Analiza statystyczna przeprowadzona została przy użyciu programu GraphPad Prism 9 (wersja 9.4.1) oraz arkusza kalkulacyjnego Microsoft® Excel (wersja 16.67). Analizę normalności rozkładu danych wykonano przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Do porównania danych między dwiema grupami użyto testów: t-Studenta dla danych o rozkładzie normalnym lub Manna-Whitneya dla danych o rozkładzie nienormalnym. Dla porównania danych między wieloma grupami użyto testów: ANOVA dla danych o rozkładzie normalnym lub Kruskala-Wallisa dla danych o rozkładzie nienormalnym. Za poziom istotności statystycznej przyjęto  $\alpha \leq 0,05$ , a w

celu wykazania jej wartości przyjęto oznaczenia: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ . Aby ocenić związek między zmiennymi ciągłymi, wykonano testy korelacji: test korelacji Pearsona dla porównania danych o rozkładzie normalnym lub test korelacji Spearmana dla porównania danych o rozkładzie nienormalnym. Na podstawie analizy wartości współczynnika korelacji „r”, korelacje o wartości bezwzględnej  $r = 0 - 0,3$  interpretowano jako korelacje słabe;  $r = 0,3 - 0,5$  korelacje umiarkowane;  $r = 0,5 - 0,7$  korelacje silne;  $r = 0,7 - 1$  korelacje bardzo silne. Na wykresach przedstawiających korelacje, dla korelacji o istotności statystycznej  $p < 0,05$  wykreślano linię regresji.

## 4. Wyniki

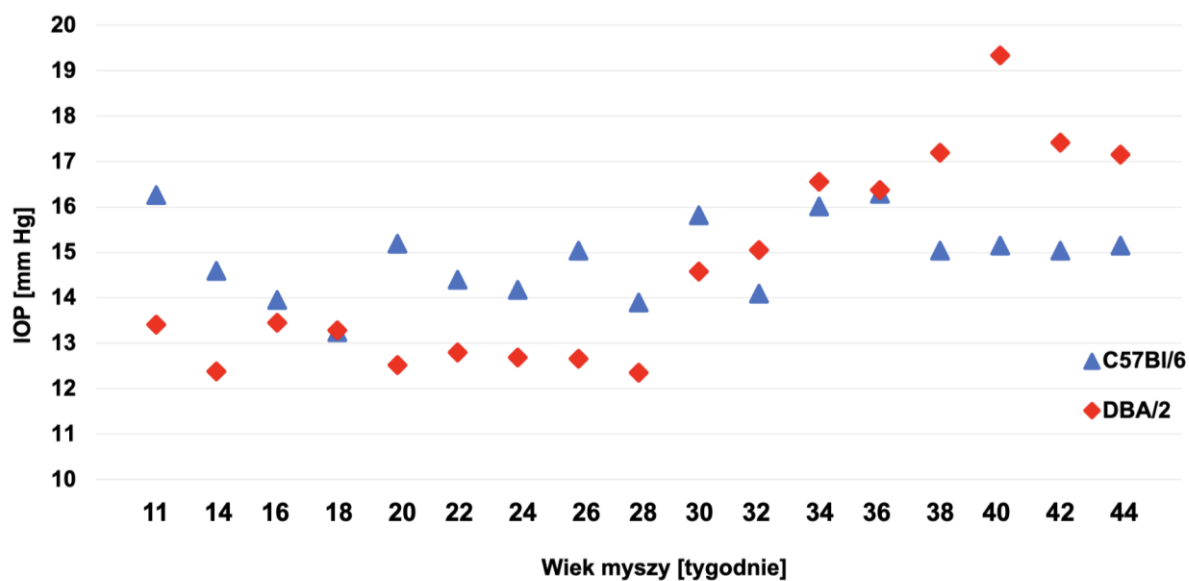
W niniejszym rozdziale zaprezentowano wyniki badań przyżyciowych, analizy histopatologicznej siatkówki oraz analizy immunoenzymatycznej tkanek zwierząt (galek ocznych i surowicy). Dodatkowo, w treści rozdziału opisane zostały wybrane korelacje, które uznano za wartościowe i interesujące w dyskusji naukowej. Wyniki wszystkich analiz statystycznych (porównania między grupami oraz korelacje) przedstawione zostały w tabelach stanowiących załączniki do doktoratu (*Tabele 4-16*).

### 4.1. Model jaskry

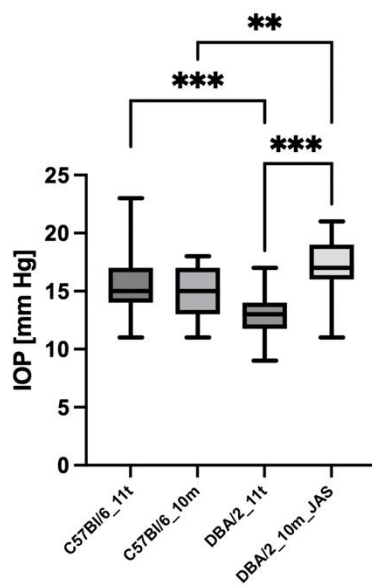
#### 4.1.1. Badania przyżyciowe

##### 4.1.1.1. Ciśnienie śródgałkowe

Wyniki ciśnienia śródgałkowego mierzonego w odstępach dwutygodniowych przedstawia *Rycina 10*. U myszy szczepu DBA/2 w 10. miesiącu życia zaobserwowano istotnie wyższe wartości ciśnienia śródgałkowego w porównaniu do myszy szczepu C57Bl/6 w tym samym wieku – 17 mmHg (rozstęp międzykwartyłowy [*ang. Interquartile Range; IQR*] 16 – 18,75 mmHg) vs. 15 mmHg (IQR 13 – 17 mmHg),  $p = 0,005$ . IOP u myszy z grupy doświadczalnej było również istotnie wyższe niż u myszy tego samego szczepu w 11. tygodniu życia – 17 mmHg (IQR 16 – 18,75 mmHg) vs. 13 mmHg (IQR 12 – 14 mmHg),  $p < 0,001$ . Dodatkowo, zaobserwowano różnicę między 11-tygodniowymi myszami szczepów DBA/2 i C57Bl/6, gdzie młode myszy szczepu DBA/2 miały niższe ciśnienie śródgałkowe, niż młode C57Bl/6 – 13 mmHg (IQR 12 – 14 mmHg) vs. 15 mmHg (IQR 14 – 17 mmHg),  $p < 0,001$ . Pomimo tej różnicy u młodszych osobników, wartości ciśnienia śródgałkowego u myszy z jaskrą (myszy szczepu DBA/2 w wieku 10 miesięcy) przewyższyły wartości IOP u zwierząt z grupy kontrolnej (*Rycina 11*).



Rycina 10. Średnie wartości ciśnienia śródgąłkowego (IOP) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w przebiegu doświadczenia.

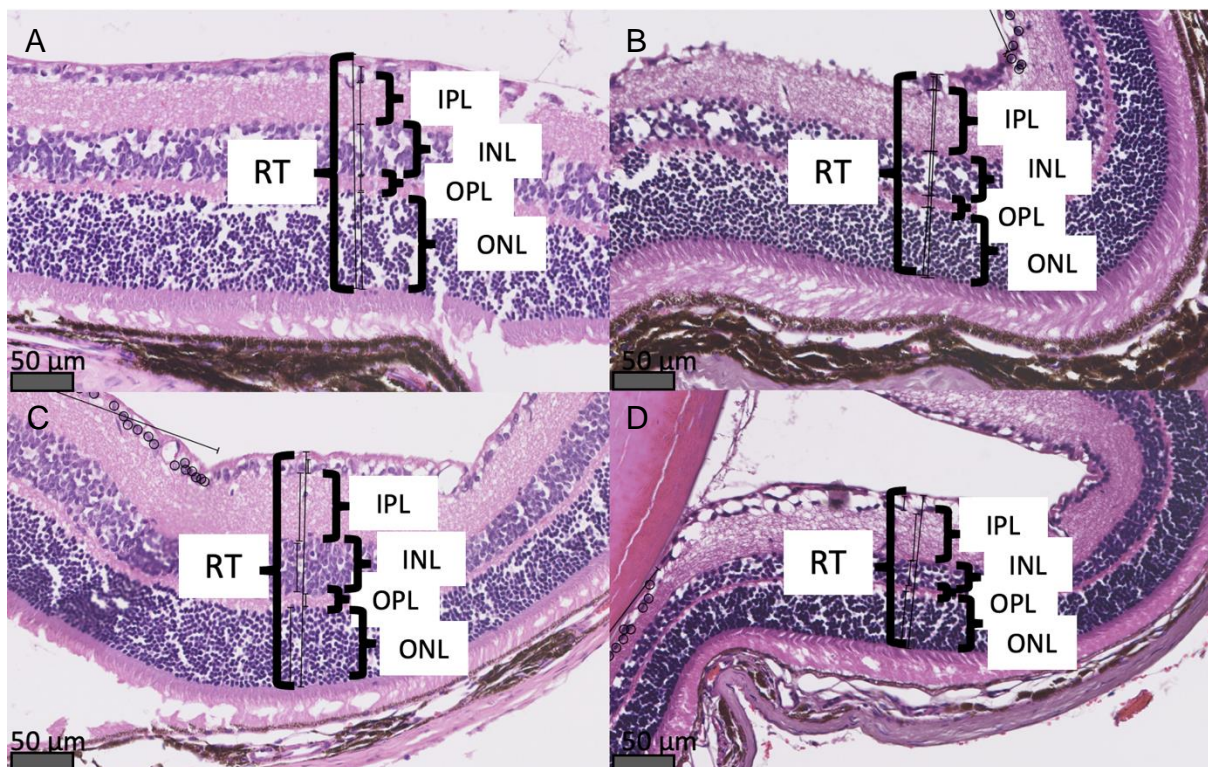


Rycina 11. Wartości ciśnienia śródgąłkowego (IOP) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6 w dniu uśmiercania. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

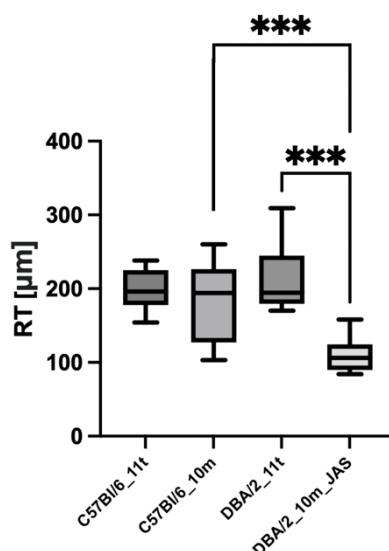
## 4.1.2. Analiza histopatologiczna

### 4.1.2.1. Grubość siatkówki

Przekroje przez siatkówkę myszy obrazujące różnice w jej grubości przedstawia *Rycina 12*. Myszy z jaskrą (DBA/2\_10m\_JAS) miały istotnie cieńszą siatkówkę od myszy z grupy kontrolnej DBA/2\_11t (106  $\mu\text{m}$  [IQR 90,1 – 124  $\mu\text{m}$ ] vs. 194,5  $\mu\text{m}$  [IQR 180,25 – 242,25  $\mu\text{m}$ ],  $p < 0,001$ ). Dodatkowo, siatkówka 10-miesięcznych myszy z jaskrą (DBA/2\_10m\_JAS) była istotnie cieńsza od siatkówki 10-miesięcznych myszy kontrolnych (C57Bl/6\_10m) (106  $\mu\text{m}$  [IQR 90,1 – 124  $\mu\text{m}$ ] vs. 194  $\mu\text{m}$  [IQR 127,25 – 223,75  $\mu\text{m}$ ],  $p < 0,001$ ). Nie znaleziono różnic statystycznych między grupami 11-tygodniowych zwierząt, ani między grupami 11-tygodniowych i 10-miesięcznych myszy szczepu C57Bl/6 (*Rycina 13*).



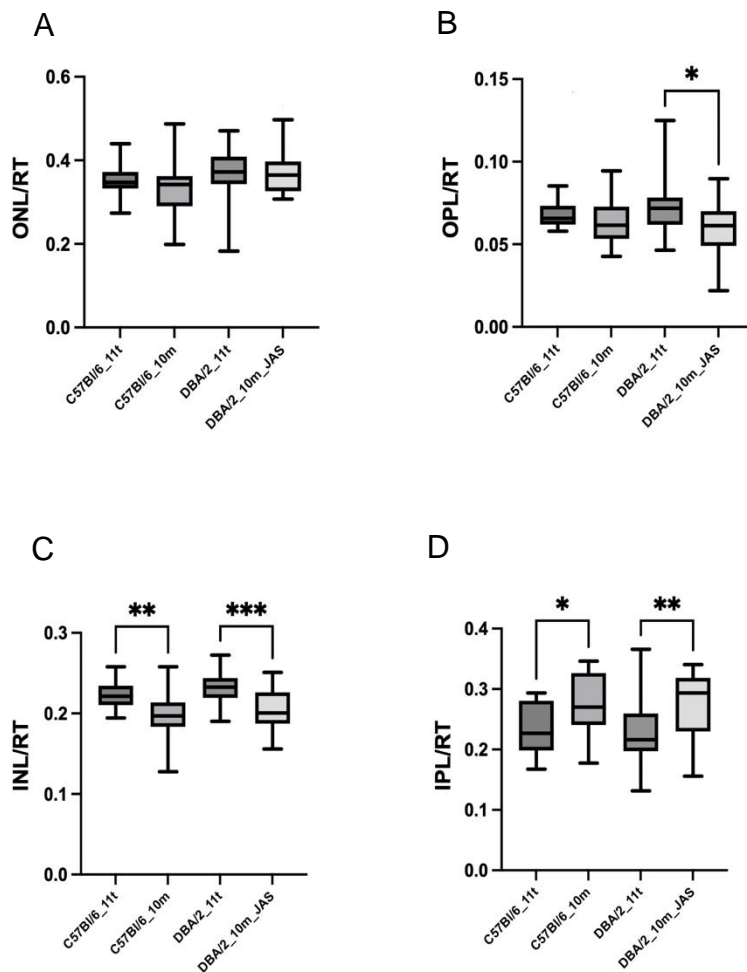
*Rycina 12. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka (A) 11-tygodniowej myszy szczepu C57Bl/6; (B) 10-miesięcznej myszy szczepu C57Bl/6; (C) 11-tygodniowej myszy szczepu DBA/2; (D) 10-miesięcznej myszy szczepu DBA/2 z jaskrą. Barwienie hematoksylina + eozyna. RT – grubość siatkówki; ONL – warstwa jądrzasta zewnętrzna; OPL – warstwa splotowata zewnętrzna; INL – warstwa jądrzasta wewnętrzna; IPL – warstwa splotowata wewnętrzna. Powiększenie mikroskopowe 200x.*



Rycina 13. Grubość siatkówki (RT) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.1.2.2. Grubość poszczególnych warstw siatkówki

Wraz z wiekiem, w siatkówce u myszy obu szczepów doszło do zmian grubości warstw wewnętrznych – zaobserwowano spadek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej oraz wzrost grubości warstwy splotowatej wewnętrznej w stosunku do grubości siatkówki (Rycina 14). Zmiana, która dotyczyła jedynie myszy z jaskrą (DBA/2\_10m\_JAS), to zmniejszenie udziału zewnętrznej warstwy splotowatej w strukturze siatkówki. Wartość współczynnika OPL/RT u myszy z jaskrą (DBA/2\_10m\_JAS) była niższa niż u 11-tygodniowych myszy podatnych na rozwinięcie jaskry, przed wystąpieniem objawów (DBA/2\_11t) – 0,061 (IQR 0,051 – 0,069) vs. 0,072 (IQR 0,062 – 0,078),  $p = 0,011$ . Różnicy istotnej statystycznie nie zaobserwowano jednak przy porównaniu 10-miesięcznych myszy szczepu DBA/2 z 10-miesięcznymi myszami szczepu C57Bl/6 (Rycina 14).

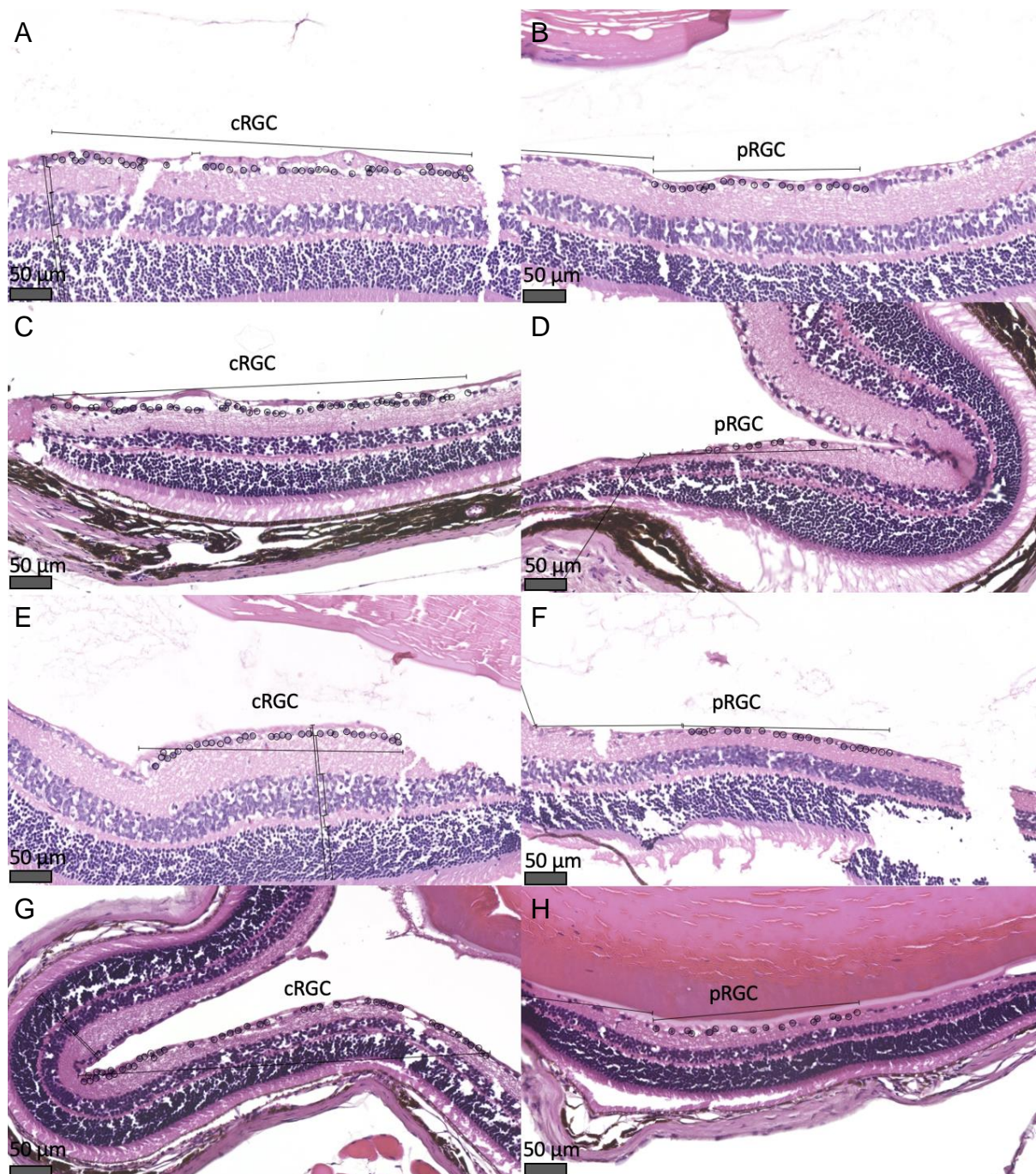


Rycina 14. Grubość (A) warstwy jądrazastej zewnętrznej; (B) warstwy splotowej zewnętrznej; (C) warstwy jądrazastej wewnętrznej; (D) warstwy jądrazastej wewnętrznej siatkówki u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy splotowej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy splotowej wewnętrznej do grubości siatkówki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.1.2.3. Liczba komórek zwojowych siatkówki

Przekroje przez siatkówkę myszy obrazujące różnice w ilości komórek zwojowych w części centralnej i obwodowej siatkówki przedstawia Rycina 15. U myszy z jaskrą (DBA/2\_10m\_JAS) zaobserwowano mniejszą liczbę komórek zwojowych siatkówki, zarówno w części centralnej (cRGC) jak i w części obwodowej (pRGC) w porównaniu do grupy 10-

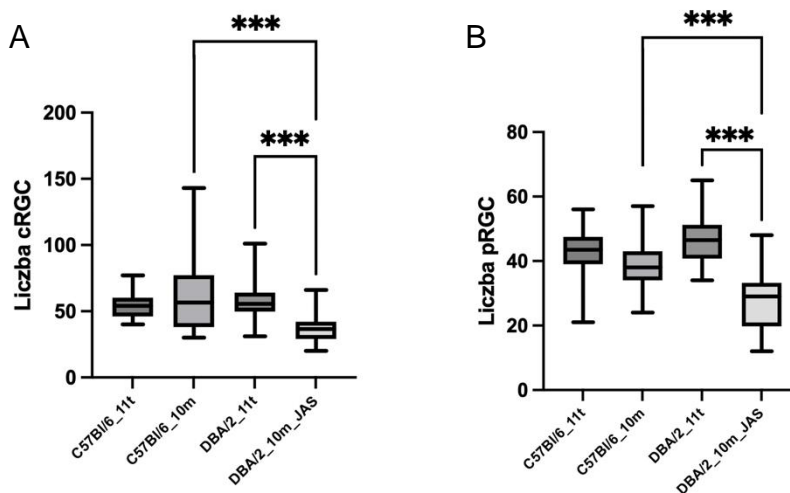
miesięcznych myszy szczepu C75Bl/6 (cRGC: 36,5 [IQR 30,25 – 40,75] vs. 56,5 [IQR 38 – 74,75],  $p < 0,001$ ; pRGC: 29 [IQR 20,75 – 32,5] vs. 38 [IQR 34,25 – 42,5],  $p < 0,001$ ) oraz w porównaniu do 11-tygodniowych myszy szczepu DBA/2 (cRGC: 36,5 [IQR 30,25 – 40,75] vs. 55,5 [IQR 50,25 – 62],  $p < 0,001$ ; pRGC: 29 [IQR 20,75 – 32,5] vs. 46,5 [IQR 41,25 – 51],  $p < 0,001$ ). Pomędzy pozostałymi grupami zwierząt nie zaobserwowano różnic w liczbie komórek zwojowych w siatkówce (Rycina 16).



Rycina 15. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka przedstawiający centralne komórki zwojowe siatkówki (cRGC) i obwodowe komórki zwojowe siatkówki (pRGC): (A) cRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu



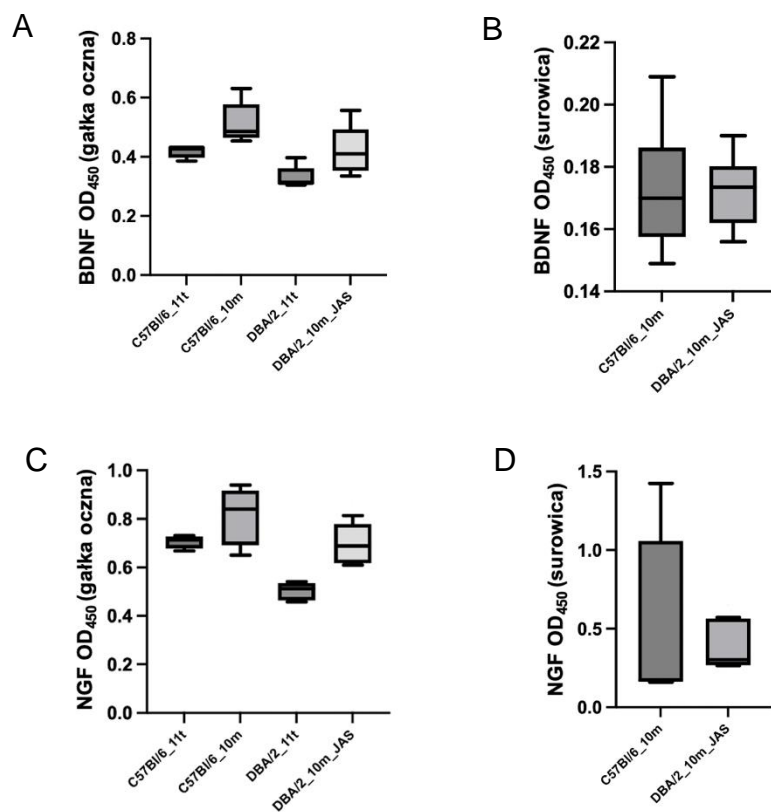
C57Bl/6; (B) pRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu C57Bl/6; (C) cRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu C57Bl/6; (D) pRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu C57Bl/6; (E) cRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu DBA/2; (F) pRGC u 11-tygodniowej myszy szczepu DBA/2; (G) cRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu DBA/2 z jaskrą; (H) pRGC u 10-miesięcznej myszy szczepu DBA/2 z jaskrą. Barwienie hematoksylina + eozyna. Okręgami zaznaczono komórki zwojowe siatkówki, w centralnej i obwodowej części siatkówki. Powiększenie mikroskopowe 200x.



Rycina 16. Liczba (A) centralnych komórek zwojowych siatkówki (cRGC) i (B) obwodowych komórek zwojowych siatkówki (pRGC) u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.1.3. Analiza immunoenzymatyczna

Rycina 17, przedstawiająca poziom czynników neuroprotektynowych, ukazuje tendencję do wzrostu poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej wraz z wiekiem, oraz niższy poziom BDNF i NGF w gałce ocznej 10-miesięcznych myszy z jaskrą niż u 10-miesięcznych myszy kontrolnych. W porównaniach między grupami nie można było obliczyć istotności statystycznej, ze względu na małą liczebność grup po pulowaniu. U 11-tygodniowych myszy (grupy DBA/2\_11t i C57Bl/6\_11t) nie oznaczono białek w surowicy z przyczyn technicznych (niewystarczająca ilość materiału do przeprowadzenia analizy).



Rycina 17. Poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w (A) gałce ocznej i (B) surowicy; poziom czynnika wzrostu nerwów (NGF) w (C) gałce ocznej i (D) surowicy u myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. Do oznaczeń molekularnych próbki były pulowane – ilość próbek wykorzystana do oznaczeń w każdej grupie wynosiła: C57Bl/6\_11t – 2 próbki; C57Bl/6\_10m – 4 próbki; DBA/2\_11t – 3 próbki; DBA/2\_10m\_JAS – 3 próbki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyli oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej.

#### 4.1.4. Wyniki korelacji otrzymanych wyników

Wyniki korelacji parametrów oznaczonych u zwierząt zostały przedstawione w tabelach w załączniku do doktoratu (Tabele 5-8).

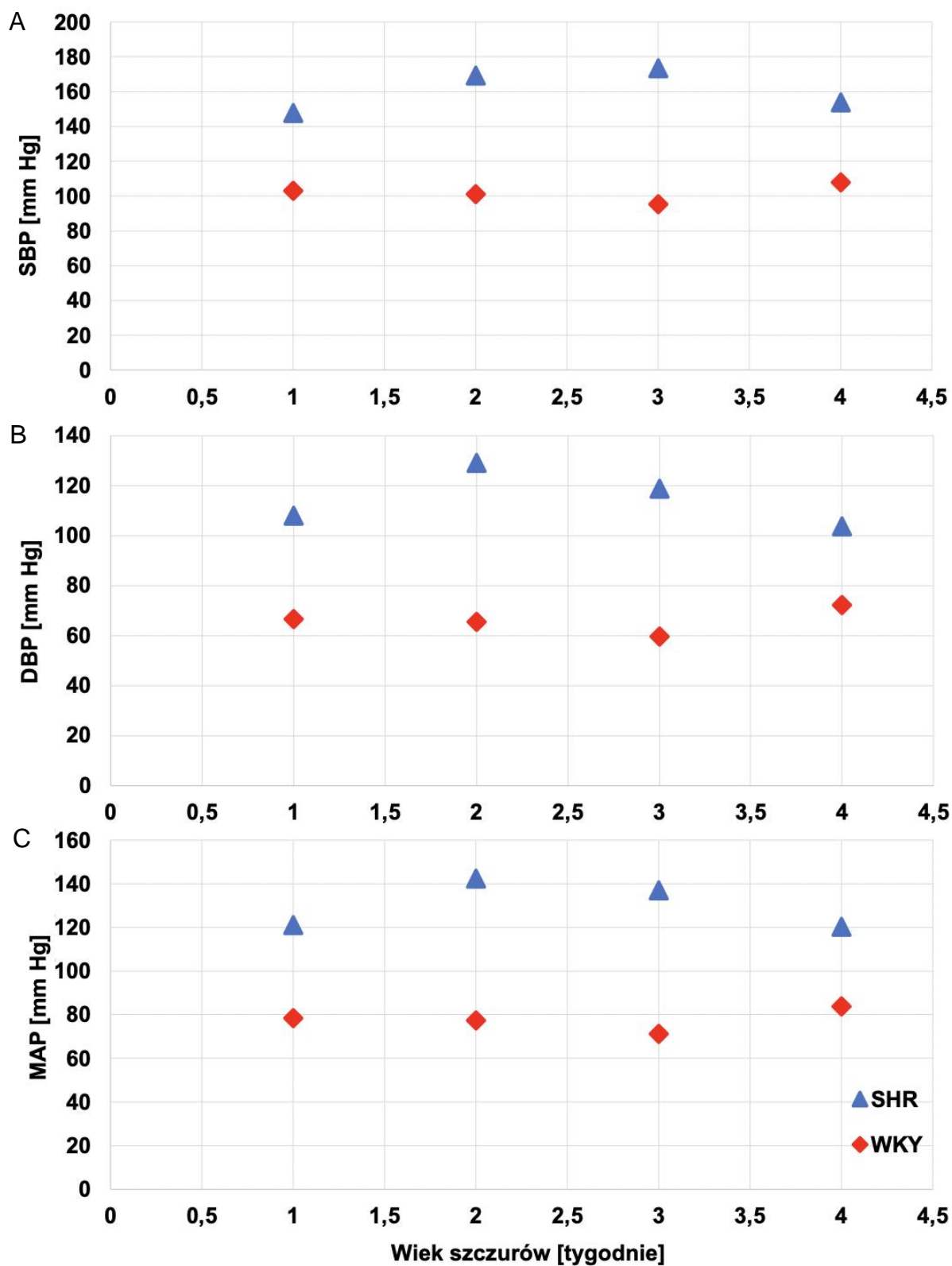
### 4.2. Model nadciśnienia tętniczego

#### 4.2.1. Badania przyżyciowe

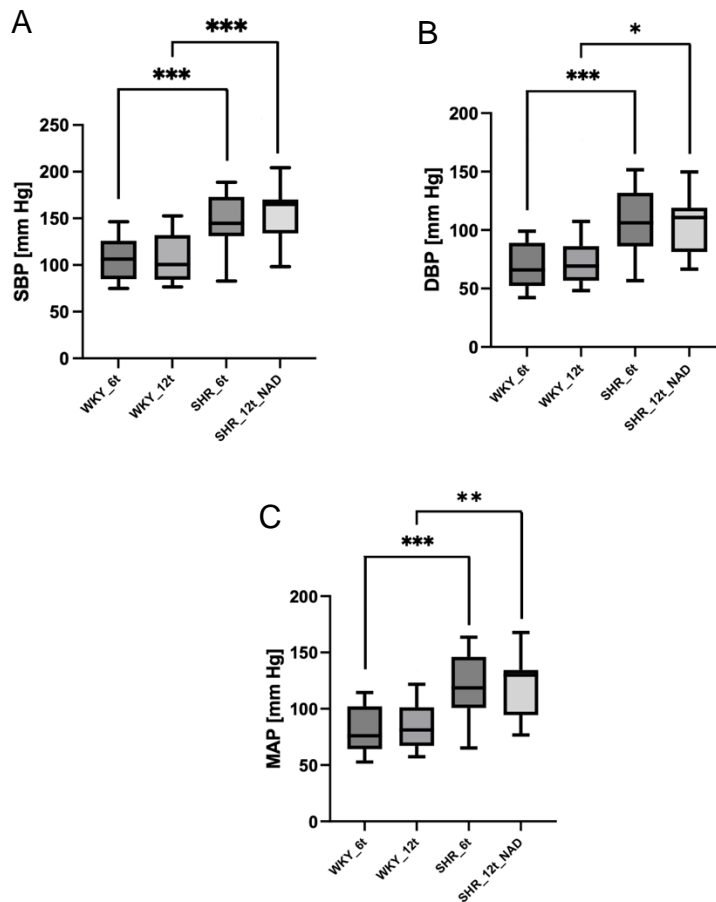
##### 4.2.1.1. Ciśnienie tętnicze

U 12-tygodniowych szczurów szczepu SHR (grupa SHR\_12t\_NAD) rozpoznano nadciśnienie tętnicze na podstawie podwyższonych wartości skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP > 150 mmHg). Szczury szczepu SHR w wieku 6 tygodni kryterium tego nie spełniły, dlatego w grupie

SHR\_6t nie rozpoznano nadciśnienia tętniczego, choć wartości były istotnie wyższe niż u zwierząt z grupy WKY\_6t. Obserwowano tendencję do wzrostu BP w 8. i 10. tygodniu życia, a następnie spadek w 12. tygodniu (*Rycina 18*). Zmiana od szóstego do dwunastego tygodnia nie była istotna statystycznie. Wartości ciśnień tętniczych u szczurów szczepu SHR były istotnie wyższe niż szczurów szczepu WKY w odpowiadającym im wieku: SHR\_6t vs WKY\_6t: SBP:  $147 \pm 27,34$  mmHg vs  $105,5 \pm 23,38$  mmHg,  $p < 0,001$ ; DBP:  $108 \pm 27,85$  mmHg vs  $68,52 \pm 18,65$  mmHg,  $p < 0,001$ ; MAP:  $120,9 \pm 27,41$  mmHg vs  $80,52 \pm 19,79$  mmHg,  $p < 0,001$ ; SHR\_12t\_NAD vs WKY\_12t: SBP  $153,8 \pm 29,73$  mmHg vs  $107,7 \pm 27,81$  mmHg,  $p = 0,001$ ; DBP  $103,8 \pm 24,74$  mmHg vs  $72,36 \pm 20,05$  mmHg,  $p = 0,013$ ; MAP  $120,2 \pm 25,99$  mmHg vs  $83,79 \pm 22,47$  mmHg,  $p = 0,004$  (*Rycina 19*).



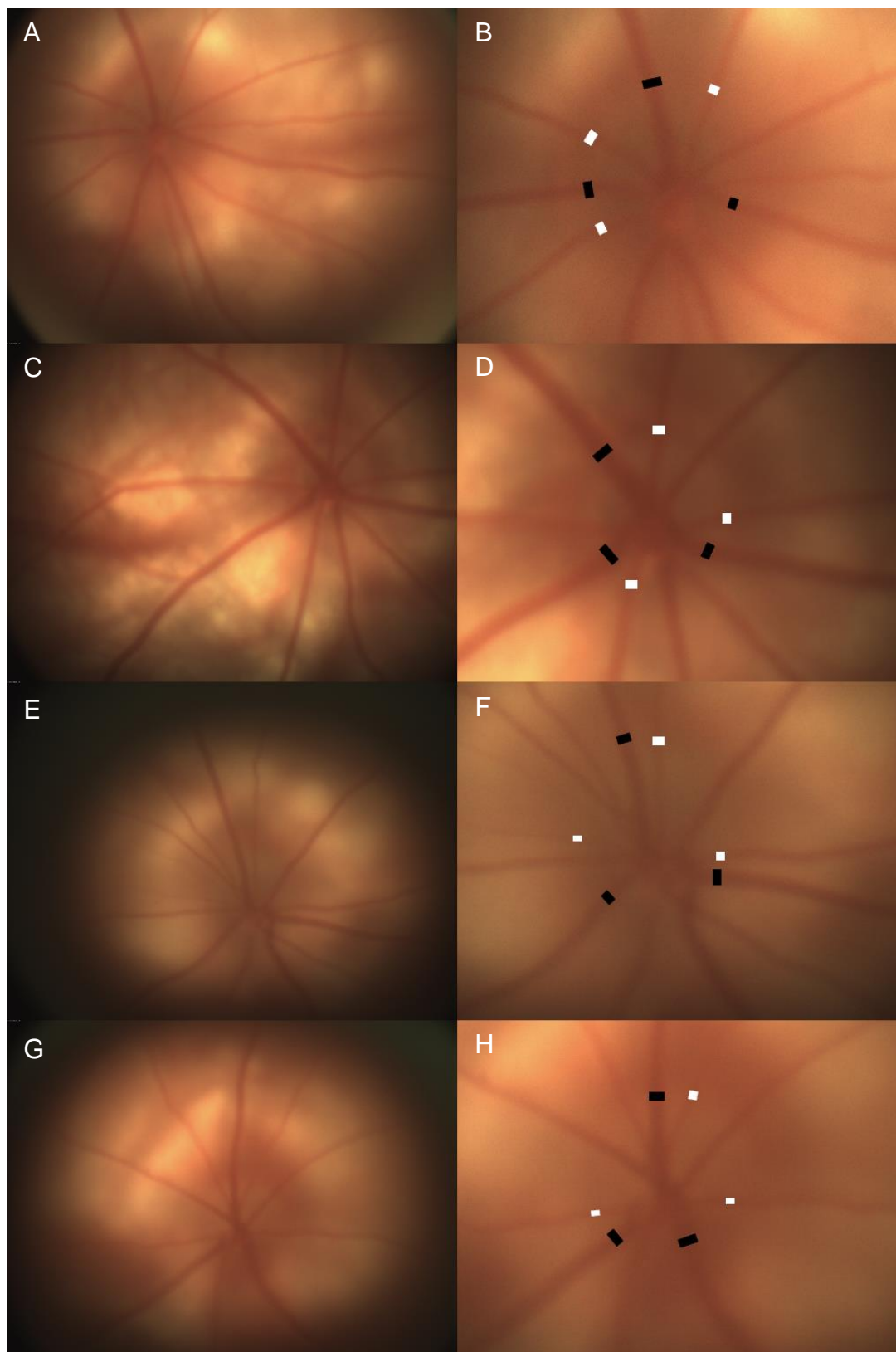
Rycina 18. Średnie wartości (A) skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP); (B) rozkurczowego ciśnienia tętniczego (DBP); (C) średniego ciśnienia tętniczego (MAP) u szczurów szczepów SHR i WKY w przebiegu doświadczenia.



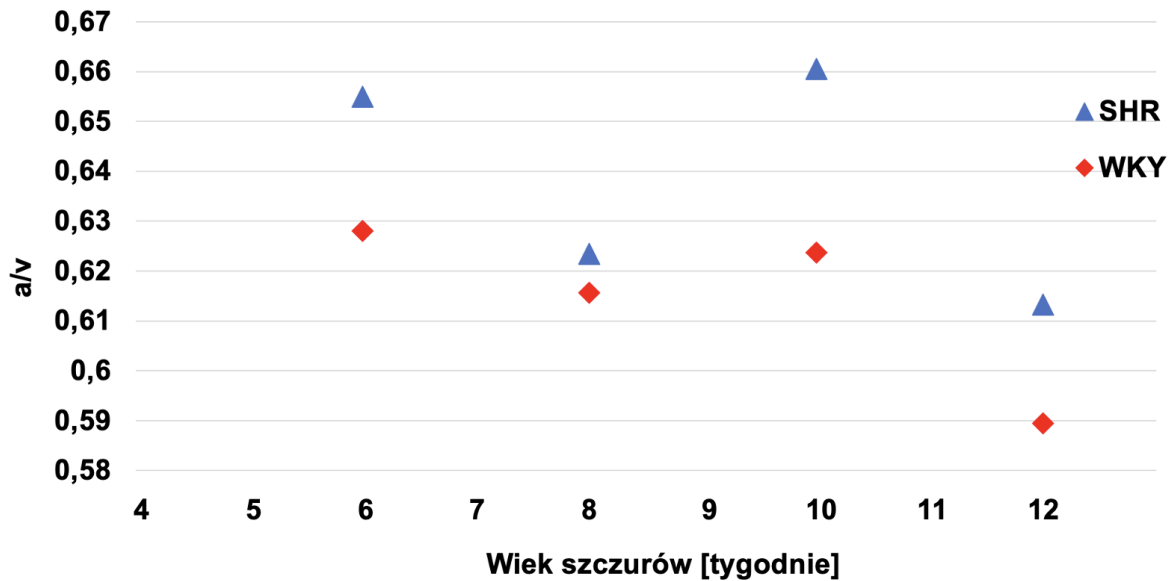
Rycina 19. Wartości (A) skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP); (B) rozkurczowego ciśnienia tętniczego (DBP); (C) średniego ciśnienia tętniczego (MAP) u szczurów szczepów SHR i WKY w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.2.1.2. Stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka

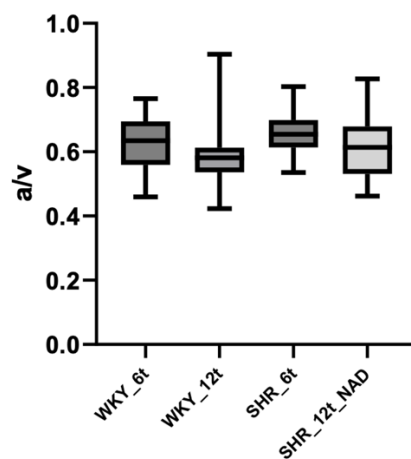
U szczurów, na podstawie zdjęć dna oka obliczano stosunek średnicy tętnic do średnicy żył (współczynnik a/v) (Rycina 20). Wyniki pomiarów a/v wykonywanych co dwa tygodnie przedstawia Rycina 21. Podczas analizy danych nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w porównaniu wartości współczynnika a/v między grupami (Rycina 22).



Rycina 20. Przykładowe zdjęcia dna oka ze zbliżeniem na tarczę nerwu wzrokowego: (A, B) 6-tygodniowego szczura szczepu WKY; (C, D) 12-tygodniowego szczura szczepu WKY; (E, F) 6-tygodniowego szczura szczepu SHR; (G, H) 12-tygodniowego szczura szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym. Białe odcinki obrazują sposób pomiaru średnicy tętnic siatkówki, czarne odcinki obrazują sposób pomiaru żył siatkówki.



Rycina 21. Średnie wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył siatkówki (a/v) u szczurów szczepów SHR i WKY w przebiegu doświadczenia.

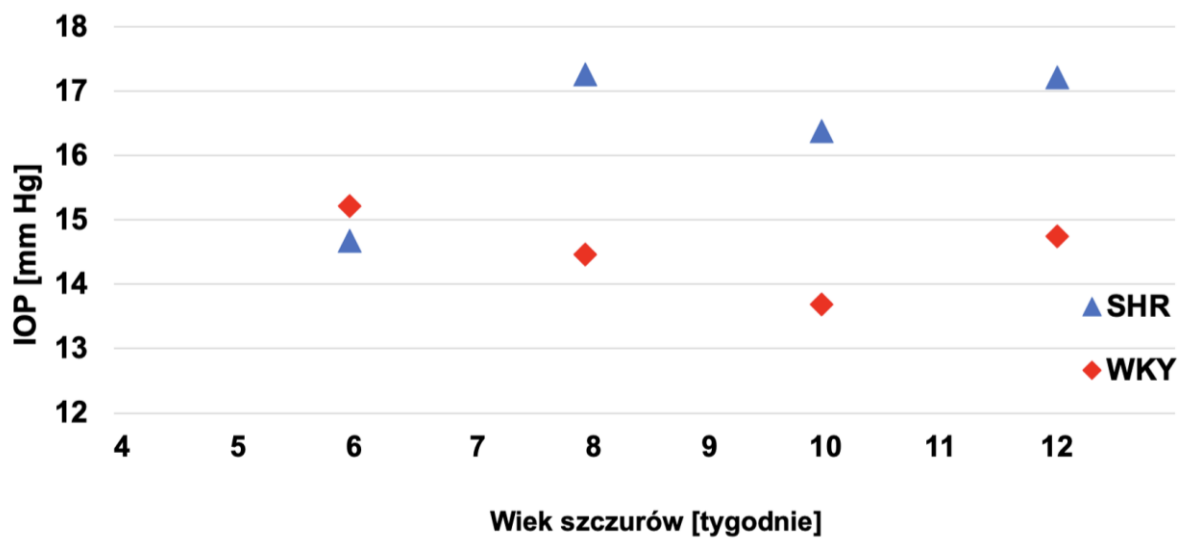


Rycina 22. Wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył (a/v) u szczurów szczepów SHR i WKY w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

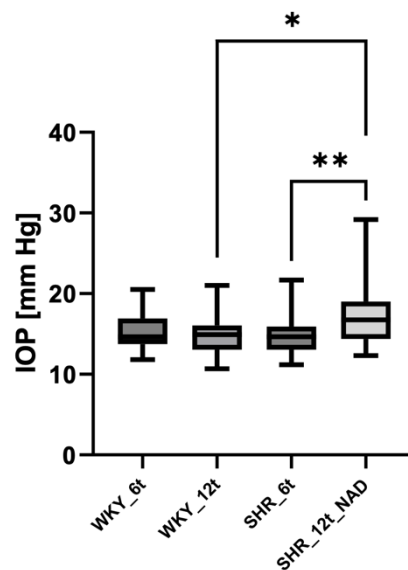
#### 4.2.1.3. Ciśnienie śródgałkowe

Wyniki pomiaru IOP wykonywanego co dwa tygodnie u szczurów przedstawia Rycina 23. Szczury z nadciśnieniem tętniczym w 12. tygodniu życia (grupa SHR\_12t\_NAD) wyróżniały się istotnie wyższym IOP, niż zwierzęta z grup kontrolnych: SHR\_12t\_NAD vs. SHR\_6t: 16,75 mmHg (IQR 14,37 – 19 mmHg) vs. 14,67 mmHg (IQR 13,04 – 15,92 mmHg),  $p = 0,003$ ;

SHR\_12t\_NAD vs. WKY\_12t: 16,75 mmHg (IQR 14,37 – 19 mmHg) vs. 14,92 mmHg (IQR 13,04 – 16,05 mmHg),  $p = 0,032$  (Rycina 24).



Rycina 23. Średnie wartości ciśnienia śródgłowego (IOP) u szczurów szczepów SHR i WKY w przebiegu doświadczenia.



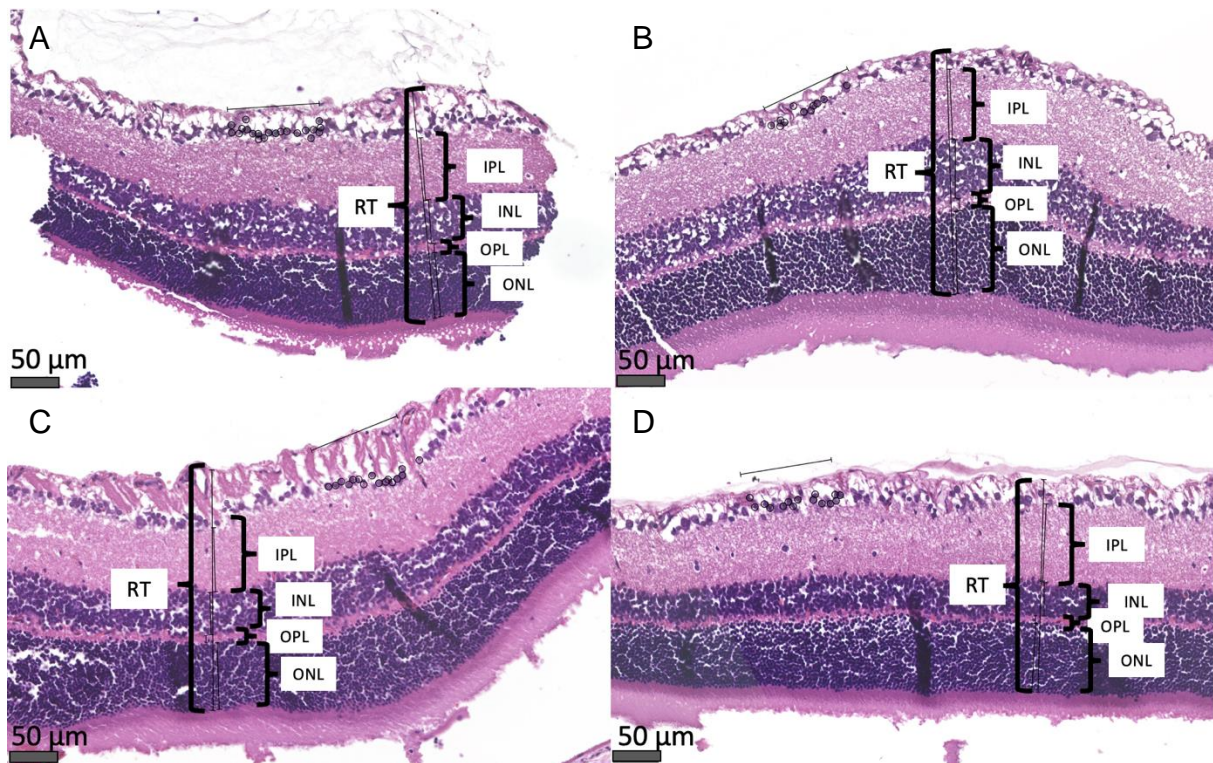
Rycina 24. Wartości ciśnienia śródgłowego (IOP) u szczurów szczepów SHR i WKY w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$



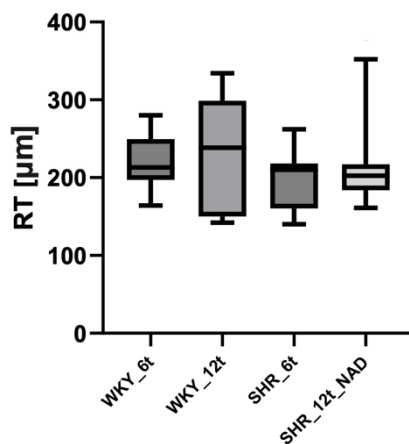
## 4.2.2. Analiza histopatologiczna

### 4.2.2.1. Grubość siatkówki

Na przekrojach przez siatkówkę szczurów mierzona była jej grubość (*Rycina 25*). Podczas analizy danych nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic między badanymi grupami zwierząt (*Rycina 26*).



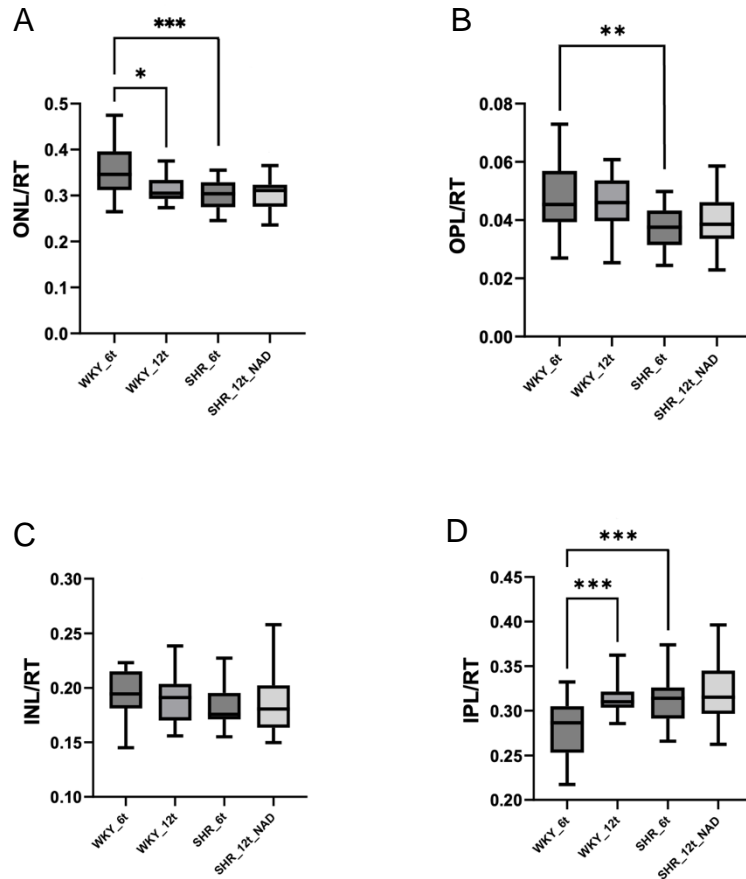
*Rycina 25. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka (A) 6-tygodniowego szczura szczepu WKY; (B) 12-tygodniowego szczura szczepu WKY; (C) 6-tygodniowego szczura szczepu SHR; (D) 12-tygodniowego szczura szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym. Barwienie hematoksylina + eozyna. RT – grubość siatkówki; ONL – warstwa jądrzasta zewnętrzna; OPL – warstwa spłotowata zewnętrzna; INL – warstwa jądrzasta wewnętrzna; IPL – warstwa spłotowata wewnętrzna. Powiększenie mikroskopowe 200x.*



Rycina 26. Grubość siatkówki (RT) u szczurów szczepów SHR i WKY. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyli oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.2.2.2. Grubość poszczególnych warstw siatkówki

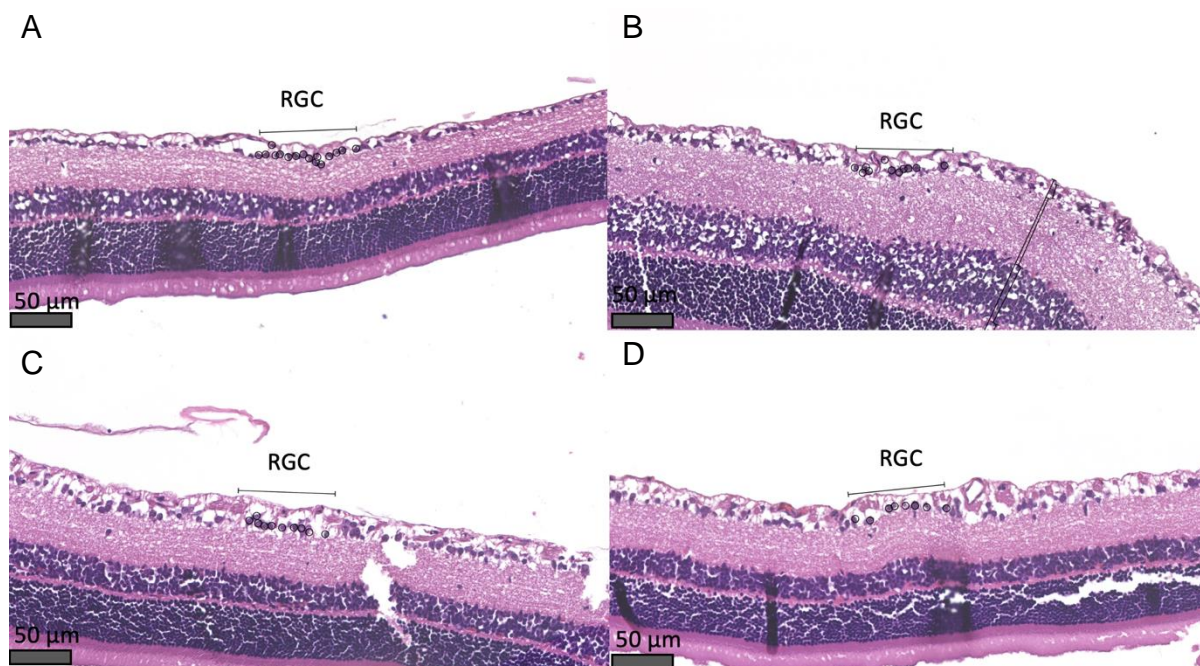
W analizie histopatologicznej przekrojów siatkówki mierzone były grubości poszczególnych warstw siatkówki w odniesieniu do RT (współczynniki: ONL/RT, OPL/RT, INL/RT, IPL/RT). Wyniki zwierząt z nadciśnieniem tętniczym (SHR\_12t\_NAD) nie różniły się od grup kontrolnych (SHR\_6t i WKY\_12t). Różnice obserwowane w analizie warstw dotyczyły przede wszystkim grupy młodych, nierozwijających nadciśnienia tętniczego szczurów szczepu WKY (grupa WKY\_6t), których warstwa ONL była grubsza, a warstwa IPL cieńsza, niż u szczurów z grup WKY\_12t i SHR\_6t. Dodatkowo, młode szczury szczepu WKY (WKY\_6t) miały grubszą warstwę OPL, niż odpowiadające im wiekiem szczury szczepu podatnego na rozwój nadciśnienia tętniczego (SHR\_6t) (Rycina 27).



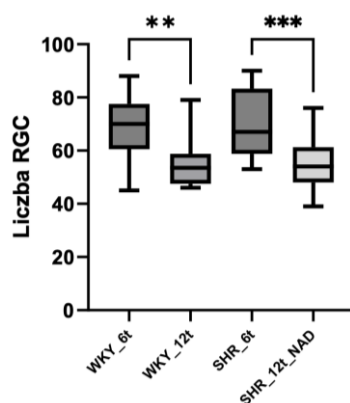
Rycina 27. Grubość (A) warstwy jądrazastej zewnętrznej; (B) warstwy spłotowatej zewnętrznej; (C) warstwy jądrazastej wewnętrznej; (D) warstwy jądrazastej wewnętrznej siatkówki u szczurów szczepów SHR i WKY. ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.2.2.3. Liczba komórek zwojowych siatkówki

Przekroje przez siatkówkę szczurów szczepów SHR i WKY obrazujące różnice w ilości komórek zwojowych siatkówki przedstawia Rycina 28. Istotne różnice w liczbie komórek zwojowych siatkówki widoczne były jedynie pomiędzy grupami zwierząt 6-tygodniowych i 12-tygodniowych wewnątrz danego szczepu, lecz nie były obserwowane w porównaniach między WKY, a SHR: WKY\_6t vs WKY\_12t: 70 (IQR: 60,5 – 77,5) vs 53,5 (IQR: 47,5 – 58,75),  $p = 0,005$ ; SHR\_6t vs SHR\_12t\_NAD: 67 (IQR: 58,75 – 83,25) vs 54 (IQR: 48 – 61,25),  $p < 0,001$  (Rycina 29).



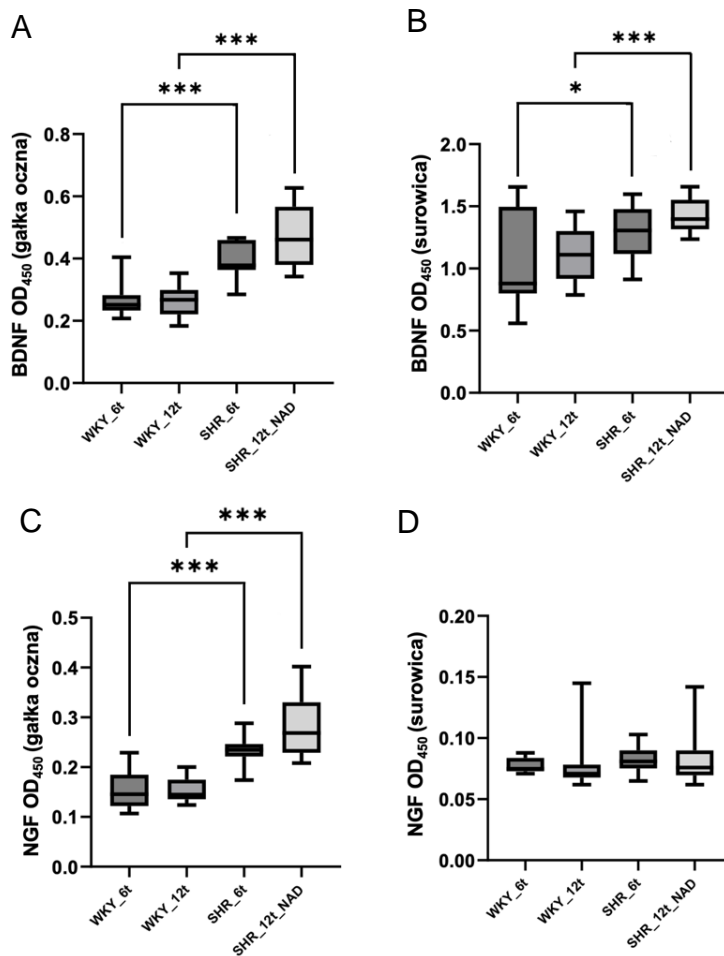
Rycina 28. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka przedstawiający komórki zwojowe siatkówki (RGC): (A) 6-tygodniowego szczura szczepu WKY; (B) 12-tygodniowego szczura szczepu WKY; (C) 6-tygodniowego szczura szczepu SHR; (D) 12-tygodniowego szczura szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym. Barwienie hematoksylina + eozyna. Okręgami zaznaczono komórki zwojowe siatkówki. Powiększenie mikroskopowe 200x.



Rycina 29. Liczba komórek zwojowych siatkówki (RGC) u szczurów szczepów SHR i WKY. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

### 4.2.3. Analiza immunoenzymatyczna

U szczurów szczepu podatnego na rozwój nadciśnienia tętniczego (grupy SHR\_6t i SHR\_12t\_NAD) zaobserwowano wyższy poziom białek neuroprotektynowych, niż u zwierząt kontrolnych ze szczepu WKY (odpowiednio WKY\_6t i WKY\_12t). U szczurów szczepu SHR poziom BDNF był wyższy zarówno w gałce ocznej (SHR\_6t vs WKY\_6t: 0,3785 [IQR: 0,3638 – 0,4595] vs 0,252 [IQR: 0,2333 – 0,282],  $p < 0,001$ ; SHR\_12t\_NAD vs WKY\_12t: 0,461 [IQR: 0,3795 – 0,5665] vs 0,2675 [IQR: 0,221 – 0,2993],  $p < 0,001$ ), jak i surowicy (SHR\_6t vs WKY\_6t:  $1,297 \pm 0,215$  vs  $1,047 \pm 0,378$ ,  $p = 0,016$ ; SHR\_12t\_NAD vs WKY\_12t:  $1,423 \pm 0,1279$  vs  $1,11 \pm 0,214$ ,  $p < 0,001$ ). Poziom NGF u szczurów szczepu SHR był wyższy w gałce ocznej niż u szczurów szczepu WKY (SHR\_6t vs WKY\_6t: 0,235 [IQR: 0,2213 – 0,2465] vs 0,1455 [IQR: 0,122 – 0,1848],  $p < 0,001$ ; SHR\_12t\_NAD vs WKY\_12t: 0,2685 [IQR: 0,229 – 0,3303] vs 0,145 [IQR: 0,1355 – 0,175],  $p < 0,001$ ), lecz nie zaobserwowano różnic jego poziomu w surowicy (*Rycina 30*).

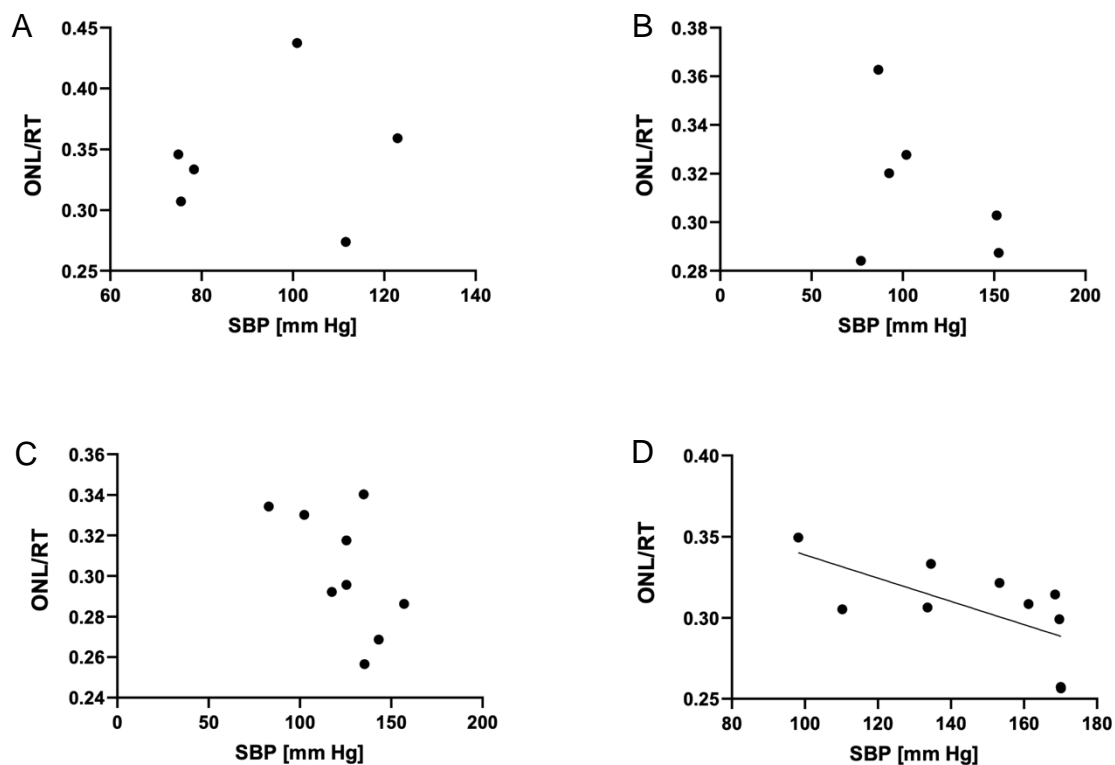


Rycina 30. Poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w (A) gałce ocznej i (B) surowicy; poziom czynnika wzrostu nerwów (NGF) w (C) gałce ocznej i (D) surowicy u szczurów szczepów SHR i WKY. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.2.4. Wyniki korelacji otrzymanych wyników

##### 4.2.4.1. Korelacja wartości SBP i ONL/RT

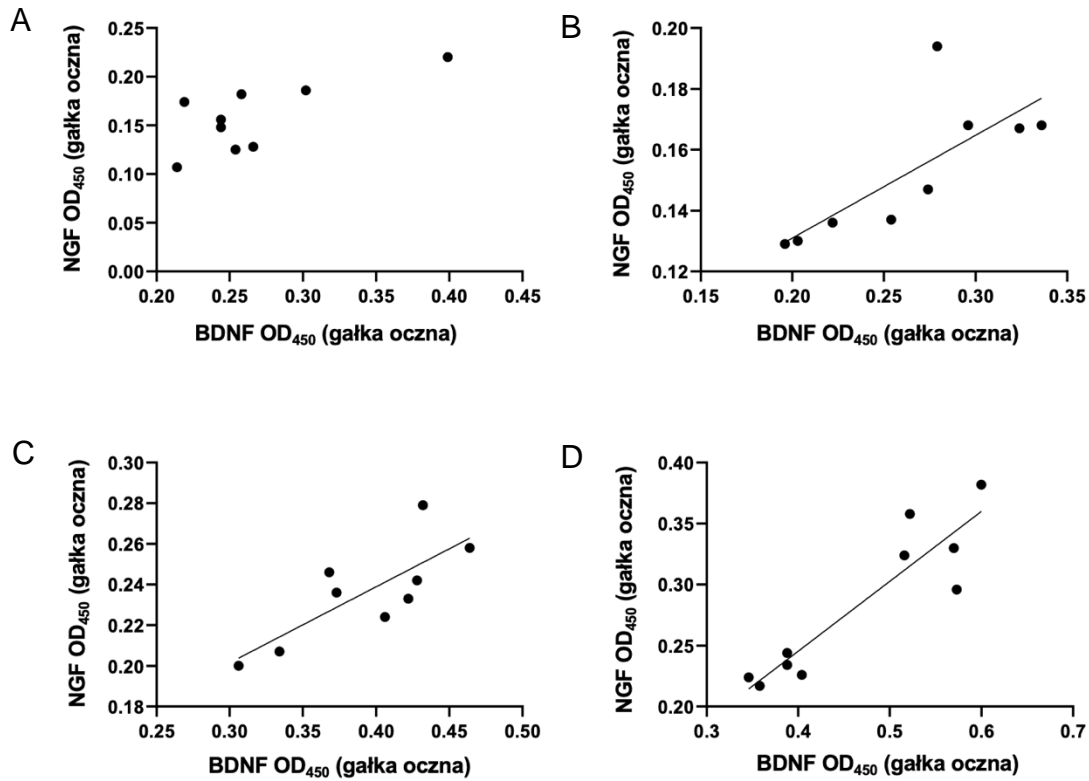
U szczurów z nadciśnieniem tętniczym (grupa SHR\_12t\_NAD) wykazano silnie ujemną korelację pomiędzy wartością SBP, a grubością warstwy jądrazastej zewnętrznej siatkówki (przedstawioną jako wartość wskaźnika ONL/RT). Wyższymi wartościami SBP towarzyszyły niskie wartości ONL/RT ( $r = -0,6463$ ; 95%CI =  $-0,9069 - -0,0281$ ;  $R^2 = 0,4177$ ;  $p = 0,044$ ). Korelacji takiej nie zaobserwowano u żadnej z trzech grup kontrolnych szczurów (grupy SHR\_6t, WKY\_6t i WKY\_12t) (Rycina 31).



Rycina 31. Korelacja między wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP) i udziałem warstwy jądrazastej zewnętrznej w strukturze siatkówki (ONL/RT) u (A) 6-tygodniowych szczurów WKY; (B) 12-tygodniowych szczurów WKY; (C) 6-tygodniowych szczurów SHR; (D) 12-tygodniowych szczurów SHR z nadciśnieniem tętniczym.

#### 4.2.4.2. Korelacja poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej

Zarówno u szczurów ze szczepu podatnego na rozwój nadciśnienia tętniczego (SHR\_6t i SHR\_12t\_NAD), jak i u 12-tygodniowych szczurów normotensyjnych (WKY\_12t) wykazano bardzo silne korelacje między poziomami BDNF i NGF w gałce ocznej. Im więcej BDNF, tym obserwowano wyższy poziom NGF. Korelacji takiej nie zaobserwowano w grupie młodych szczurów normotensyjnych (WKY\_6t) (Rycina 32). Nie zaobserwowano korelacji poziomów BDNF i NGF w surowicy szczurów w żadnej z grup (Tabele 10-13).

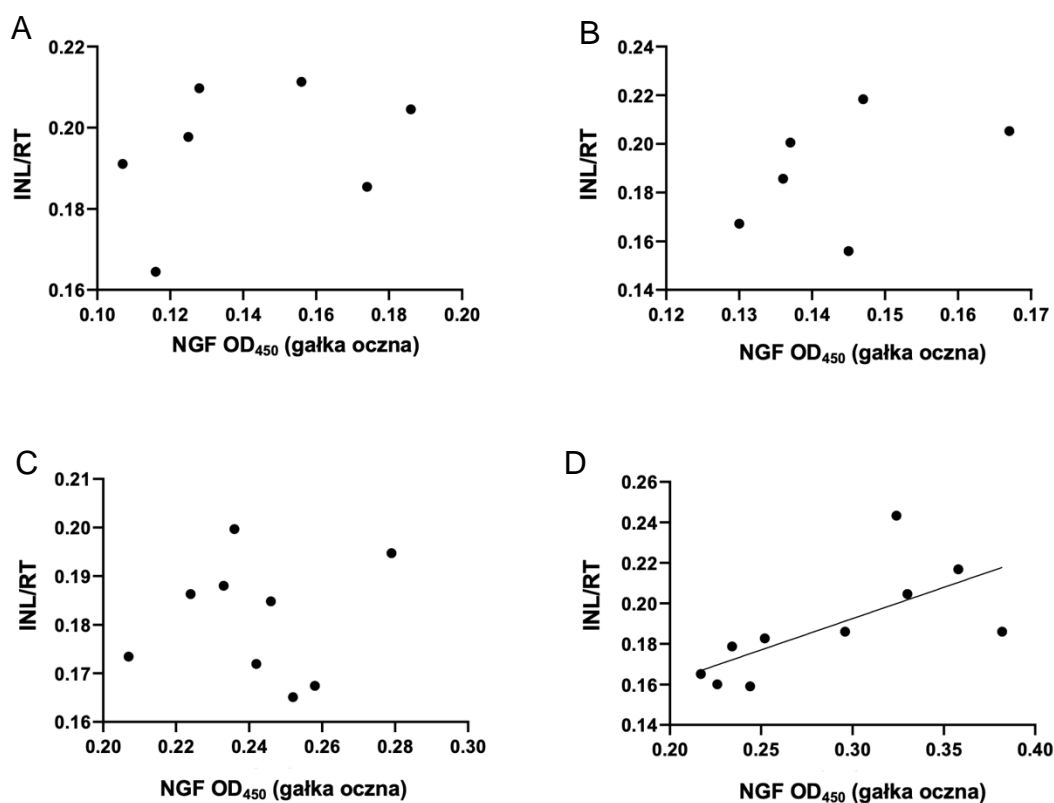


Rycina 32. Korelacja między poziomem neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) i czynnika wzrostu nerwów (NGF) w gałce ocznej u (A) 6-tygodniowych szczurów WKY; (B) 12-tygodniowych szczurów WKY; (C) 6-tygodniowych szczurów SHR; (D) 12-tygodniowych szczurów SHR z nadciśnieniem tętniczym. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm.

#### 4.2.4.3. Korelacja poziomu NGF w gałce ocznej i INL/RT

U 12-tygodniowych szczurów szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym (grupa SHR\_12t\_NAD) poziom NGF w gałce ocznej korelował z grubością warstwy jądrazastej wewnętrznej siatkówki (przedstawioną jako wartość wskaźnika INL/RT). Wyższym poziomom NGF odpowiadała grubsza warstwa INL ( $r = 0,6868$ ;  $95\%CI = 0,1008 - 0,9190$ ;  $R^2 = 0,4717$ ;  $p = 0,028$ ). Podobnej korelacji nie zaobserwowano u szczurów normotensyjnych z pozostałych grup (Rycina 33).





Rycina 33. Korelacja między poziomem czynnika wzrostu nerwów (NGF) w gałce ocznej i udziałem warstwy jądrowej wewnętrznej w strukturze siatkówki (INL/RT) u (A) 6-tygodniowych szczurów WKY; (B) 12-tygodniowych szczurów WKY; (C) 6-tygodniowych szczurów SHR; (D) 12-tygodniowych szczurów SHR z nadciśnieniem tętniczym. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm.

#### 4.2.4.4. Pozostałe korelacje

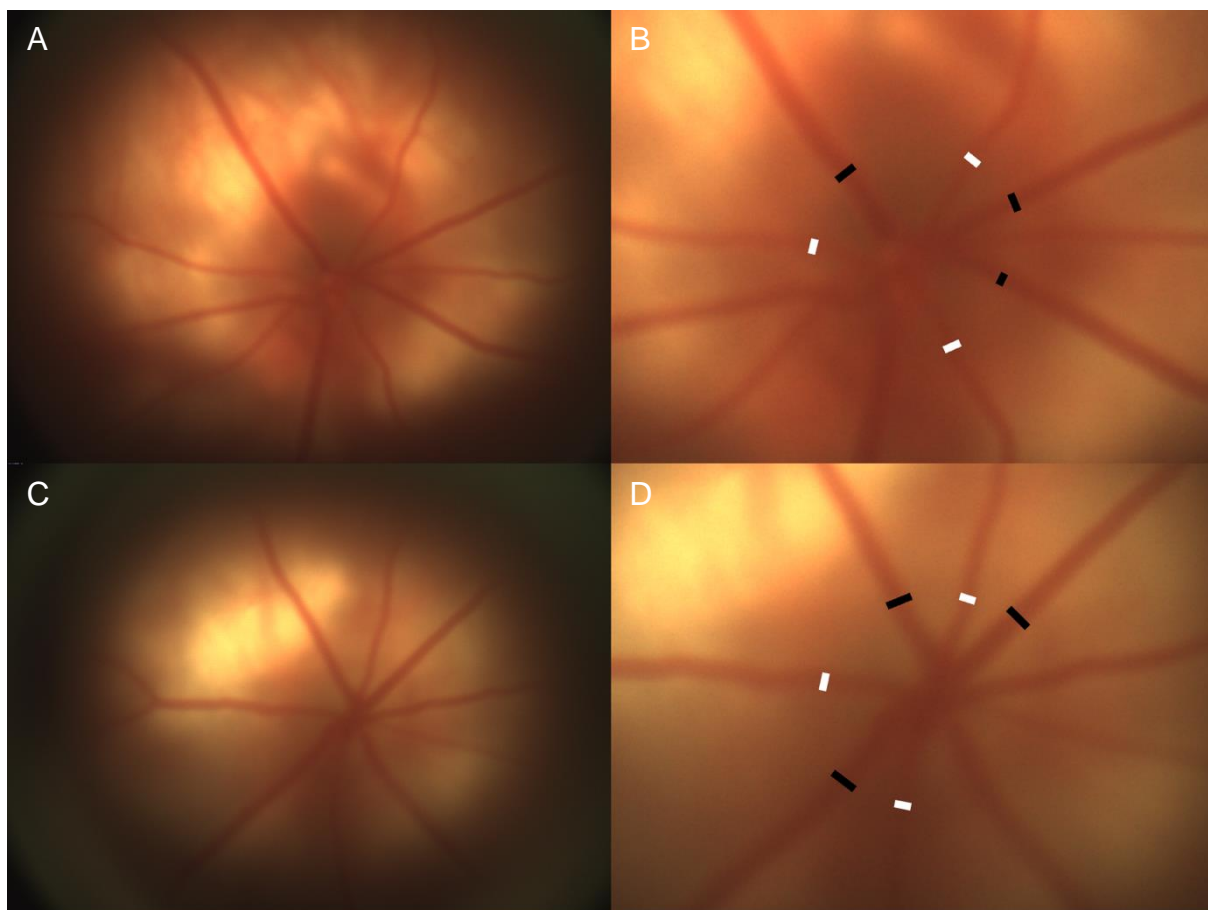
Wyniki pozostałych korelacji parametrów oznaczanych u zwierząt zostały przedstawione w tabelach w załączniku do doktoratu (Tabele 10-13).

### 4.3. Model cukrzycy

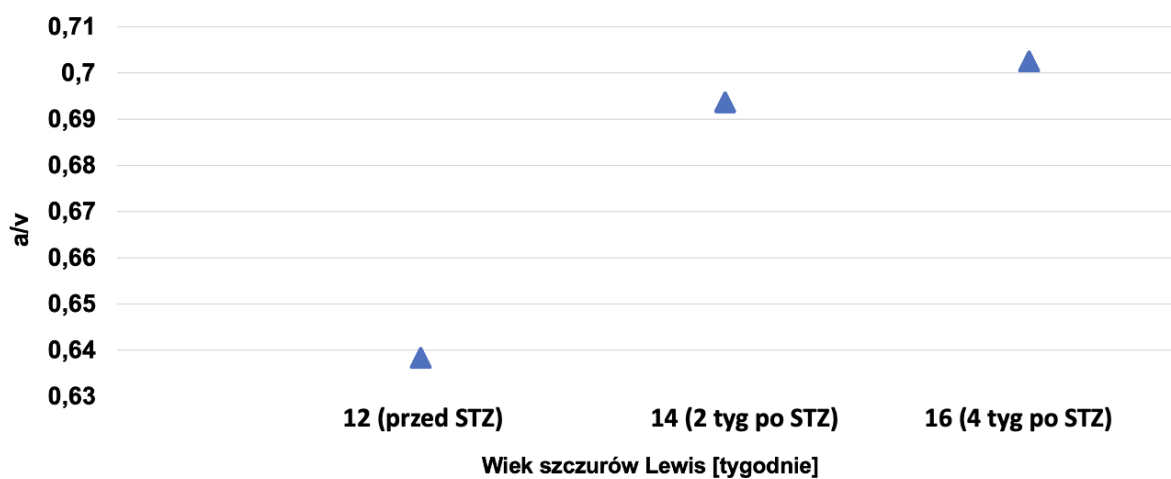
#### 4.3.1. Badania przyżyciowe

##### 4.3.1.1. Stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka

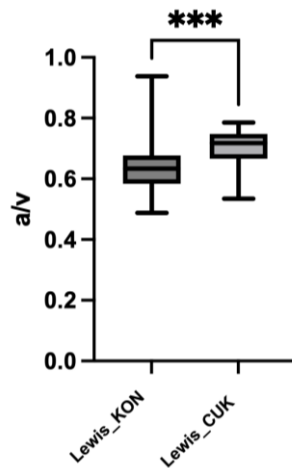
Różnicę w obrazie dna oka oraz sposób pomiaru średnicy tętnic i żył przedstawia Rycina 34. Wyniki pomiarów a/v wykonywanych w odstępach dwutygodniowych prezentuje Rycina 35. Porównując dwie grupy zwierząt, wartość współczynnika a/v u szczurów z cukrzycą była istotnie wyższa niż u szczurów z grupy kontrolnej (a/v: 0,7182 [IQR: 0,6665 – 0,7482] vs 0,6337 [IQR: 0,584 – 0,677],  $p < 0,001$ ) (Rycina 36).



Rycina 34. Przykładowe zdjęcia dna oka ze zbliżeniem na tarczę nerwu wzrokowego: (A, B) 12-tygodniowego szczura szczepu Lewis; (C, D) 16-tygodniowego szczura szczepu Lewis z cukrzycą. Białe odcinki obrazują sposób pomiaru średnicy tętnic siatkówki, czarne odcinki obrazują sposób pomiaru żył siatkówki.



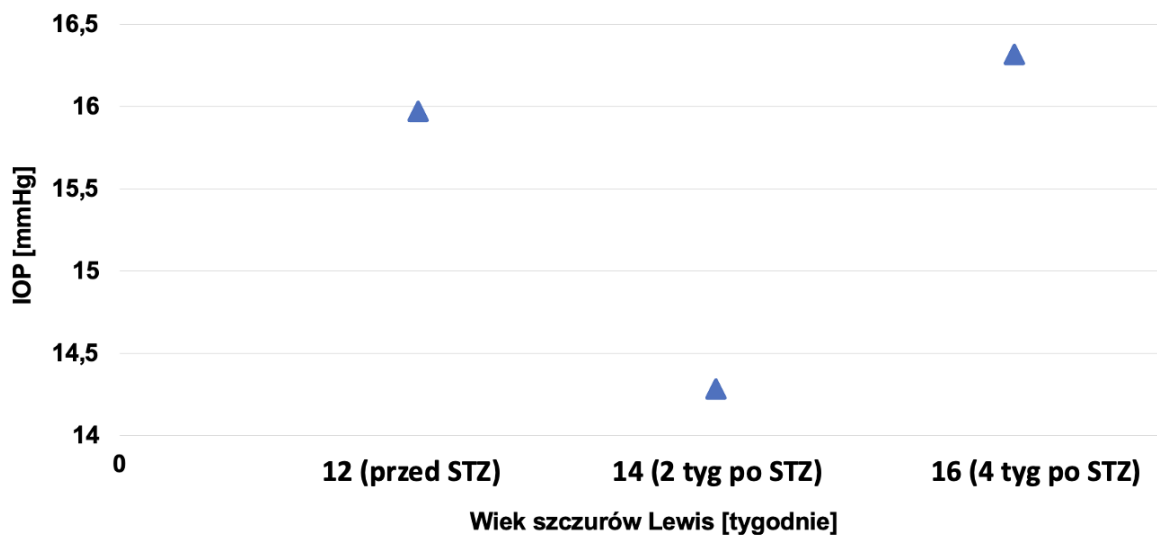
Rycina 35. Średnie wartości stosunku średnicy tętnic do średnicy żył (a/v) u szczurów szczepu Lewis w przebiegu doświadczenia. STZ – streptozotocyna



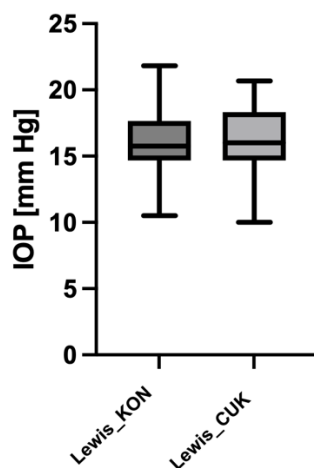
Rycina 36. Stosunek średnicy tętnic do średnicy żył ( $a/v$ ) u szczurów szczepu Lewis w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.3.1.2. Ciśnienie śródgalkowe

Wyniki pomiarów IOP wykonywanych co dwa tygodnie u szczurów przedstawia Rycina 37. Pomiędzy zwierzętami z grupy kontrolnej i doświadczalnej nie zaobserwowano różnic wartości IOP ( $p = 0,521$ ) (Rycina 38).



Rycina 37. Średnie wartości ciśnienia śródgalkowego (IOP) u szczurów szczepu Lewis w przebiegu doświadczenia. STZ – streptozotocyna

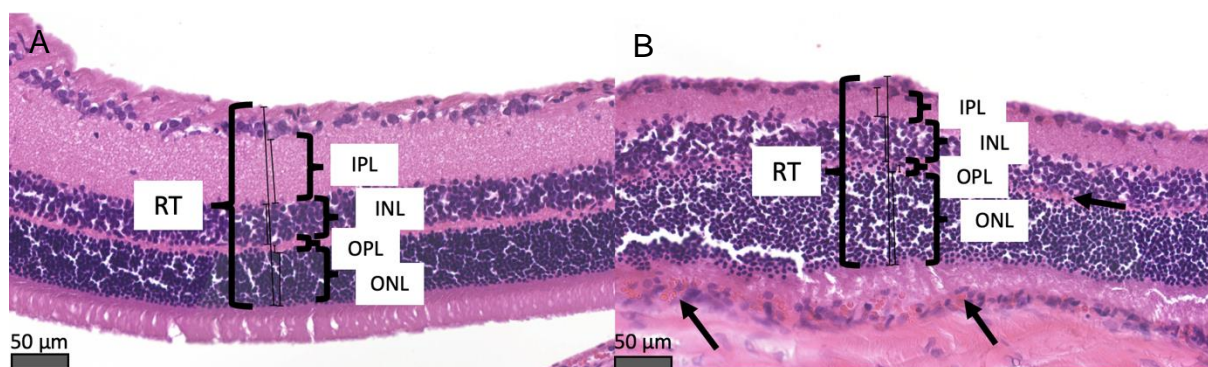


Rycina 38. Wartości ciśnienia śródgąłkowego (IOP) u szczurów szczepu Lewis w dniu uśmiercenia. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

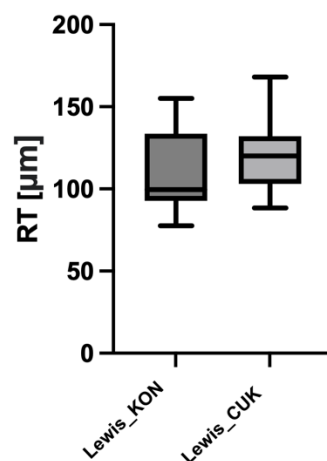
## 4.3.2. Analiza histopatologiczna

### 4.3.2.1. Grubość siatkówki

Zdjęcia preparatów histopatologicznych z przekrojem przez siatkówkę szczurów oraz sposobem pomiaru grubości siatkówki i jej warstw przedstawia Rycina 39. Między grupami zwierząt nie zaobserwowano istotnych różnic w wartości RT (Rycina 40).



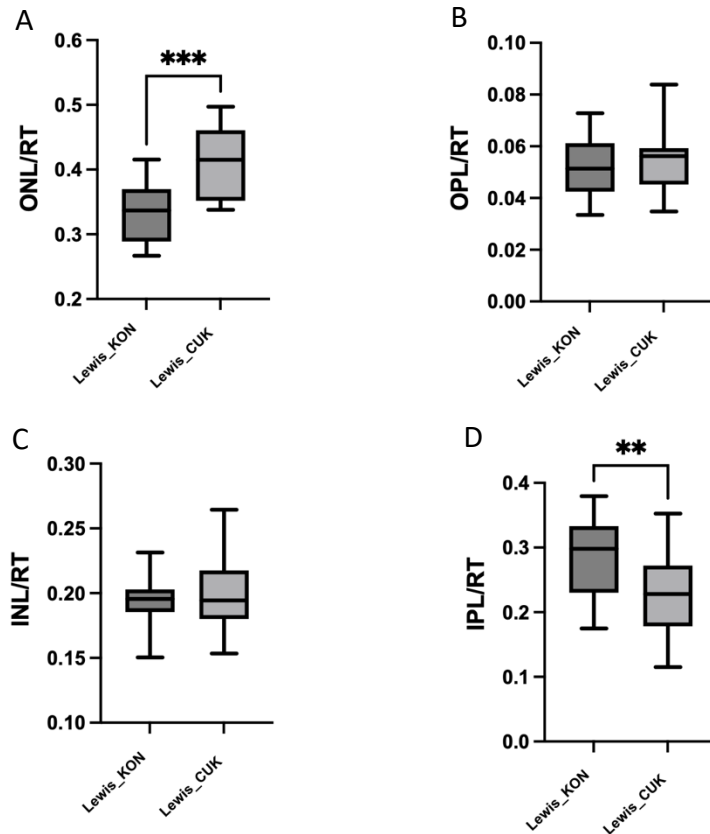
Rycina 39. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka (A) 12-tygodniowego szczura szczepu Lewis; (B) 16-tygodniowego szczura szczepu Lewis z cukrzycą. W siatkówce szczura z cukrzycą widoczne liczne erytrocyty (zaznaczone strzałkami). Barwienie hematoksylina + eozyna. RT – grubość siatkówki; ONL – warstwa jądrazista zewnętrzna; OPL – warstwa splotowata zewnętrzna; INL – warstwa jądrazista wewnętrzna; IPL – warstwa splotowata wewnętrzna. Powiększenie mikroskopowe 200x.



Rycina 40. Grubość siatkówki (RT) u szczurów szczepu Lewis. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.3.2.2. Grubość poszczególnych warstw siatkówki

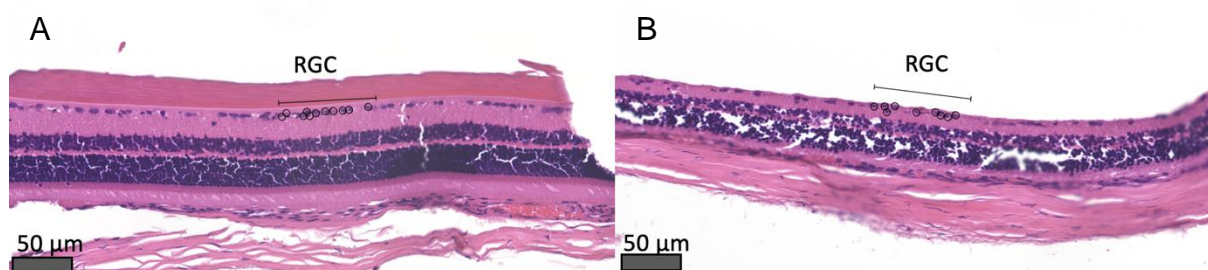
U szczurów z cukrzycą (Lewis\_CUK) udział warstwy jądrzastej zewnętrznej w strukturze siatkówki był istotnie większy niż u szczurów z grupy kontrolnej (Lewis\_KON) (ONL/RT: 0,4152 [IQR: 0,3519 – 0,4908] vs 0,3367 [IQR: 0,2887 – 0,3698],  $p < 0,001$ ), a udział warstwy spłotowatej wewnętrznej – istotnie mniejszy (IPL/RT: 0,228 [IQR: 0,1782 – 0,2721] vs 0,2983 [IQR: 0,23 – 0,333],  $p = 0,003$ ). Nie zaobserwowano różnic grubości warstw spłotowatej zewnętrznej i jądrzastej wewnętrznej między grupami (Rycina 41).



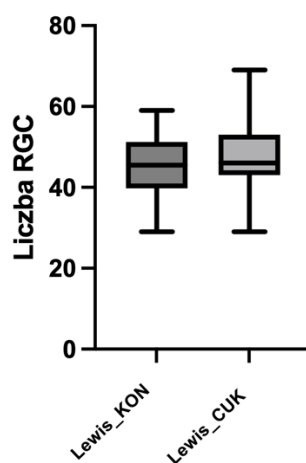
Rycina 41. Grubość (A) warstwy jądrzastej zewnętrznej; (B) warstwy spłotowatej zewnętrznej; (C) warstwy jądrzastej wewnętrznej; (D) warstwy jądrzastej wewnętrznej siatkówki u szczurów szczepu Lewis. ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrzastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrzastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.3.2.3. Liczba komórek zwojowych siatkówki

Przekroje przez siatkówkę oka u szczurów szczepu Lewis obrazujące różnice w ilości komórek zwojowych siatkówki przedstawia Rycina 42. Pomędzy grupami szczurów nie zaobserwowano różnic w liczbie RGC (Rycina 43).



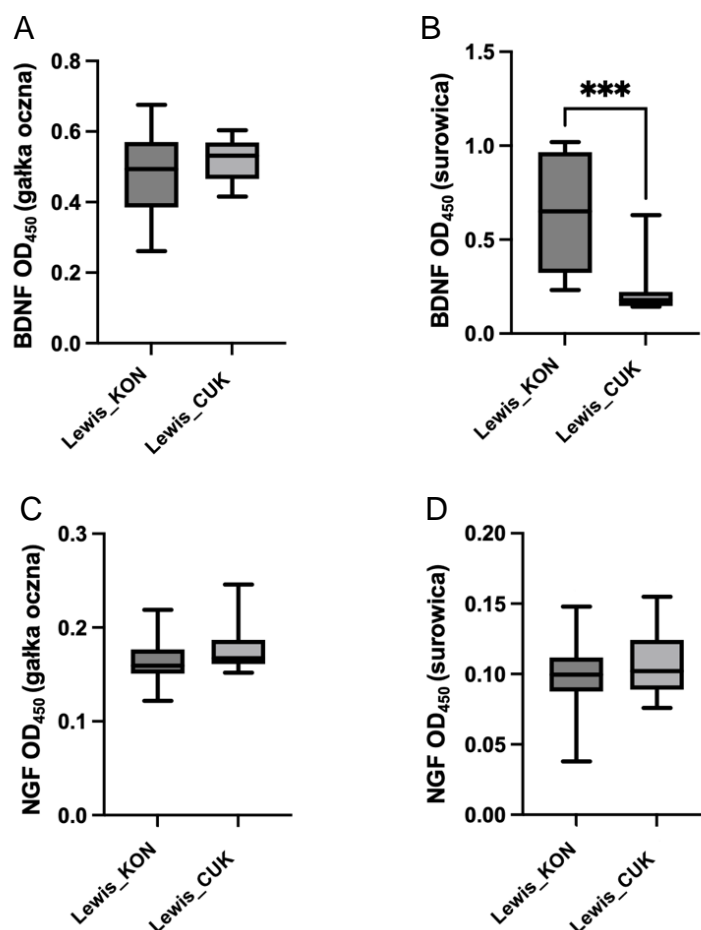
Rycina 42. Przykładowy przekrój poprzeczny przez siatkówkę oka przedstawiający komórki zwojowe siatkówki (RGC): (A) 12-tygodniowego szczura szczepu Lewis; (B) 16-tygodniowego szczura szczepu Lewis z cukrzycą. Barwienie hematoksylina + eozyna. Okręgami zaznaczono komórki zwojowe siatkówki. Powiększenie mikroskopowe 200x.



Rycina 43. Liczba komórek zwojowych siatkówki (RGC) u szczurów szczepu Lewis. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyła oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

### 4.3.3. Analiza immunoenzymatyczna

U szczurów z cukrzycą (Lewis\_CUK) poziom BDNF w surowicy był istotnie niższy niż w grupie kontrolnej (OD<sub>450</sub>: 0,1785 [IQR: 0,1468 – 0,2223] vs 0,65 [0,323 – 0,965],  $p < 0,001$ ). Nie zaobserwowano statystycznych różnic między grupami przy porównaniu poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej, ani poziomu NGF w surowicy (Rycina 44).



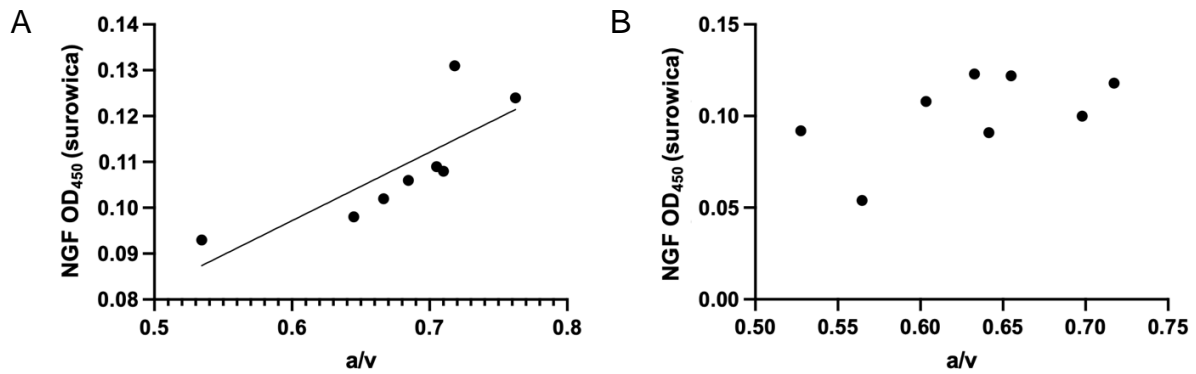
Rycina 44. Poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w (A) gałce ocznej i (B) surowicy; poziom czynnika wzrostu nerwów (NGF) w (C) gałce ocznej i (D) surowicy u szczurów szczepu Lewis. OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm. Wykres pudełkowy przedstawia medianę (linia pozioma), pudełko obejmuje wartości od pierwszego do trzeciego kwartyla oraz wąsy od kwartyli do wartości minimalnej i maksymalnej. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

#### 4.3.4. Wyniki korelacji otrzymanych wyników

##### 4.3.4.1. Korelacja współczynnika a/v i poziomu NGF w surowicy

U szczurów z cukrzycą (grupa Lewis\_CUK) wystąpiła bardzo silna korelacja między wartością a/v, a poziomem NGF w surowicy – im wyższa wartość a/v, tym wyższy poziom białka obecnego we krwi ( $r = 0,7946$ ; 95%CI = 0,2043 – 0,9611;  $R^2 = 0,6314$ ;  $p = 0,019$ ). Korelacja taka nie była obserwowana u szczurów z grupy kontrolnej ( $r = 0,5581$ ;  $p = 0,151$ ) (Rycina 45).

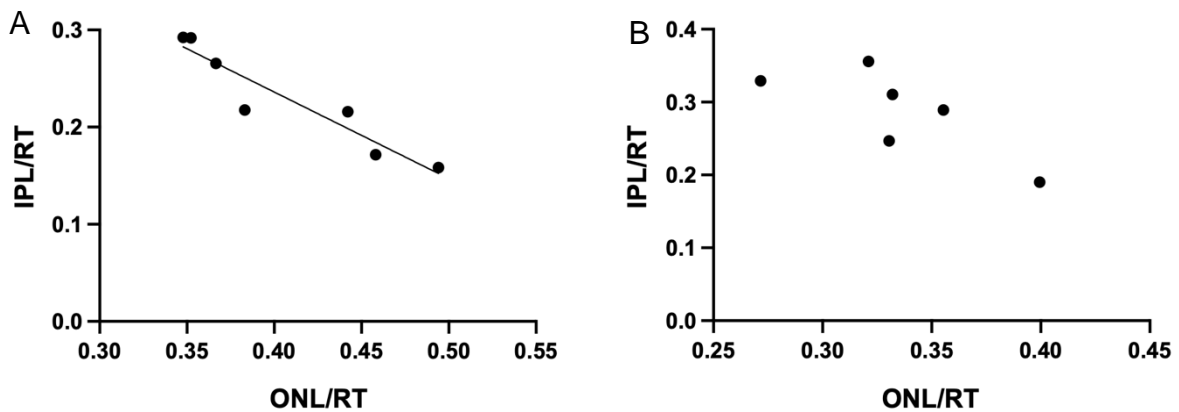




Rycina 45. Korelacja między wartością stosunku średnicy tętnic do żył ( $a/v$ ) i poziomem czynnika wzrostu nerwów (NGF) w surowicy u (A) 12-tygodniowych szczurów Lewis; (B) 16-tygodniowych szczurów szczepu Lewis z cukrzycą.  $OD_{450}$  – gęstość optyczna mierzona przy długości fal 450 nm

#### 4.3.4.2. Korelacja ONL/RT i IPL/RT

U szczurów z cukrzycą zaobserwowano bardzo silną korelację między warstwami jądrazstą zewnętrzną (najbardziej zewnętrzną z ocenianych warstw) oraz spłotowatą wewnętrzną (najbardziej wewnętrzną z ocenianych warstw). Im grubsza ONL, tym cieńsza IPL, a blisko 90% wartości IPL mogło być wytłumaczone przez daną wartość ONL ( $r = -0,9458$ ; 95% CI =  $-0,9922 - -0,6698$ ;  $R^2 = 0,8945$ ;  $p = 0,001$ ). Podobna zależność nie została zaobserwowana u szczurów z grupy kontrolnej ( $r = -0,7704$ ;  $p = 0,073$ ) (Rycina 46).



Rycina 46. Korelacja między udziałem warstwy jądrazstej zewnętrznej ( $ONL/RT$ ) i udziałem warstwy spłotowatej wewnętrznej w strukturze siatkówki ( $IPL/RT$ ) u (A) 12-tygodniowych szczurów Lewis; (B) 16-tygodniowych szczurów szczepu Lewis z cukrzycą.

#### **4.3.4.3. Pozostałe korelacje**

Wyniki korelacji pozostałych parametrów oznaczanych u zwierząt zostały przedstawione w tabelach w załączniku do doktoratu (*Tabele 15-16*).

## 5. Dyskusja

Leczenie chorób neurodegeneracyjnych stanowi wyzwanie dla medycyny XXI wieku, gdyż uszkodzenie tkanki nerwowej jest na dziś procesem nieodwracalnym. Choroby neurodegeneracyjne trwale upośledzają jakość życia pacjentów, prowadząc do niepełnosprawności. Zastosowanie czynników neuroprotektynowych w terapii chorób przebiegających z uszkodzeniem komórek nerwowych to potencjalna szansa na opracowanie nowych, efektywnych strategii diagnostycznych i leczniczych. W niniejszej pracy doktorskiej badana była rola BDNF i NGF w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych siatkówki. Wyniki uzyskane w pracy doktorskiej wskazują na potencjalny udział BDNF i NGF w patogenezie badanych chorób oczu.

### 5.1. Model jaskry

#### 5.1.1. Rozpoznanie jaskry na podstawie wzrostu ciśnienia śródgąłkowego i zmniejszenia ilości komórek zwojowych siatkówki

U myszy z jaskrą (10-miesięczne DBA/2) zaobserwowano znaczny wzrost IOP w porównaniu z myszami zdrowymi (11-tygodniowymi myszami tego samego szczepu oraz 10-miesięcznymi myszami ze szczepu nierozwijającego jaskry) (*Rycina 11*). IOP jest głównym czynnikiem ryzyka rozwinięcia choroby (189), stąd wiele modeli zwierzęcych jaskry opiera się na tym założeniu. U myszy szczepu DBA/2 dochodzi do genetycznie uwarunkowanego, wadliwego rozwoju tęczówki. Rozproszone cząstki barwnika uwalniane z tęczówki zamykają drogę odpływu cieczy wodnistej z przedniej komory oka. Dodatkowo dochodzi do wytworzenia się zrostów w obrębie przedniego odcinka gałki ocznej. Te dwa procesy powodują wzrost IOP, którego konsekwencją jest uszkodzenie komórek nerwowych siatkówki (159). Jako uśredniony czas rozwoju jaskry u myszy szczepu DBA/2 przyjmuje się 7-9 miesiąc życia (155, 158, 159, 160), co potwierdziły również wyniki przedstawione w niniejszej pracy doktorskiej. Na podstawie regularnych pomiarów IOP, znaczny wzrost wartości obserwowano od 30. tygodnia (7. miesiąca) życia (*Rycina 10*).

W pracy doktorskiej dowiodłam, że poza wzrostem IOP u myszy doszło również do zmniejszenia liczby komórek zwojowych siatkówki, których wypustki tworzą nerw wzrokowy. Liczba RGC liczonych zarówno w centralnej, jak i obwodowej części siatkówki, była istotnie obniżona u myszy z grupy doświadczalnej w porównaniu ze zwierzętami z grup kontrolnych (*Rycina 16*). Świadczy to o uszkodzeniu nerwu wzrokowego, co zgodnie z definicją

zaproponowaną przez Amerykańską Akademię Okulistyki w 2016 r. umożliwia postawienie rozpoznania jaskry jako neuropatii nerwu wzrokowego (33). Jaskrę na podstawie podwyższonego IOP i zmniejszonej ilości ciał lub aksonów RGC u myszy szczepu DBA/2 rozpoznawali również Grillo i wsp. oraz Inman i wsp. (49, 177).

Utrata komórek zwojowych siatkówki w przebiegu jaskry to złożony proces, zachodzący różnicowo w poszczególnych częściach siatkówki. Początkowo zanik komórek jest obserwowany w obwodowej części siatkówki, a następnie pojawia się w rejonach coraz bliżej tarczy nerwu wzrokowego (190). Śmierć komórki zwojowej poprzedzona jest uszkodzeniem i dysfunkcją jej poszczególnych struktur, poczynając od aksonu (191). Zmienione jest również funkcjonowanie dendrytów i działanie synaps łączących RGC z komórkami dwubiegunowymi i amakrynowymi w obrębie IPL. Przyczyną wadliwego funkcjonowania synaps może być nieprawidłowy transport wewnątrzkomórkowy substancji poprzez uszkodzony akson komórki (192, 193). Dodatkowo, uszkodzone aksony RGC nie transportują prawidłowo czynników neurotroficznycych z mózgu do siatkówki (194). Zmniejszone ilości białek neuroprotektoryjnych docierających do ciała komórki przyczyniają się do zainicjowania procesów apoptozy, co objawia się początkowo zmniejszeniem wielkości komórki, a następnie jej zanikiem (195, 196). Zrozumienie procesu uszkodzenia i śmierci RGC w przebiegu jaskry jest istotne ze względu na ocenę skuteczności leczenia pacjentów. Leczenie podjęte na etapie, w którym nie doszło do apoptozy RGC, może potencjalnie umożliwić komórce regenerację, a nawet odtworzenie uszkodzonego aksonu. Jeśli natomiast doszło do śmierci komórki, to proces ten jest nieodwracalny. Substancjami wspomagającymi odtworzenie prawidłowej struktury uszkodzonej RGC są czynniki neuroprotektoryjne (195). Białka te są wydzielane endogennie w odpowiedzi na uszkodzenie w obrębie siatkówki, między innymi przez komórki glejowe Müllera (195), bądź podawane egzogennie w eksperymentalnych terapiach jaskry (110).

### **5.1.2. Procesy neurodegeneracyjne siatkówki w przebiegu jaskry**

W pracy doktorskiej, poza zmniejszeniem liczby RGC, u myszy z jaskrą zaobserwowano atrofię siatkówki (znaczny spadek grubości RT) (*Rycina 13*). U myszy z jaskrą również doszło do spadku udziału warstwy OPL w budowie siatkówki, choć różnica ta obserwowana była jedynie w porównaniu 10-miesięcznych myszy szczepu DBA/2 do 11-tygodniowych myszy DBA/2, ale nie do 10-miesięcznych myszy szczepu C57Bl/6. Opisywana zmiana patologiczna prawdopodobnie doprowadziła do rozwoju jaskry (*Rycina 14*). U myszy z jaskrą doszło także do zmiany grubości najbardziej wewnętrznych warstw siatkówki: zmniejszenia grubości INL

i zwiększenia grubości IPL, liczonych w stosunku do grubości całej siatkówki (*Rycina 14*). Zmiana grubości warstw INL i IPL wydaje się być jednak związana z procesem starzenia oka, gdyż zaobserwowana była u wszystkich myszy 10-miesięcznych (zarówno myszy szczepu DBA/2 z jaskrą, jak i kontrolnych C57Bl/6).

Znaczny spadek grubości siatkówki jednoznacznie wskazuje na zaangażowanie procesów neurodegeneracyjnych w patogenezę jaskry. Atrofia siatkówki nie zachodzi jednak symetrycznie we wszystkich warstwach. Komórkami, których apoptoza stanowi podstawę zaburzeń wzroku u pacjentów z jaskrą są RGC, których ciała tworzą warstwę GCL (197). Komórki te są jednak najdłuższymi komórkami drogi wzrokowej i ich fragmenty budują kilka warstw siatkówki. Dendryty RGC zlokalizowane są w IPL, gdzie łączą się synapsami z komórkami dwubiegunowymi i amakrynowymi, których ciała zlokalizowane są w INL. Aksony RGC tworzą warstwę włókien nerwowych RNFL. W związku z tym, ocena warstw sąsiadujących z GCL stanowi element badań nad procesami neurodegeneracyjnymi siatkówki w przebiegu jaskry (198). Podobnie jak w niniejszej pracy doktorskiej, wyniki innych, przeprowadzonych dotychczas doświadczeń badających zmiany grubości i funkcjonowania poszczególnych warstw siatkówki były niejednoznaczne. Istnieją nieliczne badania przedkliniczne analizujące warstwy siatkówki u myszy szczepu DBA/2. Meah i wsp. oceniali funkcjonowanie komórek amakrynowych i dwubiegunowych (których ciała zlokalizowane są w INL, a aksony tworzą synapsy z RGC w IPL) w przebiegu jaskry u 13-16 miesięcznych myszy szczepu DBA/2. Do oceny komórek wykorzystali nową metodę mikroskopii Second Harmonic Generation, która umożliwia obrazowanie pojedynczych aksonów komórek siatkówki. W przebiegu jaskry nie zaobserwowali utraty aksonów komórek amakrynowych, ani dwubiegunowych w obrębie IPL (199). Nickells i wsp. w swojej pracy przeglądowej również zwrócili uwagę na wpływ jaskry na funkcjonowanie innych komórek siatkówki. Wykazali, że komórki amakrynowe przechodzą zmiany czynnościowe polegające na zmianie poziomu ekspresji neurotransmiterów, lecz nie dochodzi do zmniejszenia ich liczby w siatkówce. W komórkach fotoreceptorowych, a szczególnie czerwonych i zielonych czopkach, dochodzi natomiast do obrzęku ciała komórki (zlokalizowanego w ONL), obrzęku kolbek synaptycznych (zlokalizowanych w OPL) oraz zmniejszenia ekspresji genu jodopsyny (195).

Więcej danych dotyczących zmian w obrębie poszczególnych warstw siatkówki w przebiegu jaskry pochodzi z badań siatkówki ludzkiej przeprowadzonych z użyciem metody OCT. Choć badanie to znacznie różni się czułością i swoistością od histopatologicznego badania siatkówki

wybarwionej eozyną i hematoksyliną, obserwowanej przy użyciu mikroskopu świetlnego, to OCT umożliwia zobrazowanie siatkówki w przekroju poprzecznym z rozróżnieniem jej warstw *in vivo*. W badaniach OCT wykonanych u pacjentów z jaskrą wykazano, że w przebiegu choroby dochodzi do zmniejszenia grubości warstwy IPL, natomiast warstwy zewnętrzne (ONL, OPL) nie są uszkodzane w procesie chorobowym. Ocena zmiany grubości warstwy INL pozostaje dyskusyjna, gdyż część badaczy donosi o spadku jej grubości w przebiegu jaskry, a część temu zaprzecza (198, 200, 201).

### **5.1.3. Rola BDNF w patogenezie jaskry**

W pracy doktorskiej, u myszy zaobserwowano tendencję do wzrostu poziomu BDNF z wiekiem oraz tendencję do spadku w przebiegu jaskry (*Rycina 17*). Niższy poziom BDNF może wiązać się z uszkodzeniem siatkówki.

Niewiele badań przedklinicznych przedstawia analizę poziomu BDNF w surowicy bądź gałce ocznej w przebiegu jaskry u myszy szczepu DBA/2. Jedynie Jassim i wsp. stwierdzili, że u 12-miesięcznych myszy szczepu DBA/2 poziom BDNF w siatkówce był podwyższony (202). Wyniki uzyskane w doświadczeniu przedstawionym w niniejszej pracy doktorskiej sugerują natomiast, że jaskra u 10-miesięcznych myszy szczepu DBA/2 może być związana z obniżeniem poziomu BDNF, prawdopodobnie wynikającego z uszkodzenia komórek RGC odpowiedzialnych za jego wydzielanie. Poziom BDNF, jak wykazał Jassim i wsp., rósł w 12. miesiącu życia, co mogło być spowodowane wzmożoną odpowiedzią na zaawansowany proces neurodegeneracyjny.

U ludzi, zmiana poziomu BDNF przede wszystkim obserwowana była w przebiegu przewlekłej jaskry otwartego kąta POAG (203). Oddone i wsp. wykazali, że u pacjentów w przebiegu POAG poziom BDNF w surowicy był obniżony w pierwszych etapach choroby, przy czym najniższe poziomy białka były obserwowane we wczesnym stadium jaskry, a wyższe w umiarkowanym. W zaawansowanym stadium jaskry poziom BDNF nie różnił się od grupy kontrolnej (204). Analogiczne wyniki uzyskali Shpak i wsp., którzy wykazali, że w przebiegu POAG poziom BDNF w surowicy, cieczy wodnistej oraz płynie łzowym pacjentów był najniższy we wczesnym etapie choroby, a w kolejnych stadiach jaskry wzrastał (205). Harper i wsp. wykonali immunohistochemiczną ocenę poziomu BDNF w siatkówce zmarłych pacjentów (dawców narządów) o zróżnicowanym stopniu zaawansowania POAG wykazując brak różnic statystycznych w porównaniu do siatkówek pacjentów bez zdiagnozowanej jaskry

(206). Igarashi i wsp. zaobserwowali obniżony poziom BDNF w surowicy pacjentów we wczesnej fazie jaskry normalnego ciśnienia oraz POAG, przy czym pacjenci z jaskrą normalnego ciśnienia mieli niższe poziomy białka w surowicy, niż pacjenci z POAG. Poziom BDNF u pacjentów z bardziej zaawansowaną chorobą był wyższy. Oznaczono także poziom BDNF w cieczy wodnistej gałki ocznej, gdzie poziom białka był ekstremalnie niski, nieoznaczalny przy użyciu standardowych testów ELISA. Ultraczułe zestawy do oznaczenia białka metodą ELISA nie wykazały natomiast różnic w poziomie BDNF w cieczy wodnistej między pacjentami z jaskrą, a grupą kontrolną (207, 208). Poziom BDNF w przebiegu jaskry był zatem prawdopodobnie zmienny i zależy od stopnia zaawansowania choroby.

Wnioskować można więc, że w początkowych etapach rozwoju jaskry POAG (oraz jaskry barwnikowej rozwijający się u myszy szczepu DBA/2, będącej podtypem jaskry otwartego kąta (110)) dochodziło do zmniejszenia poziomu BDNF. Następnie, w przebiegu choroby poziom tego białka rósł, aż ostatecznie przewyższał poziom obserwowany u zdrowych. Znaczne obniżenie poziomu BDNF w tkankach we wczesnych etapach rozwoju jaskry mogłoby stanowić podstawę do wykorzystania oznaczeń poziomu BDNF w surowicy, płynie łzowym lub cieczy wodnistej jako biomarkera u pacjentów. Dzięki wcześniejszemu rozpoznaniu choroby możliwe byłoby szybsze wdrożenie leczenia, co mogłoby zapobiec utracie wzroku pacjenta i poprawić jakość życia.

Ze względu na neurotroficzne i antyapoptotyczne działanie BDNF w stosunku do RGC (99) oraz wpływ na prawidłowe funkcjonowanie i tworzenie synaps (209), białko to jest wykorzystywane w badaniach przedklinicznych jako potencjalny, nowy sposób leczenia przyczynowego jaskry. Egzogenne podanie BDNF w formie zastrzyku doszkliskowego ma ograniczone zastosowanie, ponieważ BDNF nie przekracza bariery krew-mózg (210) oraz charakteryzuje się krótkim okresem półtrwania. Inną metodą zwiększenia poziomu BDNF w gałce ocznej jest terapia genetyczna oparta na wprowadzeniu do organizmu adenowirusowego wektora zawierającego gen *BDNF*. Działanie takie wpływało na poprawienie profilu neuroprotekcijnego (211), lecz niektórzy badacze zarzucili tej terapii brak efektu długoterminowego ze względu na następujący spadek wrażliwości komórek nerwowych na działanie BDNF (212). W leczeniu jaskry, dobór odpowiedniego stężenia BDNF jest najistotniejszy w długoterminowej ochronie RGC i utrzymaniu prawidłowego poziomu receptora TrkB warunkującego odpowiedź komórki na działanie tego czynnika neuroprotekcijnego (213). Inne sposoby modulowania poziomu BDNF obejmują podawanie

substancji zwiększających wydzielanie endogennego BDNF. Należą do nich między innymi witamina D3 oraz kwas walproinowy (53, 214).

#### **5.1.4. Rola NGF w patogenezie jaskry**

W badaniu przedstawionym w pracy doktorskiej, poziom NGF wykazywał tendencję do wzrostu wraz z wiekiem oraz spadku w przebiegu choroby (*Rycina 17*). Przedstawione badanie jest pierwszym, gdzie oznaczono poziom NGF w gałce ocznej i surowicy myszy szczepu DBA/2 z rozpoznaną jaskrą. Choć neuroprotekcynny efekt wywierany przez to białko na komórki nerwowe jest dobrze poznany (215), jedynie nieliczne badania oceniają proces endogennego wydzielania NGF w obrębie oka w przebiegu jaskry. Colafrancesco i wsp. oraz Coassin i wsp. oceniali poziom NGF w siatkówce u szczurów, gdzie model jaskry wyindukowany był poprzez podanie hipertonicznego roztworu chlorku sodu do żyły nadtwardówkowej. Sztucznie podniesione ciśnienie śródgałkowe prowadziło do uszkodzenia siatkówki. Pierwszy z wymienionych zespołów oznaczył NGF w siatkówce 14 tygodni po zabiegu indukcji jaskry, wykazując znaczne obniżenie poziomu białka, natomiast drugi zespół wykonywał kilkukrotne oznaczenia białka w ciągu 5 tygodni od indukcji choroby, wykazując jego stopniowy wzrost (216, 217). Rudzinski i wsp. do zbadania poziomu czynników neuroprotekcynnych w jaskrze wykorzystali inny szczurzy model choroby – model jaskry indukowanej przez kauteryzację (przyżeganie) żyły nadtwardówkowej. W doświadczeniu zaobserwowali, że poziom NGF wzrósł w ciągu 2 tygodni od indukcji jaskry, a w ciągu kolejnych dwóch tygodni spadł do poziomu wyjściowego (54).

Wyniki badań klinicznych pozostają niejednoznaczne. Analiza doniesień pochodzących z badań przekrojowych prowadzonych u pacjentów jest utrudniona poprzez fakt, że trudno jest określić czas trwania choroby, który najprawdopodobniej wpływa na poziom NGF. Oddone i wsp., w badaniu przeprowadzonym u pacjentów z POAG, analizowali poziom białek neurotroficznnych (w tym BDNF i NGF) w surowicy na różnych etapach zaawansowania jaskry. Wykazali, że poziom NGF, podobnie jak BDNF, jest najniższy na wczesnym etapie jaskry, wyższy (lecz dalej obniżony) w umiarkowanej jaskrze, a w zaawansowanej – nie różni się od poziomu oznaczonego u pacjentów z grupy kontrolnej (204). Nouredin i wsp. natomiast oceniali poziom NGF w osoczu pacjentów z nowo rozpoznaną, nieleczoną POAG, nie wykazując istotnych statystycznie różnic (218). Poziom NGF w płynie łzowym pacjentów z leczoną POAG był podwyższony, według doniesień zespołu Murugesan i wsp. (219),



a w cieczy wodnistej, według Chalam i wsp., ekstremalnie niski, pozostający poza zakresem oznaczalności testów laboratoryjnych (220).

Rola NGF w procesie neurodegeneracji i neuroprotekcji jest złożona ze względu na obecność w komórkach siatkówki dwóch receptorów o przeciwstawnym działaniu. Aktywacja receptora TrkA, obecnego między innymi w błonie RGC, wywiera działanie protekcyjne, a pobudzenie receptora p75<sup>NTR</sup>, obecnego między innymi w błonach komórek gleju, wywiera działanie proapoptotyczne (130). Dodatkowo dowiedziono, że prekursor białka NGF – proNGF, wykazuje aktywność biologiczną, aktywując proapoptotyczny szlak sygnalizacyjny kinazy c-Jun N-końcowej (kinazy JAK) poprzez wiązanie z receptorem p75<sup>NTR</sup> (221). W celu pełnej oceny roli endogennego NGF w procesach neurodegeneracji i neuroprotekcji należy rozważyć wzajemne oddziaływanie czterech elementów: białek NGF i pro-NGF, oraz receptorów TrkA i p75<sup>NTR</sup>. Mesentier-Louro i wsp. wykazali, że w zwierzęcym modelu mechanicznego uszkodzenia nerwu wzrokowego, natychmiast po uciśnięciu nerwu dochodziło do wzrostu poziomu receptorów p75<sup>NTR</sup> w siatkówce, co pośredniczyło w procesie degeneracji siatkówki. Do wzrostu poziomu receptora TrkA oraz białka NGF dochodziło dopiero po pewnym czasie (7-14 dni od uszkodzenia nerwu wzrokowego). Przewaga ekspresji pro-NGF i p75<sup>NTR</sup> nad ekspresją NGF i TrkA warunkowała przewagę procesów neurodegeneracyjnych nad neuroprotekcijnymi (128).

Potencjał neuroprotekcyny białka NGF jest wykorzystywany w terapiach doświadczalnych jaskry. Największą popularnością cechują się krople do oczu zawierające rh-NGF, które podawane miejscowo do worka spojówkowego dały dobry efekt terapeutyczny w zwierzęcych modelach jaskry (216, 222, 223). W fazie 1b badania klinicznego, u pacjentów z POAG wykazano, że leczenie kroplami zawierającymi rekombinowany ludzki NGF jest bezpieczne, ale nie wykazuje długotrwałego korzystnego działania na komórki siatkówki (ocenianego po 32 tygodniach) (224). Nadzieją na celniejsze wykorzystanie potencjału NGF w leczeniu jaskry jest zastosowanie selektywnych agonistów receptora TrkA (129, 130).

## **5.2. Model nadciśnienia tętniczego**

### **5.2.1. Rozpoznanie nadciśnienia tętniczego na podstawie pomiarów ciśnienia tętniczego na ogonie**

Jako kryterium rozpoznania nadciśnienia tętniczego u szczurów przyjęto wartość SBP  $\geq$  150 mmHg za Aragane i wsp. (178). Według tego kryterium, w pracy doktorskiej postawiono

rozpoznanie nadciśnienia tętniczego u szczurów z grupy doświadczalnej (szczury szczepu SHR w wieku 12 tygodni) (*Rycina 18, Tabela 9*).

Dane literaturowe donoszące o wartościach ciśnienia tętniczego szczurów szczepu SHR są różnorodne. Wyniki analogiczne do tych zaprezentowanych w pracy doktorskiej przedstawili Otani i wsp., Aragane i wsp. oraz Civantos i wsp., którzy donieśli, że średnie wartości SBP szczurów szczepu SHR w wieku 6 tygodni wynosiły odpowiednio: 145 mmHg, 142 mmHg oraz mniej niż 145 mmHg (178, 225, 226). Wyższe wartości SBP u szczurów szczepu SHR w wieku 6 tygodni zaprezentowali Oddo i wsp. oraz Anishchenko i wsp. – odpowiednio 157 mmHg oraz 164 mmHg (227, 228), a niższe Majzunova i wsp. – około 130 mmHg (229). Rozbieżności wynikają prawdopodobnie z różnych warunków wykonywania pomiaru ciśnienia tętniczego i towarzyszącego poziomemu stresu, wykonaniem badania kilka dni przed lub po osiągnięciu wieku dokładnie 6 tygodni (wzrost ciśnienia tętniczego u szczurów szczepu SHR w tym wieku jest dynamiczny (228)), przyuczenia szczurów do badania redukując stres, różnego pochodzenia zwierząt, bądź innych czynników.

Wartości ciśnienia tętniczego rozwijane przez szczury szczepu SHR w 12. tygodniu życia w innych doświadczeniach były natomiast przeważnie wyższe niż uzyskane w niniejszej pracy doktorskiej. Civantos i wsp. donieśli, że wartości SBP u szczurów szczepu SHR w wieku 12 tygodni wyniosły blisko 170 mmHg, Cho i wsp. – 187 mmHg, Mowry i wsp. – ponad 200 mmHg, Oddo i wsp. – 204 mmHg, a Anishchenko i wsp. – 211 mmHg (226, 227, 228, 230, 231). Niższe wartości zaprezentowali Yang i wsp., u których 12-tygodniowe szczury szczepu SHR osiągnęły wartości SBP bliskie 140 mmHg; badanie wykonywane było jednak w znieczuleniu, co mogło wpłynąć na wartości ciśnienia tętniczego (232).

### **5.2.2. Morfologia naczyń siatkówki w przebiegu nadciśnienia tętniczego**

W pracy doktorskiej, szczury z nadciśnieniem tętniczym nie różniły się od grup kontrolnych pod względem wartości współczynnika  $a/v$  (*Rycina 22*), choć zgodnie z założeniem modelu retinopatii nadciśnieniowej w wieku 12 tygodni u szczurów szczepu SHR powinna być już widoczna. Okamura i wsp. donieśli, że u szczurów szczepu SHR w wieku 12-14 tygodni dochodzi do istotnego zwężenia tętniczek (233), a Li i wsp. osiągnęli taki wynik już w 10. tygodniu życia zwierząt (77). Ruchoux i wsp. w swojej pracy podali, że u szczurów ze spontanicznym nadciśnieniowym udarem mózgu (*ang. Stroke Prone - Spontaneously Hypertensive Rat; SP-SHR*), pierwsze uszkodzenia narządowe spowodowane wysokim

ciśnieniem tętniczym, pojawiały się między 7., a 11. tygodniem życia zwierząt (234). Inni naukowcy zwrócili uwagę na niejednorodność zmian naczyń w obrazie dna oka szczurów szczepu SHR – obserwowano zmiany ogniskowe i segmentalne, widoczne jedynie u części osobników (71, 232).

Brak zmian wartości współczynnika  $a/v$  u szczurów badanych w pracy doktorskiej może wynikać zatem z doboru miejsca pomiaru. Średnica naczyń mierzona była na wysokości brzegu tarczy nerwu wzrokowego (*Rycina 20*). Zmiany średnicy naczyń nie dotyczą jednocześnie wszystkich tętniczek siatkówki, lecz zachodzą ogniskowo w różnych jej sektorach. W wieku 12 tygodni mogło więc nie dojść jeszcze do zwężenia grubszych tętniczek w okolicy tarczy nerwu wzrokowego. Ponadto, wartości ciśnienia tętniczego u szczurów w niniejszej pracy były znacznie niższe niż w innych badaniach, co mogło wpłynąć na wolniejszy rozwój retinopatii nadciśnieniowej.

### **5.2.3. Morfologia siatkówki w przebiegu nadciśnienia tętniczego**

U szczurów z nadciśnieniem tętniczym nie zaobserwowano histopatologicznych cech świadczących o degeneracji siatkówki. Nie odnotowano różnic w grubości siatkówki między grupami (*Rycina 26*), a różnice obserwowane w ilości RGC związane były najprawdopodobniej z wiekiem. Zarówno u 12-tygodniowych szczurów szczepu WKY, jak i 12-tygodniowych szczurów szczepu SHR obserwowano mniejszą liczbę RGC, niż u odpowiadających im wiekiem 6-tygodniowych grup kontrolnych (*Rycina 29*). Podczas analizy grubości poszczególnych warstw siatkówki, wyniki pomiarów u szczurów z nadciśnieniem tętniczym nie różniły się od żadnej z grup kontrolnych. 6-tygodniowe szczury szczepu SHR miały natomiast znacznie cieńsze warstwy ONL oraz OPL, niż 6-tygodniowe szczury szczepu WKY nierozwijające nadciśnienia tętniczego, oraz grubsze warstwy IPL. Różnicy takiej nie zaobserwowano przy porównaniu 12-tygodniowych szczurów szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym i 12-tygodniowych szczurów szczepu WKY nieobciążonych chorobą (*Rycina 27*). Zmiany te mogą świadczyć o rozpoczynającym się procesie zaburzenia morfologii siatkówki związanym z wiekiem, który został przyspieszony przez wysokie ciśnienie tętnicze predysponujące do rozwoju retinopatii nadciśnieniowej. Brak jednoznacznych zmian świadczących o procesach neurodegeneracyjnych w siatkówce szczurów z nadciśnieniem tętniczym (12-tygodniowe SHR) badanych w pracy doktorskiej może wskazywać na brak zmian w morfologii siatkówki we wczesnym etapie choroby, bądź wynikać z wybranego sposobu wyliczania wartości RT, ONL/RT, OPL/RT, INL/RT i IPL/RT (pomiaru zostały

wykonane w najgrubszym miejscu siatkówki, bez rozdzielania na część centralną i obwodową) (Rycina 25).

W pracy doktorskiej wykazałam jednak silnie ujemną korelację między wartością SBP, a grubością warstwy ONL u szczurów z nadciśnieniem tętniczym (Rycina 31), co wskazywać może na tendencję do uszkodzenia tej warstwy przez rosnące ciśnienie tętnicze. W przebiegu nadciśnienia tętniczego warstwa ta mogła być zatem uszkodzana jako pierwsza, co jest zgodne z doniesieniami przedstawionymi przez Li i wsp. (77). Mechanizm uszkodzenia warstwy ONL w przebiegu wysokiego ciśnienia tętniczego może być tłumaczony faktem, że zewnętrzne warstwy siatkówki, szczególnie fotoreceptory, których jądra znajdują się w obrębie ONL, są zaopatrywane w składniki odżywcze przede wszystkim przez naczynia naczyniówki (15). W przebiegu nadciśnienia tętniczego dochodzi do wzrostu aktywności współczulnej, co skutkuje zwężeniem tętniczek naczyniówki i niedotlenieniem fotoreceptorów, co może prowadzić do zmniejszenia grubości ONL.

Analiza histopatologiczna siatkówki szczurów szczepu SHR przeprowadzana była przez nielicznych naukowców, a prezentowane wyniki były niejednoznaczne. Lin i wsp. wykonując histopatologiczną ocenę siatkówek szczurów szczepu SHR w wieku 4 i 14 miesięcy nie znaleźli żadnych zmian w jej morfologii, a układ warstw siatkówki szczurów z retinopatią nadciśnieniową nie odbiegał od normy (235). Li i wsp. natomiast w badaniu szczurów 10-tygodniowych i 40-tygodniowych wykazali, że w porównaniu ze szczurami szczepu WKY, u szczurów szczepu SHR warstwa ONL jest cieńsza i zawiera mniej komórek (w doświadczeniu tym grubość warstwy była mierzona od RPE do OPL, zawierała więc w sobie również warstwę fotoreceptorów, a w zaprezentowanej pracy doktorskiej warstwa ONL mierzona była zgodnie z jej definicją, od OLM do OPL, czyli z wyłączeniem warstwy fotoreceptorów). Li i wsp. nie znaleźli też różnic w grubości warstw INL i GCL, ani w ilości komórek w warstwach INL i GCL (liczba RGC), jak również różnic między 10-tygodniowymi, a 40-tygodniowymi szczurami szczepu SHR (77). Z kolei Yamori i wsp., badający szczury szczepu SHR w szerokim przedziale czasowym (od 2 do 17 miesiąca życia), w badaniu histopatologicznym wykazali jedynie obrzęk wewnętrznych warstw siatkówki (IPL, GCL) (236). Liu i wsp. w badaniu histopatologicznym siatkówki zaobserwowali, że zmiany struktury siatkówki towarzyszące retinopatii nadciśnieniowej zachodzą jedynie w jej części centralnej, a nie obwodowej. W siatkówce 6-miesięcznych szczurów szczepu SHR obserwowali pogrubienie warstw IPL, INL i warstwy fotoreceptorów, natomiast nie znaleźli różnic

w grubości warstw siatkówki obwodowej między grupą doświadczalną, a grupami kontrolnymi (237).

Pomimo danych dostępnych w piśmiennictwie wskazujących na obecność retinopatii nadcisnieniowej w 12. tygodniu życia szczurów szczepu SHR, wyniki badań przyżyciowych oraz analizy histopatologicznej przeprowadzonych w mojej pracy doktorskiej nie wskazują jednoznacznie na rozwój choroby oczu.

#### **5.2.4. Wartości ciśnienia śródgałkowego w przebiegu nadciśnienia tętniczego**

W pracy doktorskiej, 12-tygodniowe szczury szczepu SHR miały podwyższone IOP względem grup kontrolnych (*Rycina 24*). Wartości IOP nie korelowały jednak z wartościami SBP, DBP, czy MAP w żadnej z czterech badanych grup zwierząt (*Tabele 10-13*).

W piśmiennictwie znajdują się jedynie pojedyncze badania oceniające ciśnienie śródgałkowe jednocześnie z ciśnieniem tętniczym u szczurów szczepu SHR, a ich wyniki są niespójne. Wzrost IOP u szczurów szczepu SHR zaobserwowali Vaajanen i wsp., którzy badali szczury w wieku od 6 do 14 tygodni przy użyciu tonometrii odbiciowej. Zaobserwowali, że zarówno szczury w wieku 6, jak i 14 tygodni miały wyższe IOP, niż odpowiadające im grupy kontrolne. Przedstawili również dodatnią korelację między wartościami ciśnienia tętniczego, a śródgałkowego (238). Przeciwnie wyniki przedstawili Funk i wsp. wykazując, że u starszych szczurów, w wieku 8-9 miesięcy, wartości IOP są niższe, niż u grup kontrolnych. Również zaobserwowali korelację wartości IOP z BP, lecz była ona ujemna. W doświadczeniu tym zastosowano jednak inwazyjny pomiar IOP poprzez sondę umieszczoną w komorze przedniej oka (239). Brak różnic między IOP i BP u szczurów szczepu SHR w wieku 15 tygodni wykazali natomiast Skrzypecki i wsp., którzy w dwóch doświadczeniach mierzyli wartości IOP zarówno metodą tonometrii odbiciowej, jak i inwazyjnej (240, 241).

W badaniach przekrojowych oraz prospektywnych u ludzi obserwuje się silny związek IOP z SBP oraz DBP, a nawet wyliczono, że na każdy wzrost 10 mmHg w SBP przypada wzrost IOP o 0,21 mmHg (242, 243). Rozbieżności wyników obserwowanych w badaniach przedklinicznych oraz klinicznych wskazują na złożoność procesu regulacji IOP w obliczu podwyższonego BP. Skrzypecki i wsp. zasugerowali, że zmiany wartości IOP w przebiegu nadciśnienia tętniczego mogą zależeć nie od samego poziomu BP, lecz od działania hormonów leżących u podstaw danego typu nadciśnienia tętniczego. Na przykład, wazopresyna to hormon

podwyższający ciśnienie tętnicze, ale obniżający ciśnienie śródgałkowe; tlenek azotu działa natomiast depresyjnie na BP, a podwyższa IOP (244).

Badania zaprezentowane w niniejszej pracy doktorskiej sugerują, że w przebiegu nieleczonego nadciśnienia tętniczego rzeczywiście dochodzi do wzrostu ciśnienia śródgałkowego, lecz do wyjaśnienia przyczyn tego zjawiska niezbędne są dalsze badania.

#### **5.2.5. Zmiany poziomu BDNF u szczurów z podwyższonym ciśnieniem tętniczym**

W przedstawionej pracy, poziom BDNF był wyższy zarówno w gałce ocznej jak i surowicy szczurów szczepu SHR (6-tygodniowych oraz 12-tygodniowych) w porównaniu do nierozwijających nadciśnienia tętniczego szczurów szczepu WKY w odpowiadającym wieku (*Rycina 30*). Nie wykazano różnic między poziomem białka u 6-tygodniowych i 12-tygodniowych szczurów szczepu SHR (co wynikać może z braku istotnych statystycznie różnic w wartościach SBP, DBP i MAP między tymi szczurami), lecz obydwie grupy osiągnęły istotnie wyższe poziomy niż odpowiadające im grupy szczurów szczepu WKY (*Rycina 19*). Wnioskować można więc, że w warunkach podwyższonego ciśnienia tętniczego (szczury z grupy SHR\_6t miały wyższe BP, niż WKY\_6t; szczury z grupy SHR\_12t\_NAD miały wyższe BP, niż WKY\_12t) dochodzi do zwiększenia poziomu białka BDNF w gałce ocznej oraz surowicy. Nie wykazano jednak korelacji pomiędzy SBP i poziomem BDNF w gałce ocznej czy surowicy w żadnej z czterech badanych grup zwierząt (*Tabele 10-13*).

Niniejsza praca doktorska jest pierwszym badaniem, w którym przedstawiono poziom BDNF w siatkówce szczurów szczepu SHR. Oznaczenie poziomu BDNF w surowicy przedstawiciele tego szczepu przeprowadzili jedynie Amoureux i wsp. Badając gryzonie w wieku 6 i 13 tygodni, nie wykazali różnic istotnych statystycznie pomiędzy szczurami z nadciśnieniem tętniczym, a kontrolnymi szczurami szczepu WKY (245).

Badania przeprowadzone u ludzi również nie dostarczają jednoznacznych informacji na temat zmiany poziomu BDNF w przebiegu nadciśnienia tętniczego. Ding i wsp. nie znaleźli różnic w poziomie BDNF w surowicy między pacjentami z nadciśnieniem tętniczym, a grupą kontrolną (246). Natomiast Nemcsik i wsp. wykazali podwyższony poziom BDNF w surowicy dorosłych pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (247). Golden i wsp. dowiedli pozytywnej korelacji między poziomem krążącego BDNF, a wartością ciśnienia rozkurczowego (248).

Wyniki przedstawione w niniejszej pracy doktorskiej wymagają jednak krytycznej analizy w celu rozważenia czy podwyższenie poziomu BDNF w gałce ocznej oraz surowicy jest rzeczywiście związane z nadciśnieniem tętniczym. Pomimo wyższego niż u grup kontrolnych poziomu białka BDNF u szczurów podatnych na nadciśnienie tętnicze, nie wykazano korelacji między BDNF, a SBP czy DBP w żadnej z badanych grup zwierząt. Należy pamiętać, że młode szczury szczepu SHR stanowią również model zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (*ang. Attention Deficit Hyperactivity Disorder; ADHD*), a oznaczenie poziomu białek neuroprotektynnych w przebiegu tej choroby psychiatrycznej jest obiektem zainteresowania badaczy. Szczury szczepu SHR wykazują zachowanie przypominające objawy ADHD w młodym wieku, badania nad ADHD przeprowadzane są więc zwykle na szczurach kilkutygodniowych (do 8 – 10 tygodnia życia) (249, 250). Choć szczury 12-tygodniowe nie powinny już wykazywać objawów ADHD, to młodsza grupa kontrolna (6-tygodniowe szczury szczepu SHR) prawdopodobnie je prezentowała. Istnieje kilkadziesiąt prac przedstawiających rolę BDNF w patogenezie ADHD, lecz wszystkie badania przedkliniczne obejmowały oznaczenie poziomu tego białka w homogenacie tkanki mózgowej. Autorzy nie zaprezentowali więc pomiarów poziomu BDNF w surowicy, które można byłoby porównać z wynikami niniejszej pracy doktorskiej. Przeprowadzono jednak kilka badań u dzieci z ADHD, gdzie oceniano poziom BDNF w surowicy, choć wyniki badań nie są jednoznaczne. Younan i wsp. oraz Gumus i wsp. wykazali, że poziom BDNF w surowicy nieleczonych dzieci z ADHD był wyższy niż u grup kontrolnych, przy czym obserwowana była silnie ujemna korelacja między poziomem BDNF, a wiekiem (251, 252). Bilgic i wsp. oraz Scassellati i wsp. nie znaleźli natomiast różnic w poziomie BDNF między nieleczonymi pacjentami z ADHD, a grupami kontrolnymi (253, 254). W badaniu przeprowadzonym przez Corominas-Rosso i wsp. oceniano BDNF u dorosłych z ADHD i wykazano obniżenie poziomu tego białka (255). Badania przeprowadzone u ludzi sugerują, że początkowo podwyższony poziom BDNF spada wraz z czasem trwania choroby.

Biorąc powyższe pod uwagę, wyniki zaprezentowane w pracy doktorskiej wymagają uzupełnienia o dalsze badania przeprowadzone również u starszych przedstawicieli szczepu SHR w późniejszym stadium retinopatii nadciśnieniowej.

#### **5.2.6. Zmiany poziomu NGF u szczurów z podwyższonym ciśnieniem tętniczym**

W pracy doktorskiej u szczurów szczepu SHR (z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia tętniczego) zaobserwowano istotnie wyższy poziom NGF w gałce ocznej niż u szczurów

szczepu WKY, bez względu na wiek (*Rycina 30*). Dodatkowo, wykazano dodatnią korelację poziomu NGF z poziomem BDNF w oku (*Rycina 32*) oraz z grubością warstwy INL (*Rycina 33*), co może świadczyć o synergistycznej roli tych dwóch czynników neuroprotekcyjnych w promowaniu przeżycia komórek siatkówki zlokalizowanych w obrębie tej warstwy (komórek poziomych, dwubiegunowych oraz amakrynowych). Poziom NGF w surowicy nie różnił się między badanymi grupami (*Rycina 30*).

Niniejsza praca doktorska jest pierwszym badaniem, w którym oznaczono poziom NGF w gałce ocznej i surowicy szczurów szczepu SHR w przebiegu nadciśnienia tętniczego. Pośród badań przeprowadzonych u ludzi, Tomoda i wsp. oceniali poziom NGF w osoczu pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Zaprezentowane przez nich wyniki różnią się jednak od tych osiągniętych w niniejszej pracy doktorskiej – pacjenci z nadciśnieniem tętniczym mieli podwyższony poziom NGF w osoczu (256). Różnice te wynikać mogą z różnych przyczyn nadciśnienia tętniczego u szczurów szczepu SHR oraz ludzi, bądź z różnego stadium i czasu trwania choroby. W celu jednoznacznej oceny roli NGF wydzielanego do krwi w przebiegu nadciśnienia tętniczego potrzebne jest wykonanie większej ilości badań.

Liczne badania przedkliniczne wykazały jednak, że NGF u szczurów szczepu SHR z nadciśnieniem tętniczym jest wydzielany między innymi przez komórki warstwy mięśni gładkich naczyń, co przyczynia się do zwiększenia współczulnego unerwienia okolicznych tkanek, takich jak: nerki, pęcherz moczowy, śledziona, serce, nerw kulszowy, czy też tętnica kręzkowa. W wymienionych narządach obserwowano wyższy poziom NGF niż w narządach szczurów szczepu WKY stanowiących grupy kontrolne. Wzrost aktywności współczulnej oraz zwiększenie produkcji amin katecholowych powoduje skurcz naczyń i w efekcie wzrost BP (257, 258, 259, 260). Z czasem dochodzi do przebudowy ściany naczyń i utrwalenia zmian prowadzących do przewlekłego nadciśnienia tętniczego. Uważa się, że NGF jest jednym z czynników promujących ten proces (256, 261).

Wyniki badania przedstawionego w pracy doktorskiej sugerują, że NGF wydzielany przez komórki warstwy mięśni gładkich naczyń nie jest transportowany do surowicy (brak różnic między grupami w poziomie NGF w surowicy), lecz do tkanek gałki ocznej (wyższy poziom NGF w gałce ocznej szczurów szczepu SHR) (*Rycina 30*). Naczynia błony naczyniowej gałki ocznej są unerwione współczulnie przez włókna ze spłotu szyjnego górnego, a przywspółczulnie przez włókna ze zwoju skrzydłowo-podniebiennego; naczynia siatkówki natomiast nie są unerwione autonomicznie (262, 263). Niniejsza praca doktorska jako pierwsza



mogłaby zasugerować, że NGF jest wydzielany w gałce ocznej w celu promowania wzrostu unerwienia współczulnego tętnic dna oka w przebiegu nadciśnienia tętniczego, w fazie poprzedzającej istotne zwężenie średnicy tętnic obserwowane w retinopatii nadciśnieniowej. Hipoteza ta wymaga potwierdzenia poprzez ocenę włókien układu autonomicznego obecnych w gałce ocznej i porównanie ich ilości u zwierząt w przebiegu nadciśnienia tętniczego, a następnie skorelowanie z poziomem NGF w tym narządzie.

### **5.3. Model cukrzycy**

#### **5.3.1. Rozpoznanie cukrzycy**

U szczurów z grupy Lewis\_CUK cukrzycę rozpoznano na podstawie wartości glikemii przekraczającej 300 mg/dl (16,7 mmol/l) (179, 180, 181) w pomiarze wykonanym 72 godziny po dootrzewnowym podaniu STZ w dawce 60 mg/dl (172, 173, 174).

#### **5.3.2. Rozpoznanie retinopatii cukrzycowej na podstawie glikemii i współczynnika a/v**

U szczurów z cukrzycą zaobserwowano zaburzenie struktury naczyń wyrażone przez zwiększającą się wartość współczynnika a/v (*Rycina 36*), obecność zaburzeń unaczynienia, co potwierdziło rozwój retinopatii cukrzycowej (172, 173, 174, 179, 180, 181, 264). Według Kristinsson i wsp., poszerzenie tętniczek jest cechą wczesnego stadium zaawansowania retinopatii cukrzycowej. Poszerzenie tętniczek w przebiegu cukrzycy prowadzi do wzrostu ciśnienia w mikrokrażeniu siatkówki, co uszkadza ściany naczyń prowadząc do pojawienia się mikrotętniaków i wysięków krwistych w dalszych etapach retinopatii (265). Dzięki tym obserwacjom, w pracy doktorskiej rozpoznano wczesne stadium retinopatii cukrzycowej, gdzie zwiększona wartość współczynnika a/v wskazywała na poszerzenie tętniczek siatkówki. Na podstawie przeglądu wyników badań klinicznych zaproponować można następującą kolejność wystąpienia zmian: poszerzenie tętniczek we wczesnych etapach retinopatii cukrzycowej poprzedzających fazę obrzęku plamki żółtej, następnie poszerzenie żyłek w fazie retinopatii nieproliferacyjnej i ostatecznie zwężenie tętniczek w fazie retinopatii proliferacyjnej (265, 266).

#### **5.3.3. Zaburzenie struktury siatkówki w przebiegu retinopatii cukrzycowej**

W pracy doktorskiej, u szczurów szczepu Lewis 4 tygodnie po indukcji cukrzycy zaobserwowano zaburzenie struktury siatkówki wyrażone przez spadek grubości warstwy IPL i wzrost grubości warstwy ONL mierzonych w stosunku do grubości całej siatkówki (*Rycina*

41). Dodatkowo, wyższym wartościom ONL towarzyszyły niższe wartości IPL, co świadczy o zależności grubości tych dwóch warstw od siebie (*Rycina 46*). Nie obserwowano zmiany grubości pozostałych warstw (INL, OPL) (*Rycina 41*), grubości całkowitej siatkówki (wartość RT, mierzona od ILM do OLM) (*Rycina 40*), ani zmiany w liczbie RGC (*Rycina 43*). Obraz zmian histopatologicznych siatkówki świadczył o wczesnym etapie zmian siatkówki zachodzącym w przebiegu retinopatii cukrzycowej, co odpowiada rozpoznaniu postawionemu na podstawie zwiększonych wartości a/v.

Wyniki oceny histopatologicznej zmian w siatkówce w przebiegu retinopatii cukrzycowej zależą od czasu trwania choroby. Dłużej trwającej i nieleczonej cukrzycy towarzyszą bardziej zaawansowane zmiany neurodegeneracyjne. Dorfman i wsp. w badaniu wykonywanym u szczurów szczepu Wistar, 6 tygodni po indukcji cukrzycy przez podanie STZ, również nie wykazali zmian RT i RGC u szczurów z retinopatią cukrzycową (185). Zhang i wsp. analizowali siatkówkę szczurów szczepu Sprague-Dawley 6 tygodni po indukcji cukrzycy, gdzie zwrócili uwagę na występujące drastyczne zaburzenie struktury siatkówki. Zaobserwowali zmniejszenie wartości RT, INL oraz ONL. Pomiar grubości warstw wyrażane były jednak jako wartości bezwzględne, a nie jako stosunek grubości warstwy do grubości całkowitej siatkówki, co odróżnia wyniki opisane przez innych badaczy od tych prezentowanych w niniejszej pracy doktorskiej (267). Badania prowadzone u zwierząt z dłuższym czasem trwania cukrzycy wykazały różne wyniki w zależności od przyjętego sposobu pomiaru oraz sposobu wyrażenia wyniku pomiaru grubości konkretnych warstw (jako wartość bezwzględną, stosunek do grubości siatkówki, stosunek do grubości naczyniówki, stosunek do grubości warstwy fotoreceptorów, i tak dalej), lecz zawsze jednoznacznie wskazywały na zaburzenia struktury świadczące o procesach neurodegeneracyjnych. Badania wykonane w ciągu 3 miesięcy od indukcji cukrzycy pokazały, że u zwierząt doszło do spadku grubości RT, INL i ONL (268), spadku grubości IPL i INL (269) lub zmniejszenia liczby RGC bez zmiany grubości RT (270). Dodatkowo, Thangaraju i wsp. zwrócili uwagę na pojawiające się zwyrodnienie wodniczkowe warstw wewnętrznych siatkówki (GCL i IPL) obecnych w siatkówce już 3 miesiące po indukcji choroby (271). Badania wykonane 4 miesiące oraz 7,5 miesiąca po indukcji choroby wykazały zmniejszenie RT, INL, ONL, RGC świadczące o atrofii siatkówki w przebiegu zaawansowanej retinopatii cukrzycowej (182, 186).

Podsumowując analizę zmian morfologii siatkówki dokonaną w niniejszej pracy doktorskiej oraz na podstawie analizy danych zebranych w przeglądzie piśmiennictwa, przebieg zmian

struktury siatkówki w retinopatii cukrzycowej wydaje się następujący: w początkowych etapach retinopatii cukrzycowej dochodzi do zaburzenia struktury siatkówki, bez zmian jej całkowitej grubości i uszkodzenia komórek RGC. W przebiegu kolejnych miesięcy trwania cukrzycy dochodzi do pogłębienia procesu neurodegeneracyjnego, który prowadzi do zmniejszenia całkowitej grubości siatkówki i liczby komórek zwojowych siatkówki, ostatecznie prowadząc do atrofii siatkówki.

#### **5.3.4. Ciśnienie śródgałkowe w przebiegu retinopatii cukrzycowej**

W pracy doktorskiej nie zaobserwowano wzrostu ciśnienia śródgałkowego w przebiegu wczesnej fazy retinopatii cukrzycowej (*Rycina 38*), co zgodnie jest z doniesieniami innych badaczy (272, 273). Wzrost IOP w przebiegu retinopatii cukrzycowej może być obserwowany w zaawansowanych stadiach choroby, w fazie proliferacyjnej. Jeśli dojdzie do neowaskularyzacji w obrębie kąta przesączania przedniej komory gałki ocznej, może dojść do wzrostu IOP w wyniku zamknięcia odpływu cieczy wodnistej. W sytuacji tej rozpoznaje się jaskrę neowaskularną, której jedną z najczęstszych przyczyn jest retinopatia cukrzycowa (274). Powikłanie to nie jest jednak charakterystyczne dla wczesnych faz choroby.

#### **5.3.5. Rola BDNF w przebiegu retinopatii cukrzycowej**

W pracy doktorskiej u szczurów we wczesnym stadium retinopatii cukrzycowej doszło do istotnego spadku poziomu BDNF w surowicy, lecz nie był on obserwowany w gałce ocznej (*Rycina 44*). Ponadto, nie znaleziono korelacji między poziomem BDNF w gałce ocznej czy surowicy, a wynikami badań przyżyciowych (IOP, a/v) oraz wynikami analizy histopatologicznej (RT, RGC, grubości poszczególnych warstw) (*Tabele 15-16*).

Analogiczne wyniki dotyczące oceny poziomu BDNF zaprezentował Shen i wsp., którzy u szczurów szczepu Sprague-Dawley po 2 tygodniach od czasu indukcji cukrzycy STZ wykazali spadek poziomu BDNF w surowicy, lecz brak zmian w poziomie BDNF w homogenacie przygotowanym z siatkówki oka zwierząt (275). W innych badaniach wykazano spadek poziomu BDNF w homogenatach siatkówki zarówno miesiąc, jak i 6 tygodni po indukcji cukrzycy (276, 277). Poziom BDNF w przebiegu retinopatii cukrzycowej analizowano również za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej, gdzie zaobserwowano znaczący spadek immunoreaktywności BDNF w przekroju przez nerw wzrokowy u szczurów 6 tygodni po indukcji cukrzycy (185). Obniżony poziom BDNF w gałce ocznej wiązał się ze

zwiększonym wydzielaniem cytokin prozapalnych i stresem oksydacyjnym, które stanowią element patogenezы cukrzycy i retinopatii cukrzycowej (275, 277). W pracy doktorskiej nie wykazano zmniejszenia poziomu BDNF w gałce ocznej, co mogło być wynikiem przeprowadzenia badania na wcześniejszym etapie choroby.

Obniżony poziom BDNF w surowicy jest ściśle związany z cukrzycą, czego dowodzi metaanaliza z 2021 r. (278). Wykazano, że u pacjentów z podwyższonym stężeniem glukozy we krwi, dochodzi do zmniejszenia ilości BDNF wydzielanego przez mózg do krwi obwodowej (279). Obniżony poziom BDNF w przebiegu cukrzycy może być związany z zaburzeniami gospodarki wodorowęglanowej, obserwowanymi w tej chorobie (102).

BDNF to białko o działaniu neuroprotekcyjnym, które dzięki pobudzeniu receptora TrkB, promuje przeżycie komórek nerwowych. Związanie BDNF z receptorem TrkB powoduje aktywację szlaków sygnałowych hamujących apoptozę indukujących transkrypcję genów związanych z przeżyciem neuronów. Choć pełen mechanizm działania BDNF w przebiegu cukrzycy i retinopatii cukrzycowej nie został w pełni wyjaśniony i wymaga dalszych badań, stosowanie terapii mających na celu zwiększenie jego poziomu w gałce ocznej wykazuje dobre efekty w badaniach przedklinicznych. Na przykład, doszkliskowe podanie nerwowych komórek macierzystych wydzielających BDNF wykazuje działanie neuroprotekcyjne zwiększając przeżywalność RGC w przebiegu retinopatii cukrzycowej (184).

### **5.3.6. Rola NGF w przebiegu retinopatii cukrzycowej**

U szczurów, 4 tygodnie po indukcji cukrzycy nie zaobserwowano różnic w poziomie NGF w surowicy ani w gałce ocznej w porównaniu z grupą kontrolną (*Rycina 44*). Wynikało to prawdopodobnie ze wczesnego stadium rozwoju retinopatii cukrzycowej. Zmniejszenie poziomu NGF w surowicy szczurów zostało zaobserwowane w 4. tygodniu po indukcji cukrzycy przez Ahmad i wsp. oraz w 6. tygodniu po indukcji cukrzycy przez Zhang i wsp. Oba zespoły badały jednak szczury szczepu Sprague-Dawley, a poza indukcją cukrzycy poprzez podanie STZ, szczury dodatkowo żywione były pokarmem bogatym w tłuszcz i cukry (280, 281). Przyczyniło się to do szybszego rozwoju retinopatii.

Spadek poziomu NGF w przebiegu cukrzycy i retinopatii cukrzycowej może wynikać ze zmniejszonej produkcji przez komórki Schwanna, zmniejszonego aksonalnego transportu wstecznego białka oraz zmniejszonego powinowactwa receptora TrkA do NGF (280), choć

dane literaturowe wskazują, że w przebiegu retinopatii cukrzycowej nie obserwuje się zmniejszonej ekspresji tego receptora w siatkówce (282, 283). Po 8 tygodniach trwania cukrzycy Fico i wsp. zauważyli natomiast wzrost poziomu nieaktywnej formy prekursorowej NGF (pro-NGF) (283), co może świadczyć o zaburzeniu procesu przekształcania pro-NGF w NGF w przebiegu retinopatii cukrzycowej, przyczyniając się do spadku poziomu NGF w tkankach. Kolejną przyczyną spadku poziomu NGF w przebiegu choroby jest obniżenie ekspresji jego genu (284).

Pomimo braku różnic poziomu NGF między grupami, w pracy doktorskiej wykazano dodatnią korelację pomiędzy wartością współczynnika  $a/v$ , a poziomem NGF w surowicy szczurów z nadciśnieniem tętniczym (*Rycina 45*). Wartość współczynnika  $a/v$  była podwyższona w początkowych etapach retinopatii cukrzycowej, a wraz z rozwojem choroby wartość  $a/v$  malała ze względu na postępujące poszerzenie średnicy żyłek siatkówki. U szczurów z retinopatią cukrzycową, wyższy poziom NGF w surowicy korelował z wyższymi wartościami  $a/v$  świadczącymi o zaburzeniu morfologii naczyń siatkówki. Może to wskazywać na zwiększone wydzielanie białek protekcyjnych w odpowiedzi na rozpoczynający się proces patologiczny w naczyniach i siatkówce zwierząt.

W związku z licznymi doniesieniami podkreślającymi istotność roli NGF w patomechanizmie retinopatii cukrzycowej, terapie oparte na podaniu rekombinowanego NGF są przedmiotem badań przedklinicznych. NGF może być podany miejscowo w formie kropli do oczu bądź w formie zastrzyku pozagałkowego. Zwiększenie poziomu NGF w gałce ocznej przyczynia się do zwiększenia przeżywalności RGC i ograniczenia utraty wzroku (283, 285).

## 6. Wnioski

- W pracy doktorskiej potwierdzono uzyskanie prawidłowego modelu doświadczalnego jaskry, nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy. W przebiegu cukrzycy potwierdzono rozwój retinopatii cukrzycowej, natomiast nie doszło do rozwoju retinopatii nadciśnieniowej w przebiegu nadciśnienia tętniczego.
- U myszy z jaskrą obserwowano zmiany świadczące o procesach neurodegeneracyjnych siatkówki (zmniejszenie RT, zmiana grubości warstw siatkówki, zmniejszenie liczby cRGC, pRGC). U szczurów z nadciśnieniem tętniczym nie potwierdzono cech neurodegeneracji, natomiast u szczurów szczepu Lewis zaobserwowano jedynie zmiany grubości warstw siatkówki.
- W badanych modelach zwierzęcych zaobserwowano zmiany poziomu BDNF i NGF w tkankach (obniżenie poziomu białek w gałce ocznej w jaskrze, wzrost poziomu NGF w gałce ocznej w nadciśnieniu tętniczym, spadek poziomu BDNF w surowicy w cukrzycy), co wskazuje na udział tych białek w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych siatkówki.
- Na podstawie badań własnych, jak i obserwacji innych autorów poziom BDNF i NGF w przebiegu badanych chorób neurodegeneracyjnych siatkówki wydaje się być zmienny i zależny od etapu rozwoju choroby. Zmiany poziomu białek neuroprotektynnych w tkankach mogą w przyszłości zostać być może użyte jako potencjalne biomarkery wczesnego stadium rozwoju choroby.

## **7. Podsumowanie**

W zaprezentowanej pracy oceniano rolę białek BDNF oraz NGF w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych siatkówki. W tym celu wykonywane były badania przyżyciowe (pomiar IOP, a/v), analiza histopatologiczna (pomiar RT, ONL/RT, OPL/RT, INL/RT, IPL/RT, RGC) oraz immunoenzymatyczna (oznaczenie poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej i surowicy) w zwierzęcych modelach jaskry, retinopatii nadciśnieniowej i cukrzycowej.

### **7.1. Model jaskry**

10-miesięczne myszy szczepu DBA/2 rozwinęły jaskrę, która objawiała się podwyższonymi wartościami IOP w pomiarach przyżyciowych oraz cechami neurodegeneracji siatkówki obserwowanymi w badaniu histopatologicznym (uszkodzenie RGC oraz atrofia siatkówki).

W tkankach wyizolowanych od zwierząt (surowica, gałka oczna) obserwowano tendencję do wzrostu poziomu BDNF i NGF w gałce ocznej wraz z wiekiem, oraz niższe poziomy u 10-miesięcznych myszy z jaskrą, niż u 10-miesięcznych myszy kontrolnych.

### **7.2. Model nadciśnienia tętniczego**

Model nadciśnienia tętniczego stanowiły 12-tygodniowe szczury szczepu SHR rozwijające chorobę spontanicznie. Nadciśnienie tętnicze zostało rozpoznane u 12-tygodniowych szczurów na podstawie podwyższonych wartości SBP (SBP > 150 mmHg). Szczury z nadciśnieniem tętniczym nie różniły się jednak od grup kontrolnych pod względem wartości współczynnika a/v.

Nie zaobserwowano również histopatologicznych cech świadczących o degeneracji siatkówki, choć wyniki analizy grubości poszczególnych warstw siatkówki mogą świadczyć o rozpoczynającym się procesie zaburzenia jej morfologii związanym z wiekiem, który został przyspieszony przez wysokie ciśnienie tętnicze predysponujące do rozwoju retinopatii nadciśnieniowej. Szczury w wieku 12 tygodni mogły zatem rozwinąć retinopatię na bardzo wczesnym etapie choroby, przed wystąpieniem uchwytanych zmian w średnicy naczyń na wysokości brzegu tarczy nerwu wzrokowego.

W analizie immunoenzymatycznej poziom BDNF był wyższy zarówno w gałce ocznej jak i surowicy szczurów szczepu SHR, zarówno 6-tygodniowych, jak i 12-tygodniowych. Podczas

analizy NGF wykazano wzrost jego poziomu w przebiegu nadciśnienia tętniczego w gałce ocznej, lecz poziom w surowicy pozostał bez zmian. NGF może zatem odgrywać rolę w promowaniu unerwienia współczulnego naczyń błony naczyniowej oka przyczyniając się następnie do rozwoju retinopatii i uszkodzenia warstwy ONL siatkówki.

U szczurów szczepów SHR oraz WKY poziom białka NGF w gałce ocznej pozytywnie korelował z grubością warstwy INL, co może wskazywać na promowanie przeżycia komórek poziomych, dwubiegunowych oraz amakrynowych przez ten czynnik neuroprotekcyny.

### **7.3. Model cukrzycy**

W pracy doktorskiej, model cukrzycy stanowiły szczury szczepu Lewis, 4 tygodnie po dootrzewnowym podaniu STZ. Cukrzycę rozpoznano na podstawie wysokich wartości glikemii (> 300 mg/dl), a rozwój retinopatii na podstawie obecności zaburzeń unaczynienia siatkówki. Na podstawie wzrostu wartości współczynnika  $a/v$  sugerującego poszerzenie tętniczek, u szczurów w doświadczeniu rozpoznano wczesny etap retinopatii cukrzycowej.

We wcześniej fazie retinopatii cukrzycowej zaobserwowano zaburzenie struktury siatkówki wyrażone przez spadek grubości warstwy IPL i wzrost grubości warstwy ONL, których wartości wykazywały ujemną korelację.

W przedstawionym doświadczeniu, u szczurów z cukrzycą doszło do znacznego spadku poziomu BDNF w surowicy, lecz nie był on obserwowany w gałce ocznej. Ponadto, nie znaleziono korelacji między poziomem BDNF w gałce ocznej czy surowicy, a wynikami badań przyżyciowych (IOP,  $a/v$ ), czy też wynikami analizy histopatologicznej (RT, RGC, grubości poszczególnych warstw). Brak spadku poziomu BDNF w gałce ocznej był najprawdopodobniej związany z wcześniejszym etapem choroby, a spadek w surowicy może mieć związek z zaburzeniami metabolicznymi obserwowanymi w przebiegu cukrzycy.

U szczurów nie zaobserwowano różnic w poziomie NGF w surowicy ani w gałce ocznej w porównaniu grupy doświadczałnej i kontrolnej. Wynika to prawdopodobnie ze wczesnego stadium rozwoju retinopatii cukrzycowej. Pomimo braku różnic w poziomie NGF między grupami, w pracy doktorskiej wykazano dodatnią korelację pomiędzy wartością współczynnika  $a/v$ , a poziomem NGF w surowicy u szczurów z cukrzycą, co może świadczyć o zwiększonym wydzielaniu białka protekcyjnego w odpowiedzi na rozpoczynający się proces patologiczny w naczyniach i siatkówce zwierząt.



#### **7.4. Dalszy kierunek badań**

Temat przedstawionej pracy doktorskiej dotyczy rozwijającej się, wąskiej dziedziny okulistyki. Na dziś, w piśmiennictwie jest niewiele doniesień dotyczących badanych procesów. Praca doktorska powinna być traktowana jako wstęp do kolejnych badań, których pogłębienie, być może, doprowadzi do rozwoju profilaktyki i terapii chorób neurodegeneracyjnych siatkówki.

Wartościowym uzupełnieniem i rozszerzeniem badań przedstawionych w pracy doktorskiej byłoby dodatkowe oznaczenie poziomu pro-BDNF, pro-NGF, TrkB, TrkA oraz p75<sup>NTR</sup> w zgromadzonym materiale zwierzęcym, w celu szerszej oceny współdziałania białek prekursorowych czynników neuroprotektynowych oraz ich receptorów w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych. Dodatkowo, ciekawym kierunkiem dalszych badań byłoby oznaczenie markerów apoptozy, nekrozy i stresu oksydacyjnego w siatkówce, a następnie skorelowanie wyników z poziomem czynników neuroprotektynowych. W ten sposób można byłoby ocenić wydzielanie BDNF i NGF w odpowiedzi na uszkodzenie i śmierć komórek siatkówki. Ponadto, u szczurów z nadciśnieniem tętniczym, cennym uzupełnieniem byłoby wyznaczenie włókien układu autonomicznego w gałce ocznej i skorelowanie z poziomem NGF, w celu zbadania hipotezy dotyczącej roli NGF w promowaniu rozwoju unerwienia współczulnego naczyń w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

## 8. Ograniczenia badania

Istotnym ograniczeniem dotyczącym badania przeprowadzonego w pracy doktorskiej jest fakt, że zwierzęta badane były tylko w dwóch punktach czasowych (przed rozwinięciem choroby i po). Wartościowe byłoby rozszerzenie badania o dodatkowe punkty czasowe, tak aby była możliwa ocena patologii zarówno we wczesnym, średniozaawansowanym, zaawansowanym, jak i schyłkowym etapie rozwoju choroby.

Interpretację analizy immunoenzymatycznej (poziomu BDNF i NGF) w doświadczeniu dotyczącym jaskry ogranicza fakt, że wyniki nie zostały poddane analizie statystycznej ze względu na zbyt małą ilość materiału biologicznego (krwi, homogenatu gałek ocznych), wobec czego można mówić jedynie o tendencjach.

Wyniki oznaczeń immunoenzymatycznych w szczurzym modelu nadciśnienia tętniczego obarczone są ryzykiem błędnej interpretacji wynikającym z faktu, że młode szczury szczepu SHR stanowią również model ADHD. U szczurów 6 tygodniowych nie można rozróżnić, co jest bezpośrednią przyczyną zmian poziomu BDNF – ADHD, czy nadciśnienie tętnicze. Z tego powodu wyniki przedstawione w pracy doktorskiej powinny zostać rozszerzone o dalsze badania przeprowadzone dodatkowo u starszych szczurów szczepu SHR, które rozwinęłyby retinopatię w bardziej zaawansowanym stadium oraz w jasny sposób udowodniłyby, czy zmiana poziomu białka BDNF wynika z obecności ADHD, czy podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego.

Z kolei w doświadczeniu dotyczącym retinopatii cukrzycowej, po iniekcji STZ, 4-tygodniowym obserwacjom poddano jedynie zwierzęta z grupy doświadczalnej. Zwierzęta z grupy kontrolnej, niepoddane żadnym manipulacjom uśmiercono już w 12 tygodniu życia. Przy planowaniu doświadczenia pod uwagę wzięty został dobrostan gryzoni oraz fakt, że zarówno zwierzęta w wieku 12 i 16 tygodni to młode dorosłe osobniki będące przedstawicielami stabilnego szczepu, u którego z wiekiem samoistnie nie dochodzi do rozwoju chorób narządu wzroku. Szczep Lewis stosowany jest jedynie jako model chorób indukowanych, w tym autoimmunologicznych (286, 287).

## 9. Piśmiennictwo

1. Enoch J, McDonald L, Jones L, Jones PR, Crabb DP. Evaluating Whether Sight Is the Most Valued Sense. *JAMA Ophthalmol.* 2019;137(11):1317-20.
2. Singh R, Gupta N, Vanathi M, Tandon R. Corneal transplantation in the modern era. *Indian J Med Res.* 2019;150(1):7-22.
3. Lee CM, Afshari NA. The global state of cataract blindness. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017;28(1):98-103.
4. Marchesi N, Fahmideh F, Boschi F, Pascale A, Barbieri A. Ocular Neurodegenerative Diseases: Interconnection between Retina and Cortical Areas. *Cells.* 2021;10(9).
5. Kels BD, Grzybowski A, Grant-Kels JM. Human ocular anatomy. *Clin Dermatol.* 2015;33(2):140-6.
6. Austin E, Geisler AN, Nguyen J, Kohli I, Hamzavi I, Lim HW, et al. Visible light. Part I: Properties and cutaneous effects of visible light. *J Am Acad Dermatol.* 2021;84(5):1219-31.
7. Gupta MP, Herzlich AA, Sauer T, Chan CC. Retinal Anatomy and Pathology. *Dev Ophthalmol.* 2016;55:7-17.
8. Masland RH. Neuronal diversity in the retina. *Curr Opin Neurobiol.* 2001;11(4):431-6.
9. Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, Pereiro X, Sharma SC. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Prog Retin Eye Res.* 2016;51:1-40.
10. Boulton M, Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye (Lond).* 2001;15(Pt 3):384-9.
11. Baden T, Euler T, Berens P. Understanding the retinal basis of vision across species. *Nat Rev Neurosci.* 2020;21(1):5-20.
12. Nguyen-Ba-Charvet KT, Chédotal A. Development of retinal layers. *C R Biol.* 2014;337(3):153-9.
13. Adams T, Chernoff E, Wilson J, Dharmarajan S. Reactive Muller Glia as Potential Retinal Progenitors 2013.
14. Salman A, McClements ME, MacLaren RE. Insights on the Regeneration Potential of Müller Glia in the Mammalian Retina. *Cells.* 2021;10(8):1957.
15. Kolb H. Simple Anatomy of the Retina. In: Kolb H, Fernandez E, Nelson R, editors. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System.* Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center  
Copyright: © 2023 Webvision . 1995.
16. Kaplan HJ. Anatomy and function of the eye. *Chem Immunol Allergy.* 2007;92:4-10.

17. Sánchez López de Nava A, Somani AN, Salini B. *Physiology, Vision*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing  
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
18. Sanes JR, Masland RH. The types of retinal ganglion cells: current status and implications for neuronal classification. *Annu Rev Neurosci*. 2015;38:221-46.
19. Nickle B, Robinson PR. The opsins of the vertebrate retina: insights from structural, biochemical, and evolutionary studies. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64(22):2917-32.
20. Hoon M, Okawa H, Della Santina L, Wong RO. Functional architecture of the retina: development and disease. *Prog Retin Eye Res*. 2014;42:44-84.
21. Masland RH. The fundamental plan of the retina. *Nat Neurosci*. 2001;4(9):877-86.
22. Martínez-Lapiscina EH, Sanchez-Dalmau B, Fraga-Pumar E, Ortiz-Perez S, Tercero-Uribe AI, Torres-Torres R, et al. The visual pathway as a model to understand brain damage in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*. 2014;20(13):1678-85.
23. Gupta D, Chen PP. Glaucoma. *Am Fam Physician*. 2016;93(8):668-74.
24. Gauthier AC, Liu J. Neurodegeneration and Neuroprotection in Glaucoma. *Yale J Biol Med*. 2016;89(1):73-9.
25. World Health O. *ICD-10 : international statistical classification of diseases and related health problems / World Health Organization*. Geneva: World Health Organization; 2004.
26. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*. 2021;9(2):e144-e60.
27. Gitler AD, Dhillon P, Shorter J. Neurodegenerative disease: models, mechanisms, and a new hope. *Dis Model Mech*. 2017;10(5):499-502.
28. Kaur G, Singh NK. The Role of Inflammation in Retinal Neurodegeneration and Degenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;23(1).
29. Jung S, Bosch A, Kohler N, Ott C, Kannenkeril D, Dienemann T, et al. Evidence of neurodegeneration in individuals with only mildly elevated blood pressure. *J Hypertens*. 2019;37(12):2389-97.
30. Nam KY, Lee MW, Jun JH, Sung JY, Kim JY. Different characteristics of retinal damage between chronic hypertension and hypertensive retinopathy. *Sci Rep*. 2022;12(1):18902.
31. Allison K, Patel D, Alabi O. Epidemiology of Glaucoma: The Past, Present, and Predictions for the Future. *Cureus*. 2020;12(11):e11686.

32. Stein JD, Khawaja AP, Weizer JS. Glaucoma in Adults-Screening, Diagnosis, and Management: A Review. *Jama*. 2021;325(2):164-74.
33. Prum BE, Jr., Rosenberg LF, Gedde SJ, Mansberger SL, Stein JD, Moroi SE, et al. Primary Open-Angle Glaucoma Preferred Practice Pattern(®) Guidelines. *Ophthalmology*. 2016;123(1):P41-p111.
34. Sekhar GC. Glaucoma definition: Implications for equitable care. *Indian J Ophthalmol*. 2021;69(5):1025-6.
35. Nickells RW, Howell GR, Soto I, John SW. Under pressure: cellular and molecular responses during glaucoma, a common neurodegeneration with axonopathy. *Annu Rev Neurosci*. 2012;35:153-79.
36. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. *Lancet*. 2017;390(10108):2183-93.
37. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *Jama*. 2014;311(18):1901-11.
38. McMenemy MG. Primary Open Angle Glaucoma. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 399-419.
39. Mahabadi N, Foris LA, Tripathy K. Open Angle Glaucoma. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing  
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
40. Cyrilin MN. Primary and Secondary Angle-Closure Glaucomas. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 461-87.
41. Scuderi G, Contestabile MT, Scuderi L, Librando A, Fencia V, Rahimi S. Pigment dispersion syndrome and pigmentary glaucoma: a review and update. *International Ophthalmology*. 2019;39(7):1651-62.
42. Konstas AGP, Holló G, Ritch R. Exfoliation Syndrome and Glaucoma. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 507-16.
43. Minckler D. Neovascular Glaucoma. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 517-25.

44. Lupinacci APC, Barnebey H, Netland PA. Neuroprotection of Retinal Ganglion Cells. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 647-50.
45. Quigley HA. Glaucoma. *Lancet*. 2011;377(9774):1367-77.
46. Khazaeni B, Khazaeni L. Acute Closed Angle Glaucoma. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing  
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
47. Medeiros FA. Evaluating the Optic Nerve for Glaucomatous Progression. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 203-7.
48. Longmuir R. Gonioscopy. In: Schacknow PN, Samples JR, editors. *The Glaucoma Book: A Practical, Evidence-Based Approach to Patient Care*. New York, NY: Springer New York; 2010. p. 283-91.
49. Inman DM, Sappington RM, Horner PJ, Calkins DJ. Quantitative correlation of optic nerve pathology with ocular pressure and corneal thickness in the DBA/2 mouse model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(3):986-96.
50. Duncan DS, McLaughlin WM, Vasilakes N, Echevarria FD, Formichella CR, Sappington RM. Constitutive and Stress-induced Expression of CCL5 Machinery in Rodent Retina. *J Clin Cell Immunol*. 2017;8(3).
51. Ahn HR, Yang JW, Kim JY, Lee CY, Kim TJ, Jung SH. The Intraocular Pressure-Lowering Effect of Persimmon leaves (*Diospyros kaki*) in a Mouse Model of Glaucoma. *Int J Mol Sci*. 2019;20(21).
52. Noailles A, Kutsyr O, Mayordomo-Febrer A, Lax P, López-Murcia M, Sanz-González SM, et al. Sodium Hyaluronate-Induced Ocular Hypertension in Rats Damages the Direction-Selective Circuit and Inner/Outer Retinal Plexiform Layers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2022;63(5):2.
53. Lazzara F, Amato R, Platania CBM, Conti F, Chou TH, Porciatti V, et al. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D(3) protects retinal ganglion cells in glaucomatous mice. *J Neuroinflammation*. 2021;18(1):206.
54. Rudzinski M, Wong TP, Saragovi HU. Changes in retinal expression of neurotrophins and neurotrophin receptors induced by ocular hypertension. *J Neurobiol*. 2004;58(3):341-54.
55. Ursea R, Silverman RH. Anterior-segment imaging for assessment of glaucoma. *Expert Rev Ophthalmol*. 2010;5(1):59-74.
56. Miglior S. GDx in glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand Suppl*. 2002;236:36-40.

57. Wilsey LJ, Fortune B. Electrorretinography in glaucoma diagnosis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2016;27(2):118-24.
58. Niżankowska MH. Jaskra. Ogólne postępowanie lekarskie i leczenie farmakologiczne: *Medycyna Praktyczna*; 2016 [Available from: <https://www.mp.pl/okulistyka/okulistyka-dla-nieokulistow/artykuly/140912,jaskra-ogolne-postepowanie-lekarskie-i-leczenie-farmakologiczne>].
59. Storgaard L, Tran TL, Freiberg JC, Hauser AS, Kolko M. Glaucoma Clinical Research: Trends in Treatment Strategies and Drug Development. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:733080.
60. Lusthaus J, Goldberg I. Current management of glaucoma. *Med J Aust.* 2019;210(4):180-7.
61. Lim R. The surgical management of glaucoma: A review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2022;50(2):213-31.
62. Conlon R, Saheb H, Ahmed, II. Glaucoma treatment trends: a review. *Can J Ophthalmol.* 2017;52(1):114-24.
63. Richardson P, Cooper RL. Laser iridotomy. *Aust N Z J Ophthalmol.* 1987;15(2):119-23.
64. Zhou B, Carrillo-Larco RM, Danaei G, Riley LM, Paciorek CJ, Stevens GA, et al. Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *The Lancet.* 2021;398(10304):957-80.
65. Modi P, Arsiwalla T. Hypertensive Retinopathy. *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*  
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
66. Schuster AK-G, Hoh S, Neubert K, Haj Ibrahim A, Nickels S, Korb CA, et al. Prevalence of hypertensive retinopathy and its risk for mortality – results from the Gutenberg Health Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2020;61(7):1308-.
67. Srijana Thapa Godar KRK. Prevalence and Risk Factors of Hypertensive Retinopathy in Hypertensive Patients in a Tertiary Hospital of Gandaki Province of Nepal. *Journal of Lumbini Medical College.* 2020;8(2):270–4.
68. Tsukikawa M, Stacey AW. A Review of Hypertensive Retinopathy and Chorioretinopathy. *Clin Optom (Auckl).* 2020;12:67-73.
69. Savoia C, Schiffrin EL. Hypertensive vascular disease. *Hypertension.* p. 132-50.
70. Renna NF, de las Heras N, Miatello RM. Pathophysiology of Vascular Remodeling in Hypertension. *International Journal of Hypertension.* 2013;2013:808353.

71. McDonald L, Lee GR, DeGooyer TE, McDonald D, Canning P, Kelso EJ, et al. Effects of an endothelin receptor antagonist on a model of hypertensive retinopathy. *Ophthalmic Res.* 2010;43(2):99-107.
72. Harjasouliha A, Raiji V, Garcia Gonzalez JM. Review of hypertensive retinopathy. *Dis Mon.* 2017;63(3):63-9.
73. Di Marco E, Aiello F, Lombardo M, Di Marino M, Missiroli F, Mancino R, et al. A literature review of hypertensive retinopathy: systemic correlations and new technologies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(18):6424-43.
74. Kumar Gupta S, Kumar B, Srinivasan BP, Nag TC, Srivastava S, Saxena R, et al. Retinoprotective effects of *Moringa oleifera* via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-angiogenic mechanisms in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2013;29(4):419-26.
75. Kumar B, Gupta SK, Srinivasan BP, Nag TC, Srivastava S, Saxena R. Hesperetin ameliorates hyperglycemia induced retinal vasculopathy via anti-angiogenic effects in experimental diabetic rats. *Vascul Pharmacol.* 2012;57(5-6):201-7.
76. Mori A, Saito M, Sakamoto K, Narita M, Nakahara T, Ishii K. Stimulation of prostanoid IP and EP(2) receptors dilates retinal arterioles and increases retinal and choroidal blood flow in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007;570(1-3):135-41.
77. Li Y, Wang Q, Muir ER, Kiel JW, Duong TQ. Retinal Vascular and Anatomical Features in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Current Eye Research.* 2020;45(11):1422-9.
78. Sun J, Huang X, Egwuagu C, Badr Y, Dryden SC, Fowler BT, et al. Identifying Mouse Autoimmune Uveitis from Fundus Photographs Using Deep Learning. *Transl Vis Sci Technol.* 2020;9(2):59.
79. Dziędziak J, Zaleska-Żmijewska A, Szaflik JP, Cudnoch-Jędrzejewska A. Impact of Arterial Hypertension on the Eye: A Review of the Pathogenesis, Diagnostic Methods, and Treatment of Hypertensive Retinopathy. *Med Sci Monit.* 2022;28:e935135.
80. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9(th) edition. *Diabetes Res Clin Pract.* 2019;157:107843.
81. Faselis C, Katsimardou A, Imprialos K, Deligkaris P, Kallistratos M, Dimitriadis K. Microvascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Curr Vasc Pharmacol.* 2020;18(2):117-24.



82. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-64.
83. Simó R. State-of-the-Art Research on Diabetic Retinopathy. *J Clin Med*. 2022;11(13).
84. Lin KY, Hsieh WH, Lin YB, Wen CY, Chang TJ. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy. *J Diabetes Investig*. 2021;12(8):1322-5.
85. Kusuhara S, Fukushima Y, Ogura S, Inoue N, Uemura A. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy: The Old and the New. *dmj*. 2018;42(5):364-76.
86. Wang W, Lo ACY. Diabetic Retinopathy: Pathophysiology and Treatments. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6).
87. Sachdeva MM. Retinal Neurodegeneration in Diabetes: an Emerging Concept in Diabetic Retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2021;21(12):65.
88. Cohen SR, Gardner TW. Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema.
89. Wong TY, Sun J, Kawasaki R, Ruamviboonsuk P, Gupta N, Lansingh VC, et al. Guidelines on Diabetic Eye Care: The International Council of Ophthalmology Recommendations for Screening, Follow-up, Referral, and Treatment Based on Resource Settings. *Ophthalmology*. 2018;125(10):1608-22.
90. Lechner J, O'Leary OE, Stitt AW. The pathology associated with diabetic retinopathy. *Vision Research*. 2017;139:7-14.
91. Wong TY, Cheung CM, Larsen M, Sharma S, Simó R. Diabetic retinopathy. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16012.
92. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376(9735):124-36.
93. Flaxel CJ, Adelman RA, Bailey ST, Fawzi A, Lim JI, Vemulakonda GA, et al. Diabetic Retinopathy Preferred Practice Pattern®. *Ophthalmology*. 2020;127(1):P66-p145.
94. El Rami H, Barham R, Sun JK, Silva PS. Evidence-Based Treatment of Diabetic Retinopathy. *Semin Ophthalmol*. 2017;32(1):67-74.
95. Stitt AW, Curtis TM, Chen M, Medina RJ, McKay GJ, Jenkins A, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2016;51:156-86.
96. Cuello AC, Pentz R, Hall H. The Brain NGF Metabolic Pathway in Health and in Alzheimer's Pathology. *Front Neurosci*. 2019;13:62.

97. Wang Y, Liu H, Zhang BS, Soares JC, Zhang XY. Low BDNF is associated with cognitive impairments in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2016;29:66-71.
98. Barker RA, Björklund A, Gash DM, Whone A, Van Laar A, Kordower JH, et al. GDNF and Parkinson's Disease: Where Next? A Summary from a Recent Workshop. *J Parkinsons Dis.* 2020;10(3):875-91.
99. Fudalej E, Justyniarska M, Kasarełło K, Dziedziak J, Szaflik JP, Cudnoch-Jędrzejewska A. Neuroprotective Factors of the Retina and Their Role in Promoting Survival of Retinal Ganglion Cells: A Review. *Ophthalmic Res.* 2021;64(3):345-55.
100. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci.* 2013;14(1):7-23.
101. Marie C, Pedard M, Quirié A, Tessier A, Garnier P, Totoson P, et al. Brain-derived neurotrophic factor secreted by the cerebral endothelium: A new actor of brain function? *J Cereb Blood Flow Metab.* 2018;38(6):935-49.
102. Iu ECY, Chan CB. Is Brain-Derived Neurotrophic Factor a Metabolic Hormone in Peripheral Tissues? *Biology (Basel).* 2022;11(7).
103. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cell Mol Neurobiol.* 2018;38(3):579-93.
104. Feng L, Chen H, Yi J, Troy JB, Zhang HF, Liu X. Long-Term Protection of Retinal Ganglion Cells and Visual Function by Brain-Derived Neurotrophic Factor in Mice With Ocular Hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(8):3793-802.
105. Caleo M, Menna E, Chierzi S, Cenni MC, Maffei L. Brain-derived neurotrophic factor is an anterograde survival factor in the rat visual system. *Curr Biol.* 2000;10(19):1155-61.
106. Telegina DV, Kolosova NG, Kozhevnikova OS. Immunohistochemical localization of NGF, BDNF, and their receptors in a normal and AMD-like rat retina. *BMC Med Genomics.* 2019;12(Suppl 2):48.
107. Ghazi-Nouri SM, Ellis JS, Moss S, Limb GA, Charteris DG. Expression and localisation of BDNF, NT4 and TrkB in proliferative vitreoretinopathy. *Exp Eye Res.* 2008;86(5):819-27.
108. Liu X, Grishanin RN, Tolwani RJ, Rentería RC, Xu B, Reichardt LF, et al. Brain-derived neurotrophic factor and TrkB modulate visual experience-dependent refinement of neuronal pathways in retina. *J Neurosci.* 2007;27(27):7256-67.

109. Xu L, Zhang Z, Xie T, Zhang X, Dai T. Inhibition of BDNF-AS Provides Neuroprotection for Retinal Ganglion Cells against Ischemic Injury. *PLoS One*. 2016;11(12):e0164941.
110. Domenici L, Origlia N, Falsini B, Cerri E, Barloscio D, Fabiani C, et al. Rescue of retinal function by BDNF in a mouse model of glaucoma. *PLoS One*. 2014;9(12):e115579.
111. Frank L, Ventimiglia R, Anderson K, Lindsay RM, Rudge JS. BDNF down-regulates neurotrophin responsiveness, TrkB protein and TrkB mRNA levels in cultured rat hippocampal neurons. *Eur J Neurosci*. 1996;8(6):1220-30.
112. Knusel B, Gao H, Okazaki T, Yoshida T, Mori N, Hefti F, et al. Ligand-induced down-regulation of Trk messenger RNA, protein and tyrosine phosphorylation in rat cortical neurons. *Neuroscience*. 1997;78(3):851-62.
113. Sommerfeld MT, Schweigreiter R, Barde YA, Hoppe E. Down-regulation of the neurotrophin receptor TrkB following ligand binding. Evidence for an involvement of the proteasome and differential regulation of TrkA and TrkB. *J Biol Chem*. 2000;275(12):8982-90.
114. Osborne A, Khatib TZ, Songra L, Barber AC, Hall K, Kong GYX, et al. Neuroprotection of retinal ganglion cells by a novel gene therapy construct that achieves sustained enhancement of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase receptor-B signaling. *Cell Death Dis*. 2018;9(10):1007.
115. Bai Y, Xu J, Brahimi F, Zhuo Y, Sarunic MV, Saragovi HU. An agonistic TrkB mAb causes sustained TrkB activation, delays RGC death, and protects the retinal structure in optic nerve axotomy and in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(9):4722-31.
116. Chitranshi N, Dheer Y, Mirzaei M, Wu Y, Salekdeh GH, Abbasi M, et al. Loss of Shp2 Rescues BDNF/TrkB Signaling and Contributes to Improved Retinal Ganglion Cell Neuroprotection. *Mol Ther*. 2019;27(2):424-41.
117. Ribeiro DE, Müller HK, Elfving B, Eskelund A, Joca SR, Wegener G. Antidepressant-like effect induced by P2X7 receptor blockade in FSL rats is associated with BDNF signalling activation. *J Psychopharmacol*. 2019;33(11):1436-46.
118. Dutot M, Olivier E, Wakx A, Rat P. The Role of the P2X7 Receptor in Ocular Stresses: A Potential Therapeutic Target. *Vision (Basel)*. 2017;1(2).
119. Cieślak M, Wojtczak A. Role of purinergic receptors in the Alzheimer's disease. *Purinergic Signal*. 2018;14(4):331-44.
120. Ryu JK, McLarnon JG. Block of purinergic P2X(7) receptor is neuroprotective in an animal model of Alzheimer's disease. *Neuroreport*. 2008;19(17):1715-9.

121. Romano GL, Amato R, Lazzara F, Porciatti V, Chou TH, Drago F, et al. P2X7 receptor antagonism preserves retinal ganglion cells in glaucomatous mice. *Biochem Pharmacol.* 2020;180:114199.
122. Fletcher EL, Wang AY, Jobling AI, Rutar MV, Greferath U, Gu B, et al. Targeting P2X7 receptors as a means for treating retinal disease. *Drug Discov Today.* 2019;24(8):1598-605.
123. Chen JF. Adenosine receptor control of cognition in normal and disease. *Int Rev Neurobiol.* 2014;119:257-307.
124. Mark T, Ohio State U, University of California SD. A Clinical Trial of AAV2-BDNF Gene Therapy in Early Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment 2025 [updated October 1. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05040217>.
125. Aarão TLS, de Sousa JR, Falcão ASC, Falcão LFM, Quaresma JAS. Nerve Growth Factor and Pathogenesis of Leprosy: Review and Update. *Front Immunol.* 2018;9:939.
126. Tirassa P, Rosso P, Iannitelli A. Ocular Nerve Growth Factor (NGF) and NGF Eye Drop Application as Paradigms to Investigate NGF Neuroprotective and Reparative Actions. *Methods Mol Biol.* 2018;1727:19-38.
127. Bai Y, Sivori D, Woo SB, Neet KE, Lerner SF, Saragovi HU. During Glaucoma,  $\alpha$ 2-Macroglobulin Accumulates in Aqueous Humor and Binds to Nerve Growth Factor, Neutralizing Neuroprotection. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2011;52(8):5260-5.
128. Mesentier-Louro LA, De Nicolò S, Rosso P, De Vitis LA, Castoldi V, Leocani L, et al. Time-Dependent Nerve Growth Factor Signaling Changes in the Rat Retina During Optic Nerve Crush-Induced Degeneration of Retinal Ganglion Cells. *Int J Mol Sci.* 2017;18(1).
129. Shi Z, Birman E, Saragovi HU. Neurotrophic rationale in glaucoma: a TrkA agonist, but not NGF or a p75 antagonist, protects retinal ganglion cells in vivo. *Dev Neurobiol.* 2007;67(7):884-94.
130. Bai Y, Dergham P, Nedev H, Xu J, Galan A, Rivera JC, et al. Chronic and acute models of retinal neurodegeneration TrkA activity are neuroprotective whereas p75NTR activity is neurotoxic through a paracrine mechanism. *J Biol Chem.* 2010;285(50):39392-400.
131. Guo L, Davis BM, Ravindran N, Galvao J, Kapoor N, Haamedi N, et al. Topical recombinant human Nerve growth factor (rh-NGF) is neuroprotective to retinal ganglion cells by targeting secondary degeneration. *Sci Rep.* 2020;10(1):3375.
132. University GdA. An 8-week Follow-up to Evaluate the Renewal of Corneal Nerves Structure and Function in Patients With Neurotrophic Keratopathy Treated With Recombinant

Human Nerve Growth Factor (rhNGF) Eyedrops 2018 [updated November 30. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04293549>.

133. Stanford U. Nerve Growth Factor for the Treatment of Cornea Disease 2021 [updated May 4. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04552730>.

134. Ospedale San R, Dompé Farmaceutici SpA. Nerve Growth Factor Eye Drops Treatment in Patients With Retinitis Pigmentosa and Cystoid Macular Edema 2017 [updated February. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02609165>.

135. Dompé Farmaceutici SpA, Cross Research SA. Safety and Efficacy of rhNGF Eye Drops at Different Doses in Patients With Dry Eye 2015 [updated January. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02101281>.

136. Dompé Farmaceutici SpA, Cromosome. Study to Evaluate Safety and Efficacy of rhNGF Eye Drops Solution Versus Vehicle in Patients With Glaucoma 2018 [updated May. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02855450>.

137. Dompé Farmaceutici SpA. Study to Evaluate Safety and Efficacy of Cenegermin (Oxervate®) vs Vehicle in Severe Sjogren's Dry Eye Disease (NGF0121 - PROTEGO-1 Study) 2023 [updated January. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05133180>.

138. Dompé Farmaceutici SpA. Study to Evaluate Safety and Efficacy of Cenegermin (Oxervate®) vs Vehicle in Severe Sjogren's Dry Eye Disease (NGF0221 - PROTEGO-2 Study) 2023 [updated June. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05136170>.

139. Dompé Farmaceutici SpA. An 8-week Study to Evaluate Safety and Efficacy of NGF Eye Drops Solution Versus Vehicle in Patients With Dry Eye 2017 [updated August 31. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03019627>.

140. Dompé Farmaceutici SpA. A 8 Weeks Study to Evaluate Efficacy & Safety of rhNGF vs Vehicle in Patients After Cataract and Refractive Surgery 2017 [updated September 4. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03035864>.

141. Dompé Farmaceutici SpA. Evaluation of Safety and Efficacy of rhNGF in Patients With Stage 2 and 3 Neurotrophic Keratitis 2015 [updated April. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT01756456>.

142. Dompé Farmaceutici SpA. A Dose Ranging Study to Evaluate the Safety and Potential Efficacy of rhNGF in Patients With Retinitis Pigmentosa (RP) 2015 [updated November. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02110225>.

143. Beijing Tongren H. The Phase I Study of Recombinant Human Nerve Growth Factor Injection 2021 [updated December 31. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04232332>.

144. Alcon R. Evaluation of Safety and Tolerability of Ocular Lubricants 2023 [updated May. Available from: <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05573360>.
145. Schnichels S, Paquet-Durand F, Löscher M, Tsai T, Hurst J, Joachim SC, et al. Retina in a dish: Cell cultures, retinal explants and animal models for common diseases of the retina. *Prog Retin Eye Res.* 2021;81:100880.
146. Struebing FL, Geisert EE. What Animal Models Can Tell Us About Glaucoma. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;134:365-80.
147. Bouhenni RA, Dunmire J, Sewell A, Edward DP. Animal models of glaucoma. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:692609.
148. Wierzbicki M. Modele zwierzęce w badaniach medycznych, biologicznych i zootechnicznych. *Przegląd Hodowlany.* 2014(6):26-8.
149. Pang IH, Clark AF. Inducible rodent models of glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2020;75:100799.
150. Biswas S, Wan KH. Review of rodent hypertensive glaucoma models. *Acta Ophthalmol.* 2019;97(3):e331-e40.
151. Cameron EG, Xia X, Galvao J, Ashouri M, Kapiloff MS, Goldberg JL. Optic Nerve Crush in Mice to Study Retinal Ganglion Cell Survival and Regeneration. *Bio Protoc.* 2020;10(6).
152. Fernandes KA, Harder JM, Williams PA, Rausch RL, Kiernan AE, Nair KS, et al. Using genetic mouse models to gain insight into glaucoma: Past results and future possibilities. *Exp Eye Res.* 2015;141:42-56.
153. Harada C, Kimura A, Guo X, Namekata K, Harada T. Recent advances in genetically modified animal models of glaucoma and their roles in drug repositioning. *Br J Ophthalmol.* 2019;103(2):161-6.
154. Burroughs SL, Kaja S, Koulen P. Quantification of deficits in spatial visual function of mouse models for glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(6):3654-9.
155. McKinnon SJ, Schlamp CL, Nickells RW. Mouse models of retinal ganglion cell death and glaucoma. *Exp Eye Res.* 2009;88(4):816-24.
156. The Jackson Laboratory. DBA/2J 2023 [Available from: <https://www.jax.org/strain/000671>.
157. Inman DM, Horner PJ. Reactive nonproliferative gliosis predominates in a chronic mouse model of glaucoma. *Glia.* 2007;55(9):942-53.

158. Libby RT, Anderson MG, Pang I-H, Robinson ZH, Savinova OV, Cosma IM, et al. Inherited glaucoma in DBA/2J mice: Pertinent disease features for studying the neurodegeneration. *Visual Neuroscience*. 2005;22(5):637-48.
159. Turner AJ, Vander Wall R, Gupta V, Klistorner A, Graham SL. DBA/2J mouse model for experimental glaucoma: pitfalls and problems. *Clin Exp Ophthalmol*. 2017;45(9):911-22.
160. Johnson TV, Tomarev SI. Rodent models of glaucoma. *Brain Res Bull*. 2010;81(2-3):349-58.
161. Matteucci A, Ricceri L, Fabbri A, Fortuna A, Travaglione S, Guidotti M, et al. Eye Drop Instillation of the Rac1 Modulator CNF1 Attenuates Retinal Gliosis and Ameliorates Visual Performance in a Rat Model of Hypertensive Retinopathy. *Neuroscience*. 2019;411:119-29.
162. Reichhart N, Haase N, Crespo-Garcia S, Skosyrski S, Herrspiegel C, Kociok N, et al. Hypertensive retinopathy in a transgenic angiotensin-based model. *Clin Sci (Lond)*. 2016;130(13):1075-88.
163. Bouras K, Kopsidas K, Bariotakis M, Kitsiou P, Kapodistria K, Agrogiannis G, et al. Effects of Dietary Supplementation with Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Seed Oil on an Experimental Model of Hypertensive Retinopathy in Wistar Rats. *Biomed Hub*. 2017;2(1):1-12.
164. Wang S, Bai J, Zhang YL, Lin QY, Han X, Qu WK, et al. CXCL1-CXCR2 signalling mediates hypertensive retinopathy by inducing macrophage infiltration. *Redox Biol*. 2022;56:102438.
165. Wang S, Li J, Wang T, Bai J, Zhang YL, Lin QY, et al. Ablation of Immunoproteasome  $\beta 5i$  Subunit Suppresses Hypertensive Retinopathy by Blocking ATRAP Degradation in Mice. *Mol Ther*. 2020;28(1):279-92.
166. Hultström M. Development of structural kidney damage in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 2012;30(6):1087-91.
167. Hallböck M, Weiss L. Mechanisms of spontaneous hypertension in rats. *Med Clin North Am*. 1977;61(3):593-609.
168. Lerman LO, Kurtz TW, Touyz RM, Ellison DH, Chade AR, Crowley SD, et al. Animal Models of Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension*. 2019;73(6):e87-e120.
169. Carretero OA, Oparil S. Essential Hypertension. *Circulation*. 2000;101(3):329-35.
170. Olivares AM, Althoff K, Chen GF, Wu S, Morrisson MA, DeAngelis MM, et al. Animal Models of Diabetic Retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2017;17(10):93.

171. Pitale PM, Gorbatyuk MS. Diabetic Retinopathy: From Animal Models to Cellular Signaling. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3).
172. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes.* 1976;25(7):595-603.
173. Nahar N, Mohamed S, Mustapha NM, Lau S, Ishak NIM, Umran NS. Metformin attenuated histopathological ocular deteriorations in a streptozotocin-induced hyperglycemic rat model. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2021;394(3):457-67.
174. Ryu S, Yasunami Y. The necessity of differential immunosuppression for prevention of immune rejection by FK506 in rat islet allografts transplanted into the liver or beneath the kidney capsule. *Transplantation.* 1991;52(4):599-605.
175. Matuszewski W, Stefanowicz-Rutkowska MM, Szychlińska M, Bandurska-Stankiewicz E. Differences in Risk Factors for Diabetic Retinopathy in Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus Patients in North-East Poland. *Medicina.* 2020;56(4):177.
176. Kern TS, Miller CM, Tang J, Du Y, Ball SL, Berti-Matera L. Comparison of three strains of diabetic rats with respect to the rate at which retinopathy and tactile allodynia develop. *Mol Vis.* 2010;16:1629-39.
177. Grillo SL, Montgomery CL, Johnson HM, Koulen P. Quantification of Changes in Visual Function During Disease Development in a Mouse Model of Pigmentary Glaucoma. *J Glaucoma.* 2018;27(9):828-41.
178. Aragane Y, Higashino T, Kinoshita K, Ashenagar MS, Higashino H. Hypertension-Associated Genes in the Mesenteric Artery of Three Spontaneously Hypertensive Rat Substrains Identified Using a DNA Array Method. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2022;27(6):191.
179. Goharinia M, Zareei A, Rahimi M, Mirkhani H. Can allopurinol improve retinopathy in diabetic rats? Oxidative stress or uric acid; which one is the culprit? *Res Pharm Sci.* 2017;12(5):401-8.
180. He M, Long P, Yan W, Chen T, Guo L, Zhang Z, et al. ALDH2 attenuates early-stage STZ-induced aged diabetic rats retinas damage via Sirt1/Nrf2 pathway. *Life Sci.* 2018;215:227-35.
181. Wang QC, Sheng W, Yi CJ, Lv H, Cheng B. Retrobulbarly injecting nerve growth factor attenuates visual impairment in streptozotocin-induced diabetes rats. *Int Ophthalmol.* 2020;40(12):3501-11.
182. Chai GR, Liu S, Yang HW, Chen XL. Quercetin protects against diabetic retinopathy in rats by inducing heme oxygenase-1 expression. *Neural Regen Res.* 2021;16(7):1344-50.



183. Igarashi T, Miyake K, Kobayashi M, Kameya S, Fujimoto C, Nakamoto K, et al. Tyrosine triple mutated AAV2-BDNF gene therapy in a rat model of transient IOP elevation. *Mol Vis*. 2016;22:816-26.
184. Zhang W, Wang Y, Kong J, Dong M, Duan H, Chen S. Therapeutic efficacy of neural stem cells originating from umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in diabetic retinopathy. *Sci Rep*. 2017;7(1):408.
185. Dorfman D, Aranda ML, Rosenstein RE. Enriched Environment Protects the Optic Nerve from Early Diabetes-Induced Damage in Adult Rats. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136637.
186. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest*. 1998;102(4):783-91.
187. Steinle JJ, Kern TS, Thomas SA, McFadyen-Ketchum LS, Smith CP. Increased basement membrane thickness, pericyte ghosts, and loss of retinal thickness and cells in dopamine beta hydroxylase knockout mice. *Exp Eye Res*. 2009;88(6):1014-9.
188. Li Z, Goebel S, Reimann A, Ungerer M. Histo-ELISA technique for quantification and localization of tissue components. *Scientific Reports*. 2020;10(1):19849.
189. Buffault J, Labbé A, Hamard P, Brignole-Baudouin F, Baudouin C. The trabecular meshwork: Structure, function and clinical implications. A review of the literature. *J Fr Ophtalmol*. 2020;43(7):e217-e30.
190. Reichstein D, Ren L, Filippopoulos T, Mittag T, Danias J. Apoptotic retinal ganglion cell death in the DBA/2 mouse model of glaucoma. *Exp Eye Res*. 2007;84(1):13-21.
191. Buckingham BP, Inman DM, Lambert W, Oglesby E, Calkins DJ, Steele MR, et al. Progressive ganglion cell degeneration precedes neuronal loss in a mouse model of glaucoma. *J Neurosci*. 2008;28(11):2735-44.
192. Van Hook MJ. Influences of Glaucoma on the Structure and Function of Synapses in the Visual System. *Antioxid Redox Signal*. 2022;37(10-12):842-61.
193. Agostinone J, Di Polo A. Retinal ganglion cell dendrite pathology and synapse loss: Implications for glaucoma. *Prog Brain Res*. 2015;220:199-216.
194. Pease ME, McKinnon SJ, Quigley HA, Kerrigan-Baumrind LA, Zack DJ. Obstructed axonal transport of BDNF and its receptor TrkB in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(3):764-74.
195. Nickells RW. Ganglion cell death in glaucoma: from mice to men. *Vet Ophthalmol*. 2007;10 Suppl 1:88-94.

196. Filippopoulos T, Danias J, Chen B, Podos SM, Mittag TW. Topographic and morphologic analyses of retinal ganglion cell loss in old DBA/2NNia mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(5):1968-74.
197. Almasieh M, Wilson AM, Morquette B, Cueva Vargas JL, Di Polo A. The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2012;31(2):152-81.
198. Cifuentes-Canorea P, Ruiz-Medrano J, Gutierrez-Bonet R, Peña-Garcia P, Saenz-Frances F, Garcia-Feijoo J, et al. Analysis of inner and outer retinal layers using spectral domain optical coherence tomography automated segmentation software in ocular hypertensive and glaucoma patients. *PLoS One.* 2018;13(4):e0196112.
199. Meah A, Boodram V, Bucinca-Cupallari F, Lim H. Axonal architecture of the mouse inner retina revealed by second harmonic generation. *PNAS Nexus.* 2022;1(4):pgac160.
200. Tong J, Phu J, Alonso-Caneiro D, Khuu SK, Kalloniatis M. High sampling resolution optical coherence tomography reveals potential concurrent reductions in ganglion cell-inner plexiform and inner nuclear layer thickness but not in outer retinal thickness in glaucoma. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2023;43(1):46-63.
201. Kim EK, Park HL, Park CK. Relationship between Retinal Inner Nuclear Layer Thickness and Severity of Visual Field Loss in Glaucoma. *Sci Rep.* 2017;7(1):5543.
202. Jassim AH, Cavanaugh M, Shah JS, Willits R, Inman DM. Transcorneal Electrical Stimulation Reduces Neurodegenerative Process in a Mouse Model of Glaucoma. *Ann Biomed Eng.* 2021;49(2):858-70.
203. Chen H, Zheng G, Chen H, Li L, Xu Z, Xu L. Evaluations of aqueous humor protein markers in different types of glaucoma. *Medicine (Baltimore).* 2022;101(41):e31048.
204. Oddone F, Roberti G, Micera A, Busanello A, Bonini S, Quaranta L, et al. Exploring Serum Levels of Brain Derived Neurotrophic Factor and Nerve Growth Factor Across Glaucoma Stages. *PLoS One.* 2017;12(1):e0168565.
205. Shpak AA, Guekht AB, Druzhkova TA, Kozlova KI, Gulyaeva NV. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma and Age-related Cataract. *Curr Eye Res.* 2018;43(2):224-31.
206. Harper MM, Boese EA, Kardon RH, Ledolter J, Kuehn MH. High Correlation between Glaucoma Treatment with Topical Prostaglandin Analogs and BDNF Immunoreactivity in Human Retina. *Curr Eye Res.* 2021;46(5):739-45.
207. Igarashi T, Nakamoto K, Kobayashi M, Suzuki H, Arima T, Tobita Y, et al. Brain-derived Neurotrophic Factor in the Aqueous Humor of Glaucoma Patients. *J Nippon Med Sch.* 2021;88(2):128-32.

208. Igarashi T, Nakamoto K, Kobayashi M, Suzuki H, Tobita Y, Igarashi T, et al. Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor in Glaucoma Patients in Japan: An Observational Study. *J Nippon Med Sch.* 2021;87(6):339-45.
209. Park HL, Kim SW, Kim JH, Park CK. Increased levels of synaptic proteins involved in synaptic plasticity after chronic intraocular pressure elevation and modulation by brain-derived neurotrophic factor in a glaucoma animal model. *Dis Model Mech.* 2019;12(6).
210. González Fleitas MF, Dorfman D, Rosenstein RE. A novel viewpoint in glaucoma therapeutics: enriched environment. *Neural Regen Res.* 2022;17(7):1431-9.
211. Ren R, Li Y, Liu Z, Liu K, He S. Long-Term Rescue of Rat Retinal Ganglion Cells and Visual Function by AAV-Mediated BDNF Expression after Acute Elevation of Intraocular Pressure. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2012;53(2):1003-11.
212. Dekeyster E, Geeraerts E, Buyens T, Van den Haute C, Baekelandt V, De Groef L, et al. Tackling Glaucoma from within the Brain: An Unfortunate Interplay of BDNF and TrkB. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142067.
213. Wójcik-Gryciuk A, Gajewska-Woźniak O, Kordecka K, Boguszewski PM, Waleszczyk W, Skup M. Neuroprotection of Retinal Ganglion Cells with AAV2-BDNF Pretreatment Restoring Normal TrkB Receptor Protein Levels in Glaucoma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17).
214. Kimura A, Namekata K, Guo X, Harada C, Harada T. Neuroprotection, Growth Factors and BDNF-TrkB Signalling in Retinal Degeneration. *Int J Mol Sci.* 2016;17(9).
215. Lin B, Zhang X, Xu X. Nerve Growth Factor Protects Retinal Ganglion Cells Related to Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress by Inhibiting IRE1-JNK-CHOP Signaling Pathway. *Ocul Immunol Inflamm.* 2022;30(6):1341-6.
216. Colafrancesco V, Coassin M, Rossi S, Aloe L. Effect of eye NGF administration on two animal models of retinal ganglion cells degeneration. *Ann Ist Super Sanita.* 2011;47(3):284-9.
217. Coassin M, Lambiase A, Sposato V, Micera A, Bonini S, Aloe L. Retinal p75 and bax overexpression is associated with retinal ganglion cells apoptosis in a rat model of glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008;246(12):1743-9.
218. Nouredin BN, Al-Haddad CE, Bashshur Z, Safieh-Garabedian B. Plasma thymulin and nerve growth factor levels in patients with primary open angle glaucoma and elevated intraocular pressure. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006;244(6):750-2.
219. Murugesan V, Dwivedi R, Saini M, Gupta V, Dada T, Vivekanandhan S. Tear neuromediators in eyes on chronic topical antiglaucoma therapy with and without BAK preservatives. *Br J Ophthalmol.* 2021;105(1):141-8.

220. Chalam KV, Sharma RK, Murthy RK. Limitations in assessing nerve growth factor levels in aqueous humor samples from human eyes. *BMC Res Notes*. 2008;1:22.
221. Garcia TB, Hollborn M, Bringmann A. Expression and signaling of NGF in the healthy and injured retina. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017;34:43-57.
222. Ke Y, Huang L, Chen B, Sima J, Cao J, Li Q. Effects of Ultrasound Contrast Agent-Mediated Nerve Growth Factor on Apoptosis of Retinal Ganglion Cells in Mice with Glaucoma. *Comput Math Methods Med*. 2021;2021:6084496.
223. Lambiase A, Mantelli F, Bonini S. Nerve growth factor eye drops to treat glaucoma. *Drug News Perspect*. 2010;23(6):361-7.
224. Beykin G, Stell L, Halim MS, Nuñez M, Popova L, Nguyen BT, et al. Phase 1b Randomized Controlled Study of Short Course Topical Recombinant Human Nerve Growth Factor (rhNGF) for Neuroenhancement in Glaucoma: Safety, Tolerability, and Efficacy Measure Outcomes. *Am J Ophthalmol*. 2022;234:223-34.
225. Otani K, Yokoya M, Kodama T, Hori K, Matsumoto K, Okada M, et al. Plasma exosomes regulate systemic blood pressure in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;503(2):776-83.
226. Civantos B, Aleixandre A. Blood pressure and alpha-vascular reactivity in hypertensive rats treated with amlodipine and dietary Ca. *Eur J Pharmacol*. 2004;489(1-2):101-10.
227. Oddo EM, De Luca Sarobe V, Krmar R, Martín RS, Ibarra FR, Arrizurieta EE. Urinary kallikrein and blood pressure--gender-different response to potassium supplementation in SHR. Role of aldosterone. *Nephron Physiol*. 2008;108(3):p37-45.
228. Anishchenko AM, Aliev OI, Sidekhmenova AV, Shamanaev AY, Plotnikov MB. Dynamics of Blood Pressure Elevation and Endothelial Dysfunction in SHR Rats During the Development of Arterial Hypertension. *Bull Exp Biol Med*. 2015;159(5):591-3.
229. Majzunova M, Kvandova M, Berenyiova A, Balis P, Dovinova I, Cacanyiova S. Chronic NOS Inhibition Affects Oxidative State and Antioxidant Response Differently in the Kidneys of Young Normotensive and Hypertensive Rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:5349398.
230. Cho KH, Yadav D, Kim SJ, Kim JR. Blood Pressure Lowering Effect of Cuban Policosanol is Accompanied by Improvement of Hepatic Inflammation, Lipoprotein Profile, and HDL Quality in Spontaneously Hypertensive Rats. *Molecules*. 2018;23(5).
231. Mowry FE, Peaden SC, Stern JE, Biancardi VC. TLR4 and AT1R mediate blood-brain barrier disruption, neuroinflammation, and autonomic dysfunction in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacol Res*. 2021;174:105877.

232. Yang D, Zhang M, Huang X, Fang F, Chen B, Wang S, et al. Protection of retinal vasculature by losartan against apoptosis and vasculopathy in rats with spontaneous hypertension. *J Hypertens*. 2010;28(3):510-9.
233. Okamura N, Saito M, Mori A, Sakamoto K, Kametaka S, Nakahara T, et al. Vasodilator effects of fasudil, a Rho-kinase inhibitor, on retinal arterioles in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2007;23(3):207-12.
234. Ruchoux MM, Droy-Lefaix MT, Bakri F, Guillemain J, Ruchoux P, Autret A. Cicletanine and hypertensive retinopathy. *Ophthalmic Res*. 1990;22(5):318-29.
235. Lin W-L, Essner E. Ultrastructural and permeability characteristics of retinal vessels in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 1988;226(6):559-66.
236. Yamori Y, Yoshida M, Yoshida H, Horie R. Ophthalmological approach to stroke in stroke-prone SHR [proceedings]. *Jpn Heart J*. 1977;18(4):569-70.
237. Liu S, Wang C, Lu J, Dai G, Che H, He W. Long-term inhibition of UCHL1 decreases hypertension and retinopathy in spontaneously hypertensive rats. *J Int Med Res*. 2021;49(6):3000605211020641.
238. Vaajanen A, Mervaala E, Oksala O, Vapaatalo H. Is there a relationship between blood pressure and intraocular pressure? An experimental study in hypertensive rats. *Curr Eye Res*. 2008;33(4):325-32.
239. Funk R, Rohen JW, Skolasinska K. Intraocular pressure and systemic blood pressure after administration of vasoactive substances in hypertensive and normal rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1985;223(3):145-9.
240. Skrzypecki J, Ufnal M. The Upright Body Position Increases Translaminar Pressure Gradient in Normotensive and Hypertensive Rats. *Curr Eye Res*. 2017;42(12):1634-7.
241. Skrzypecki J, Żera T, Ufnal M. Butyrate, a Gut Bacterial Metabolite, Lowers Intraocular Pressure in Normotensive But Not in Hypertensive Rats. *J Glaucoma*. 2018;27(9):823-7.
242. Klein BE, Klein R, Knudtson MD. Intraocular pressure and systemic blood pressure: longitudinal perspective: the Beaver Dam Eye Study. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(3):284-7.
243. Xu L, Wang H, Wang Y, Jonas JB. Intraocular pressure correlated with arterial blood pressure: the beijing eye study. *Am J Ophthalmol*. 2007;144(3):461-2.
244. Skrzypecki J, Grabska-Liberek I, Przybek J, Ufnal M. A common humoral background of intraocular and arterial blood pressure dysregulation. *Curr Med Res Opin*. 2018;34(3):521-9.

245. Amoureux S, Lorgis L, Sicard P, Girard C, Rochette L, Vergely C. Vascular BDNF expression and oxidative stress during aging and the development of chronic hypertension. *Fundam Clin Pharmacol*. 2012;26(2):227-34.
246. Ding J, Jiang C, Yang L, Wang X. Relationship and effect of miR-1-3p expression and BDNF level in patients with primary hypertension complicated with depression. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2022;68(1):67-74.
247. Nemcsik J, László A, Lénárt L, Eörsi D, Torzsa P, Kőrösi B, et al. Hyperthymic affective temperament and hypertension are independent determinants of serum brain-derived neurotrophic factor level. *Ann Gen Psychiatry*. 2016;15:17.
248. Golden E, Emiliano A, Maudsley S, Windham BG, Carlson OD, Egan JM, et al. Circulating Brain-Derived Neurotrophic Factor and Indices of Metabolic and Cardiovascular Health: Data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *PLOS ONE*. 2010;5(4):e10099.
249. Miller EM, Pomerleau F, Huettl P, Russell VA, Gerhardt GA, Glaser PE. The spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rat models of ADHD exhibit sub-regional differences in dopamine release and uptake in the striatum and nucleus accumbens. *Neuropharmacology*. 2012;63(8):1327-34.
250. Dupuy C, Castelnau P, Mavel S, Lefevre A, Nadal-Desbarats L, Bodard S, et al. SHR/NCrl rats as a model of ADHD can be discriminated from controls based on their brain, blood, or urine metabolomes. *Translational Psychiatry*. 2021;11(1):235.
251. Younan MR, Said SZ, Abd Alkarim, Samir M., Abd Alwahab WM. Effect of treatment by atomoxetine on the serum level of brain-derived neurotrophic factor in children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Minia Journal of Medical Research*. 2019;30(4):317-23.
252. Gumus C, Yazici IP, Yazici KU, Ustundag B. Increased Serum Brain-derived Neurotrophic Factor, Nerve Growth Factor, Glial-derived Neurotrophic Factor and Galanin Levels in Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder, and the Effect of 10 Weeks Methylphenidate Treatment. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2022;20(4):635-48.
253. Bilgiç A, Toker A, Işık Ü, Kılınç İ. Serum brain-derived neurotrophic factor, glial-derived neurotrophic factor, nerve growth factor, and neurotrophin-3 levels in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2017;26(3):355-63.
254. Scassellati C, Zanardini R, Tiberti A, Pezzani M, Valenti V, Effedri P, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD). *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2014;23(3):173-7.

255. Corominas-Roso M, Ramos-Quiroga JA, Ribases M, Sanchez-Mora C, Palomar G, Valero S, et al. Decreased serum levels of brain-derived neurotrophic factor in adults with attention-deficit hyperactivity disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2013;16(6):1267-75.
256. Tomoda F, Nitta A, Sugimori H, Koike T, Kinugawa K. Plasma and Urinary Levels of Nerve Growth Factor Are Elevated in Primary Hypertension. *Int J Hypertens.* 2022;2022:3003269.
257. Sherer TB, Neff PS, Hankins GR, Tuttle JB. Mechanisms of increased NGF production in vascular smooth muscle of the spontaneously hypertensive rat. *Exp Cell Res.* 1998;241(1):186-93.
258. Ueyama T, Hamada M, Hano T, Nishio I, Masuyama Y, Furukawa S. Increased nerve growth factor levels in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 1992;10(3):215-9.
259. Clemow DB, Spitsbergen JM, McCarty R, Steers WD, Tuttle JB. Arterial nerve growth factor (NGF) mRNA, protein, and vascular smooth muscle cell NGF secretion in hypertensive and hyperactive rats. *Exp Cell Res.* 1998;244(1):196-205.
260. Charchar FJ, Kapuscinski MK, Harrap SB. Nerve growth factor gene locus explains elevated renal nerve growth factor mRNA in young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1998;32(4):705-9.
261. Ohara M, Tomoda F, Koike T, Liu H, Uno K, Nitta A, et al. Pubertal administration of antiserum against nerve growth factor regresses renal vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2015;42(6):687-94.
262. Wu F, Zhao Y, Zhang H. Ocular Autonomic Nervous System: An Update from Anatomy to Physiological Functions. *Vision.* 2022;6(1):6.
263. Kiel JW. *Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease. The Ocular Circulation.* San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences Copyright © 2010 by Morgan & Claypool Life Sciences.; 2010.
264. Naderi A, Zahed R, Aghajanzpour L, Amoli FA, Lashay A. Long term features of diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Exp Eye Res.* 2019;184:213-20.
265. Kristinsson JK, Gottfredsdóttir MS, Stefánsson E. Retinal vessel dilatation and elongation precedes diabetic macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 1997;81(4):274-8.
266. Blair NP, Wanek J, Felder AE, Joslin CE, Kresovich JK, Lim JJ, et al. Retinal Oximetry and Vessel Diameter Measurements With a Commercially Available Scanning Laser Ophthalmoscope in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(12):5556-63.

267. Zhang L, Chu W, Zheng L, Li J, Ren Y, Xue L, et al. Zinc oxide nanoparticles from *Cyperus rotundus* attenuates diabetic retinopathy by inhibiting NLRP3 inflammasome activation in STZ-induced diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2020;34(12):e22583.
268. Su Q, Dong J, Zhang D, Yang L, Roy R. Protective Effects of the Bilobalide on Retinal Oxidative Stress and Inflammation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022;194(12):6407-22.
269. Hao J, Zhang H, Yu J, Chen X, Yang L. Methylene Blue Attenuates Diabetic Retinopathy by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation in STZ-Induced Diabetic Rats. *Ocul Immunol Inflamm*. 2019;27(5):836-43.
270. Li X, Yang Y, Song Y, Nie F, Fu C, Qin Y. Effect of Shuangdan Mingmu Capsule on Diabetic Retinopathy in Rats via Regulation of miRNAs. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2022;15:3181-94.
271. Thangaraju P, Chakrabarti A, Banerjee D, Hota D, Tamilselvan, Bhatia A, et al. Dual blockade of Renin Angiotensin system in reducing the early changes of diabetic retinopathy and nephropathy in a diabetic rat model. *N Am J Med Sci*. 2014;6(12):625-32.
272. Luan H, Roberts R, Sniegowski M, Goebel DJ, Berkowitz BA. Retinal thickness and subnormal retinal oxygenation response in experimental diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(1):320-8.
273. Zagon IS, Sassani JW, McLaughlin PJ. Insulin Treatment Ameliorates Impaired Corneal Reepithelialization in Diabetic Rats. *Diabetes*. 2006;55(4):1141-7.
274. Hayreh SS. Neovascular glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2007;26(5):470-85.
275. Shen JH, Ma Q, Shen SR, Xu GT, Das UN. Effect of  $\alpha$ -linolenic acid on streptozotocin-induced diabetic retinopathy indices in vivo. *Arch Med Res*. 2013;44(7):514-20.
276. Kim ST, Chung YY, Hwang HI, Shin HK, Choi R, Jun YH. Differential Expression of BDNF and BIM in Streptozotocin-induced Diabetic Rat Retina After Fluoxetine Injection. *In Vivo*. 2021;35(3):1461-6.
277. Feng Y, Wang R, Xu J, Sun J, Xu T, Gu Q, et al. Hydrogen-rich saline prevents early neurovascular dysfunction resulting from inhibition of oxidative stress in STZ-diabetic rats. *Curr Eye Res*. 2013;38(3):396-404.
278. Davarpanah M, Shokri-mashhadi N, Ziaei R, Saneei P. A systematic review and meta-analysis of association between brain-derived neurotrophic factor and type 2 diabetes and glycemic profile. *Scientific Reports*. 2021;11(1):13773.



279. Krabbe KS, Nielsen AR, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2007;50(2):431-8.
280. Ahmad MF, Naseem N, Rahman I, Imam N, Younus H, Pandey SK, et al. Naringin Attenuates the Diabetic Neuropathy in STZ-Induced Type 2 Diabetic Wistar Rats. *Life (Basel)*. 2022;12(12).
281. Zhang WX, Lin ZQ, Sun AL, Shi YY, Hong QX, Zhao GF. Curcumin Ameliorates the Experimental Diabetic Peripheral Neuropathy through Promotion of NGF Expression in Rats. *Chem Biodivers*. 2022;19(6):e202200029.
282. Ibán-Arias R, Lisa S, Poulaki S, Mastrodimou N, Charalampopoulos I, Gravanis A, et al. Effect of topical administration of the microneurotrophin BNN27 in the diabetic rat retina. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2019;257(11):2429-36.
283. Fico E, Rosso P, Triaca V, Segatto M, Lambiase A, Tirassa P. NGF Prevents Loss of TrkA/VEGFR2 Cells, and VEGF Isoform Dysregulation in the Retina of Adult Diabetic Rats. *Cells*. 2022;11(20).
284. Dalli T, Beker M, Terzioglu-Usak S, Akbas F, Elibol B. Thymoquinone activates MAPK pathway in hippocampus of streptozotocin-treated rat model. *Biomed Pharmacother*. 2018;99:391-401.
285. Wang Q-C, Sheng W, Yi C-J, Lv H, Cheng B. Retrobulbarly injecting nerve growth factor attenuates visual impairment in streptozotocin-induced diabetes rats. *International Ophthalmology*. 2020;40(12):3501-11.
286. Animalab. Szczur Lewis, LEW/Crl [Available from: <https://animalab.pl/szczur-lewis-lew-crl>].
287. Janvier Labs. LEWIS Rat 2019 [Available from: [https://janvier-labs.com/en/fiche\\_produit/lewis\\_rat/](https://janvier-labs.com/en/fiche_produit/lewis_rat/)].

## 10. Załączniki do pracy doktorskiej

Tabela 4. Analiza opisowa parametrów ocenianych w modelu jaskry (myszy szczepów DBA/2 i C57Bl/6).

Grupa	IOP [mm Hg] średnia ± SD (IQR)	RT [ $\mu$ m] średnia ± SD (IQR)	ONL/RT średnia ± SD (IQR)	OPL/RT średnia ± SD (IQR)	INL/RT średnia ± SD (IQR)	IPL/RT średnia ± SD (IQR)	cRGC średnia ± SD (IQR)	pRGC średnia ± SD (IQR)	BDNF oko [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	BDNF sur [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	NGF oko [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	NGF sur [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)
C57Bl/6_11t	15,93 ± 2,84 (14 – 17)	197,5 ± 26,22 (177,8 – 225)	0,349 ± 0,044 (0,333 – 0,372)	0,068 ± 0,008 (0,062 – 0,073)	0,223 ± 0,017 (0,21 – 0,235)	0,233 ± 0,043 (0,199 – 0,281)	54,67 ± 9,229 (46 – 60,25)	42,89 ± 7,545 (39 – 47,5)	0,421 ± 0,023 (0,397 – 0,433)	–	0,707 ± 0,027 (0,678 – 0,728)	–
C57Bl/6_10m	14,82 ± 2,05 (13 – 17)	179,9 ± 50,41 (127 – 226,5)	0,335 ± 0,063 (0,29 – 0,362)	0,063 ± 0,012 (0,053 – 0,073)	0,199 ± 0,029 (0,183 – 0,214)	0,274 ± 0,047 (0,24 – 0,326)	58,97 ± 24,58 (38 – 77,25)	39,17 ± 6,828 (34 – 43)	0,516 ± 0,066 (0,464 – 0,578)	0,173 ± 0,019 (0,158 – 0,186)	0,817 ± 0,112 (0,692 – 0,917)	0,475 ± 0,562 (0,163 – 1,058)
DBA/2_11t	12,77 ± 2,03 (11,75 – 14)	215,6 ± 43,78 (179,5 – 244,8)	0,377 ± 0,054 (0,343 – 0,409)	0,074 ± 0,017 (0,062 – 0,078)	0,233 ± 0,021 (0,219 – 0,244)	0,225 ± 0,048 (0,197 – 0,259)	56,77 ± 15,27 (49,75 – 64)	46,4 ± 7,89 (40,75 – 51,25)	0,33 ± 0,038 (0,308 – 0,362)	–	0,504 ± 0,036 (0,464 – 0,536)	–
DBA/2_10m_JAS	17 ± 2,51 (16 – 19)	110,3 ± 22,17 (89,9 – 124,5)	0,374 ± 0,06 (0,326 – 0,397)	0,06 ± 0,016 (0,049 – 0,07)	0,204 ± 0,026 (0,188 – 0,226)	0,274 ± 0,053 (0,23 – 0,319)	36,36 ± 11,1 (29 – 42)	28 ± 9,04 (19,75 – 33,25)	0,424 ± 0,082 (0,353 – 0,493)	0,172 ± 0,012 (0,162 – 0,18)	0,697 ± 0,087 (0,617 – 0,779)	0,379 ± 0,147 (0,268 – 0,565)
Wartości p w porównaniach między grupami												
C57Bl/6_11t vs. C57Bl/6_10m	0,790	>0,999	>0,999	0,548	<b>0,005</b>	<b>0,018</b>	>0,999	0,380	–	–	–	–
C57Bl/6_11t vs. DBA/2_11t	<b>&lt;0,001</b>	>0,999	0,159	>0,999	0,575	0,970	>0,999	0,439	–	–	–	–
DBA/2_11t vs. DBA/2_10m_JAS	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	>0,999	<b>0,018</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	–	–	–	–
C57Bl/6_10m vs. DBA/2_10m_JAS	<b>0,005</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,245	>0,999	0,924	>0,999	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	–	–	–	–

Skróty: IOP – ciśnienie śródgłowe; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrowej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrowej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna odczytywana przy długości fali 450 nm; SD – odchylenie standardowe; IQR - rozstęp międzykwartylowy

Tabela 5. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie C57Bl/6\_11t (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	IOP	RT	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	cRGC	pRGC
IOP	–	r = 0,252; CI = -0,703 – 0,883; R <sup>2</sup> = 0,064; p = 0,63	r = -0,407; CI = -0,916 – 0,604; R <sup>2</sup> = 0,166; p = 0,423	r = 0,131; p > 0,999	r = -0,078; CI = -0,837 – 0,783; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,883	r = 0,767; CI = -0,118 – 0,973; R <sup>2</sup> = 0,588; p = 0,075	r = 0,513; CI = -0,511 – 0,935; R <sup>2</sup> = 0,263; p = 0,298	r = 0,631; CI = -0,37 – 0,954; R <sup>2</sup> = 0,398; p = 0,179
RT	r = 0,252; CI = -0,703 – 0,883; R <sup>2</sup> = 0,064; p = 0,63	–	r = -0,41; CI = -0,917 – 0,602; R <sup>2</sup> = 0,168; p = 0,42	r = -0,655; p = 0,333	r = 0,593; CI = -0,421 – 0,948; R <sup>2</sup> = 0,352; p = 0,215	r = 0,404; CI = -0,606 – 0,916; R <sup>2</sup> = 0,164; p = 0,426	r = 0,534; CI = -0,49 – 0,939; R <sup>2</sup> = 0,285; p = 0,276	r = 0,588; CI = -0,427 – 0,948; R <sup>2</sup> = 0,346; p = 0,219
ONL/RT	r = -0,407; CI = -0,916 – 0,604; R <sup>2</sup> = 0,166; p = 0,423	r = -0,41; CI = -0,917 – 0,602; R <sup>2</sup> = 0,168; p = 0,42	–	r = -0,393; p = 0,667	r = -0,493; CI = -0,932 – 0,531; R <sup>2</sup> = 0,243; p = 0,32	r = -0,878; CI = -0,987 – 0,233; R <sup>2</sup> = 0,772; p = 0,021	r = 0,124; CI = -0,764 – 0,85; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,815	r = 0,094; CI = -0,777 – 0,841; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,86
OPL/RT	r = 0,131; p > 0,999	r = -0,655; p = 0,333	r = -0,393; p = 0,667	–	r = 0; p > 0,999	r = 0,133; p > 0,999	r = -0,664; p = 0,333	r = -0,664; p = 0,333
INL/RT	r = -0,078; CI = -0,837 – 0,783; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,883	r = 0,593; CI = -0,421 – 0,948; R <sup>2</sup> = 0,352; p = 0,215	r = -0,493; CI = -0,932 – 0,531; R <sup>2</sup> = 0,243; p = 0,32	r = 0; p > 0,999	–	r = 0,342; CI = -0,65 – 0,903; R <sup>2</sup> = 0,117; p = 0,506	r = -0,23; CI = -0,878 – 0,715; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,66	r = -0,095; CI = -0,842 – 0,776; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,857
IPL/RT	r = 0,767; CI = -0,118 – 0,973; R <sup>2</sup> = 0,588; p = 0,075	r = 0,404; CI = -0,606 – 0,916; R <sup>2</sup> = 0,164; p = 0,426	r = -0,878; CI = -0,987 – 0,233; R <sup>2</sup> = 0,772; p = 0,021	r = 0,133; p > 0,999	r = 0,342; CI = -0,65 – 0,903; R <sup>2</sup> = 0,117; p = 0,506	–	r = 0,198; CI = -0,731 – 0,87; R <sup>2</sup> = 0,039; p = 0,706	r = 0,27; CI = -0,693 – 0,887; R <sup>2</sup> = 0,073; p = 0,604
cRGC	r = 0,513; CI = -0,511 – 0,935; R <sup>2</sup> = 0,263; p = 0,298	r = 0,534; CI = -0,49 – 0,939; R <sup>2</sup> = 0,285; p = 0,276	r = 0,124; CI = -0,764 – 0,85; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,815	r = -0,664; p = 0,333	r = -0,23; CI = -0,878 – 0,715; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,66	r = 0,198; CI = -0,731 – 0,87; R <sup>2</sup> = 0,039; p = 0,706	–	r = 0,961; CI = 0,68 – 0,996; R <sup>2</sup> = 0,924; p = 0,002
pRGC	r = 0,631; CI = -0,37 – 0,954; R <sup>2</sup> = 0,398; p = 0,179	r = 0,588; CI = -0,427 – 0,948; R <sup>2</sup> = 0,346; p = 0,219	r = 0,093; CI = -0,777 – 0,841; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,86	r = -0,664; p = 0,333	r = -0,095; CI = -0,842 – 0,776; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,857	r = 0,27; CI = -0,693 – 0,887; R <sup>2</sup> = 0,073; p = 0,604	r = 0,961; CI = 0,68 – 0,996; R <sup>2</sup> = 0,924; p = 0,002	–

Skróty: IOP – ciśnienie śródgalkowe; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; CI – 95% przedział ufności

Tabela 6. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie C57Bl/6\_10m (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	IOP	RT	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	cRGC	pRGC
IOP	-	r = -0,17; CI = -0,75 – 0,557; R <sup>2</sup> = 0,029; p = 0,661	r = 0,61; CI = -0,091 – 0,907; R <sup>2</sup> = 0,372; p = 0,081	r = 0,262; CI = -0,487 – 0,789; R <sup>2</sup> = 0,069; p = 0,496	r = 0,556; CI = -0,179 – 0,89; R <sup>2</sup> = 0,303; p = 0,125	r = -0,021; CI = -0,676 – 0,652; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,958	r = -0,559; CI = -0,892 – 0,167; R <sup>2</sup> = 0,312; p = 0,118	r = -0,284; CI = -0,798 – 0,469; R <sup>2</sup> = 0,081; p = 0,459
RT	r = -0,17; CI = -0,75 – 0,557; R <sup>2</sup> = 0,029; p = 0,661	-	r = -0,603; CI = -0,893 – 0,043; R <sup>2</sup> = 0,364; p = 0,065	r = -0,639; CI = -0,905 – -0,016; R <sup>2</sup> = 0,409; p = 0,047	r = 0,13; CI = -0,544 – 0,702; R <sup>2</sup> = 0,017; p = 0,72	r = 0,595; CI = -0,055 – 0,891; R <sup>2</sup> = 0,354; p = 0,07	r = 0,406; CI = -0,3 – 0,825; R <sup>2</sup> = 0,165; p = 0,244	r = -0,144; CI = -0,709 – 0,534; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,692
ONL/RT	r = 0,61; CI = -0,091 – 0,907; R <sup>2</sup> = 0,372; p = 0,081	r = -0,603; CI = -0,893 – 0,043; R <sup>2</sup> = 0,364; p = 0,065	-	r = 0,745; CI = 0,217 – 0,936; R <sup>2</sup> = 0,555; p = 0,014	r = -0,026; CI = -0,645 – 0,614; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,943	r = -0,626; CI = -0,901 – 0,007; R <sup>2</sup> = 0,391; p = 0,053	r = -0,456; CI = -0,843 – 0,244; R <sup>2</sup> = 0,208; p = 0,186	r = 0,26; CI = -0,442 – 0,764; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,469
OPL/RT	r = 0,262; CI = -0,487 – 0,789; R <sup>2</sup> = 0,069; p = 0,496	r = -0,639; CI = -0,905 – -0,016; R <sup>2</sup> = 0,409; p = 0,047	r = 0,745; CI = 0,217 – 0,936; R <sup>2</sup> = 0,555; p = 0,014	-	r = 0,187; CI = -0,502 – 0,731; R <sup>2</sup> = 0,035; p = 0,605	r = -0,823; CI = -0,957 – -0,4; R <sup>2</sup> = 0,676; p = 0,004	r = -0,125; CI = -0,7 – 0,548; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,731	r = 0,109; CI = -0,559 – 0,691; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,765
INL/RT	r = 0,556; CI = -0,179 – 0,89; R <sup>2</sup> = 0,303; p = 0,125	r = 0,13; CI = -0,544 – 0,702; R <sup>2</sup> = 0,017; p = 0,72	r = -0,026; CI = -0,645 – 0,614; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,943	r = 0,187; CI = -0,502 – 0,731; R <sup>2</sup> = 0,035; p = 0,605	-	r = -0,083; CI = -0,677 – 0,577; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,821	r = -0,227; CI = -0,75 – 0,47; R <sup>2</sup> = 0,052; p = 0,528	r = -0,343; CI = -0,8 – 0,365; R <sup>2</sup> = 0,118; p = 0,332
IPL/RT	r = -0,021; CI = -0,676 – 0,652; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,958	r = 0,595; CI = -0,055 – 0,891; R <sup>2</sup> = 0,354; p = 0,07	r = -0,626; CI = -0,901 – 0,007; R <sup>2</sup> = 0,391; p = 0,053	r = -0,823; CI = -0,957 – -0,4; R <sup>2</sup> = 0,676; p = 0,004	r = -0,083; CI = -0,677 – 0,577; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,821	-	r = 0,225; CI = -0,472 – 0,748; R <sup>2</sup> = 0,05; p = 0,533	r = -0,174; CI = -0,724 – 0,512; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,63
cRGC	r = -0,559; CI = -0,892 – 0,167; R <sup>2</sup> = 0,312; p = 0,118	r = 0,406; CI = -0,3 – 0,825; R <sup>2</sup> = 0,165; p = 0,244	r = -0,456; CI = -0,843 – 0,244; R <sup>2</sup> = 0,208; p = 0,186	r = -0,125; CI = -0,7 – 0,548; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,731	r = -0,227; CI = -0,75 – 0,47; R <sup>2</sup> = 0,052; p = 0,528	r = 0,225; CI = -0,472 – 0,748; R <sup>2</sup> = 0,05; p = 0,533	-	r = 0,227; CI = -0,47 – 0,749; R <sup>2</sup> = 0,051; p = 0,529
pRGC	r = -0,284; CI = -0,798 – 0,469; R <sup>2</sup> = 0,081; p = 0,459	r = -0,144; CI = -0,709 – 0,534; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,692	r = 0,26; CI = -0,442 – 0,764; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,469	r = 0,109; CI = -0,559 – 0,691; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,765	r = -0,343; CI = -0,8 – 0,365; R <sup>2</sup> = 0,118; p = 0,332	r = -0,174; CI = -0,724 – 0,512; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,63	r = 0,227; CI = -0,47 – 0,749; R <sup>2</sup> = 0,051; p = 0,529	-

Skróty: IOP – ciśnienie śródgalkowe; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; CI – 95% przedział ufności

Tabela 7. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie DBA/2\_1It (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	IOP	RT	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	cRGC	pRGC
IOP	–	$r = 0,262$ ; $p = 0,463$	$r = 0,102$ ; $CI = -0,564 - 0,687$ ; $R^2 = 0,01$ ; $p = 0,78$	$r = 0,287$ ; $p = 0,415$	$r = 0,178$ ; $p = 0,62$	$r = -0,195$ ; $CI = -0,734 - 0,495$ ; $R^2 = 0,038$ ; $p = 0,589$	$r = 0,187$ ; $CI = -0,502 - 0,731$ ; $R^2 = 0,035$ ; $p = 0,605$	$r = -0,139$ ; $CI = -0,707 - 0,538$ ; $R^2 = 0,019$ ; $p = 0,702$
RT	$r = 0,262$ ; $p = 0,463$	–	$r = 0,28$ ; $p = 0,43$	$r = 0,386$ ; $p = 0,268$	$r = 0,303$ ; $p = 0,397$	$r = -0,448$ ; $p = 0,198$	$r = 0,345$ ; $p = 0,33$	$r = 0,321$ ; $p = 0,368$
ONL/RT	$r = 0,102$ ; $CI = -0,564 - 0,687$ ; $R^2 = 0,01$ ; $p = 0,78$	$r = 0,28$ ; $p = 0,43$	–	$r = 0,66$ ; $p = 0,043$	$r = -0,565$ ; $p = 0,093$	$r = -0,872$ ; $CI = -0,969 - 0,538$ ; $R^2 = 0,761$ ; $p = 0,001$	$r = -0,119$ ; $CI = -0,696 - 0,552$ ; $R^2 = 0,014$ ; $p = 0,744$	$r = -0,239$ ; $CI = -0,755 - 0,46$ ; $R^2 = 0,057$ ; $p = 0,507$
OPL/RT	$r = 0,287$ ; $p = 0,415$	$r = 0,386$ ; $p = 0,268$	$r = 0,66$ ; $p = 0,043$	–	$r = -0,139$ ; $p = 0,688$	$r = -0,603$ ; $p = 0,071$	$r = -0,272$ ; $p = 0,444$	$r = -0,26$ ; $p = 0,467$
INL/RT	$r = 0,178$ ; $p = 0,62$	$r = 0,303$ ; $p = 0,397$	$r = -0,565$ ; $p = 0,093$	$r = -0,139$ ; $p = 0,688$	–	$r = 0,23$ ; $p = 0,522$	$r = 0,114$ ; $p = 0,761$	$r = -0,114$ ; $p = 0,761$
IPL/RT	$r = -0,195$ ; $CI = -0,734 - 0,495$ ; $R^2 = 0,038$ ; $p = 0,589$	$r = -0,448$ ; $p = 0,198$	$r = -0,872$ ; $CI = -0,969 - 0,538$ ; $R^2 = 0,761$ ; $p = 0,001$	$r = -0,603$ ; $p = 0,071$	$r = 0,23$ ; $p = 0,522$	–	$r = 0,364$ ; $CI = -0,344 - 0,808$ ; $R^2 = 0,133$ ; $p = 0,301$	$r = 0,245$ ; $CI = -0,455 - 0,758$ ; $R^2 = 0,06$ ; $p = 0,495$
cRGC	$r = 0,187$ ; $CI = -0,502 - 0,731$ ; $R^2 = 0,035$ ; $p = 0,605$	$r = 0,345$ ; $p = 0,33$	$r = -0,119$ ; $CI = -0,696 - 0,552$ ; $R^2 = 0,014$ ; $p = 0,744$	$r = -0,272$ ; $p = 0,444$	$r = 0,114$ ; $p = 0,761$	$r = 0,364$ ; $CI = -0,344 - 0,808$ ; $R^2 = 0,133$ ; $p = 0,301$	–	$r = 0,192$ ; $CI = -0,498 - 0,733$ ; $R^2 = 0,037$ ; $p = 0,595$
pRGC	$r = -0,139$ ; $CI = -0,707 - 0,538$ ; $R^2 = 0,019$ ; $p = 0,702$	$r = 0,321$ ; $p = 0,368$	$r = -0,239$ ; $CI = -0,755 - 0,460$ ; $R^2 = 0,057$ ; $p = 0,507$	$r = -0,26$ ; $p = 0,467$	$r = -0,114$ ; $p = 0,761$	$r = 0,245$ ; $CI = -0,455 - 0,758$ ; $R^2 = 0,06$ ; $p = 0,495$	$r = 0,192$ ; $CI = -0,498 - 0,733$ ; $R^2 = 0,037$ ; $p = 0,595$	–

Skróty: IOP – ciśnienie śródgalkowe; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy splotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy splotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; CI – 95% przedział ufności

Tabela 8. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie DBA/2\_10m (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	IOP	RT	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	cRGC	pRGC
IOP	-	$r = 0,064$ ; $CI = -0,724 - 0,78$ ; $R^2 = 0,004$ ; $p = 0,891$	$r = -0,003$ ; $CI = -0,755 - 0,755$ ; $R^2 < 0,001$ ; $p = 0,995$	$r = -0,234$ ; $p = 0,62$	$r = -0,319$ ; $CI = -0,864 - 0,571$ ; $R^2 = 0,102$ ; $p = 0,485$	$r = 0,058$ ; $CI = -0,727 - 0,777$ ; $R^2 = 0,003$ ; $p = 0,901$	$r = 0,736$ ; $CI = -0,037 - 0,958$ ; $R^2 = 0,542$ ; $p = 0,059$	$r = 0,4812$ ; $CI = -0,426 - 0,906$ ; $R^2 = 0,232$ ; $p = 0,274$
RT	$r = 0,064$ ; $CI = -0,724 - 0,78$ ; $R^2 = 0,004$ ; $p = 0,891$	-	$r = -0,782$ ; $CI = -0,966 - 0,071$ ; $R^2 = 0,612$ ; $p = 0,038$	$r = -0,414$ ; $p = 0,357$	$r = -0,797$ ; $CI = -0,969 - 0,109$ ; $R^2 = 0,634$ ; $p = 0,032$	$r = 0,848$ ; $CI = 0,263 - 0,977$ ; $R^2 = 0,719$ ; $p = 0,016$	$r = 0,511$ ; $CI = -0,394 - 0,913$ ; $R^2 = 0,261$ ; $p = 0,242$	$r = 0,512$ ; $CI = -0,393 - 0,913$ ; $R^2 = 0,262$ ; $p = 0,241$
ONL/RT	$r = -0,003$ ; $CI = -0,755 - 0,755$ ; $R^2 < 0,001$ ; $p = 0,995$	$r = -0,782$ ; $CI = -0,966 - 0,071$ ; $R^2 = 0,612$ ; $p = 0,038$	-	$r = -0,679$ ; $p = 0,11$	$r = 0,39$ ; $CI = -0,514 - 0,884$ ; $R^2 = 0,152$ ; $p = 0,387$	$r = -0,939$ ; $CI = -0,991 - 0,633$ ; $R^2 = 0,881$ ; $p = 0,002$	$r = -0,555$ ; $CI = -0,923 - 0,341$ ; $R^2 = 0,308$ ; $p = 0,196$	$r = -0,446$ ; $CI = -0,898 - 0,462$ ; $R^2 = 0,199$ ; $p = 0,315$
OPL/RT	$r = -0,234$ ; $p = 0,62$	$r = -0,414$ ; $p = 0,357$	$r = -0,679$ ; $p = 0,11$	-	$r = 0,821$ ; $p = 0,034$	$r = -0,679$ ; $p = 0,11$	$r = -0,685$ ; $p = 0,098$	$r = -0,631$ ; $p = 0,143$
INL/RT	$r = -0,319$ ; $CI = -0,864 - 0,571$ ; $R^2 = 0,102$ ; $p = 0,485$	$r = -0,797$ ; $CI = -0,969 - 0,109$ ; $R^2 = 0,634$ ; $p = 0,032$	$r = 0,39$ ; $CI = -0,514 - 0,884$ ; $R^2 = 0,152$ ; $p = 0,387$	$r = 0,821$ ; $p = 0,034$	-	$r = -0,558$ ; $CI = -0,923 - 0,337$ ; $R^2 = 0,311$ ; $p = 0,193$	$r = -0,451$ ; $CI = -0,899 - 0,457$ ; $R^2 = 0,203$ ; $p = 0,31$	$r = -0,348$ ; $CI = -0,872 - 0,55$ ; $R^2 = 0,121$ ; $p = 0,445$
IPL/RT	$r = 0,058$ ; $CI = -0,727 - 0,777$ ; $R^2 = 0,003$ ; $p = 0,901$	$r = 0,848$ ; $CI = 0,263 - 0,977$ ; $R^2 = 0,719$ ; $p = 0,016$	$r = -0,939$ ; $CI = -0,991 - 0,633$ ; $R^2 = 0,881$ ; $p = 0,002$	$r = -0,679$ ; $p = 0,11$	$r = -0,558$ ; $CI = -0,923 - 0,337$ ; $R^2 = 0,311$ ; $p = 0,193$	-	$r = 0,656$ ; $CI = -0,192 - 0,943$ ; $R^2 = 0,43$ ; $p = 0,11$	$r = 0,62$ ; $CI = -0,249 - 0,936$ ; $R^2 = 0,385$ ; $p = 0,137$
cRGC	$r = 0,736$ ; $CI = -0,037 - 0,958$ ; $R^2 = 0,542$ ; $p = 0,059$	$r = 0,511$ ; $CI = -0,394 - 0,913$ ; $R^2 = 0,261$ ; $p = 0,242$	$r = -0,555$ ; $CI = -0,923 - 0,341$ ; $R^2 = 0,308$ ; $p = 0,196$	$r = -0,685$ ; $p = 0,098$	$r = -0,451$ ; $CI = -0,899 - 0,457$ ; $R^2 = 0,203$ ; $p = 0,31$	$r = 0,656$ ; $CI = -0,192 - 0,943$ ; $R^2 = 0,43$ ; $p = 0,11$	-	$r = 0,878$ ; $CI = 0,37 - 0,982$ ; $R^2 = 0,772$ ; $p = 0,009$
pRGC	$r = 0,4812$ ; $CI = -0,426 - 0,906$ ; $R^2 = 0,232$ ; $p = 0,274$	$r = 0,512$ ; $CI = -0,393 - 0,913$ ; $R^2 = 0,262$ ; $p = 0,241$	$r = -0,446$ ; $CI = -0,898 - 0,462$ ; $R^2 = 0,199$ ; $p = 0,315$	$r = -0,631$ ; $p = 0,143$	$r = -0,348$ ; $CI = -0,872 - 0,55$ ; $R^2 = 0,121$ ; $p = 0,445$	$r = 0,62$ ; $CI = -0,249 - 0,936$ ; $R^2 = 0,385$ ; $p = 0,137$	$r = 0,878$ ; $CI = 0,37 - 0,982$ ; $R^2 = 0,772$ ; $p = 0,009$	-

Skróty: IOP – ciśnienie śródgałkowe; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; CI – 95% przedział ufności

Tabela 9. Analiza opisowa parametrów ocenianych w modelu nadciśnienia tętniczego (szczury szczepów SHR i WKY).

Grupa	SBP [mm Hg] średnia ± SD (IQR)	DBP [mm Hg] średnia ± SD (IQR)	MAP [mm Hg] średnia ± SD (IQR)	IOP [mm Hg] średnia ± SD (IQR)	a/v średnia ± SD (IQR)	RT [μm] średnia ± SD (IQR)	ONL/RT średnia ± SD (IQR)	OPL/RT średnia ± SD (IQR)	INL/RT średnia ± SD (IQR)	IPL/RT średnia ± SD (IQR)	RGC średnia ± SD (IQR)	BDNF oko [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	BDNF sur [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	NGF oko [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	NGF sur [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)
WKY_6t	105,5 ± 23,38 (84,92 - 126)	68,52 ± 18,65 (52,17 - 89,01)	80,52 ± 19,79 (64,28 - 102,1)	15,22 ± 2,141 (13,75 - 16,92)	0,628 ± 0,08 (0,56 - 0,695)	220,9 ± 36,99 (197 - 249,5)	0,354 ± 0,059 (0,312 - 0,396)	0,047 ± 0,011 (0,039 - 0,057)	0,195 ± 0,02 (0,181 - 0,215)	0,279 ± 0,033 (0,253 - 0,305)	68,38 ± 11,43 (60,5 - 77,5)	0,267 ± 0,055 (0,233 - 0,282)	1,047 ± 0,378 (0,799 - 1,495)	0,154 ± 0,04 (0,122 - 0,185)	0,078 ± 0,006 (0,073 - 0,084)
WKY_12t	107,7 ± 27,81 (84,21 - 131,9)	72,36 ± 20,05 (56,8 - 86,33)	83,79 ± 22,47 (67,11 - 101,3)	14,74 ± 2,292 (13,04 - 16,05)	0,59 ± 0,104 (0,536 - 0,613)	232 ± 73,72 (150 - 298,8)	0,313 ± 0,029 (0,293 - 0,334)	0,046 ± 0,009 (0,04 - 0,054)	0,19 ± 0,026 (0,17 - 0,204)	0,315 ± 0,019 (0,303 - 0,322)	56,13 ± 10,13 (47,5 - 58,75)	0,265 ± 0,051 (0,221 - 0,299)	1,11 ± 0,214 (0,918 - 1,301)	0,152 ± 0,023 (0,136 - 0,175)	0,076 ± 0,019 (0,068 - 0,078)
SHR_6t	147,7 ± 27,34 (131 - 173,1)	108 ± 27,85 (86,09 - 132)	120,9 ± 27,41 (100,7 - 146,1)	14,67 ± 2,412 (13,04 - 15,92)	0,655 ± 0,066 (0,614 - 0,699)	198,5 ± 35,23 (160,5 - 218,3)	0,302 ± 0,033 (0,275 - 0,329)	0,037 ± 0,007 (0,031 - 0,043)	0,182 ± 0,019 (0,171 - 0,195)	0,312 ± 0,024 (0,291 - 0,326)	70,35 ± 12,28 (58,75 - 83,25)	0,393 ± 0,058 (0,364 - 0,46)	1,297 ± 0,215 (1,117 - 1,477)	0,238 ± 0,028 (0,221 - 0,247)	0,083 ± 0,012 (0,075 - 0,09)
SHR_12t_NAD	153,8 ± 29,73 (133,8 - 170,1)	103,8 ± 24,74 (81,22 - 119,1)	120,2 ± 25,99 (94,4 - 134,4)	17,21 ± 3,559 (14,37 - 19)	0,613 ± 0,092 (0,532 - 0,679)	212,9 ± 51,26 (183,8 - 217,3)	0,305 ± 0,034 (0,276 - 0,324)	0,04 ± 0,009 (0,034 - 0,046)	0,188 ± 0,03 (0,163 - 0,202)	0,321 ± 0,032 (0,297 - 0,345)	54,67 ± 8,434 (48 - 61,25)	0,467 ± 0,097 (0,38 - 0,567)	1,423 ± 0,128 (1,316 - 1,553)	0,28 ± 0,058 (0,229 - 0,33)	0,084 ± 0,021 (0,07 - 0,09)
Wartości p w porównaniach między grupami															
WKY_6t vs. WKY_12t	0,999	0,991	0,996	>0,999	0,206	>0,999	<b>0,01</b>	0,674	>0,999	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>	>0,999	0,921	>0,999	0,579
WKY_6t vs. SHR_6t	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	>0,999	0,656	0,525	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,002</b>	0,103	<b>&lt;0,001</b>	>0,999	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,016</b>	<b>&lt;0,001</b>	>0,999
WKY_12t vs. SHR_12t_NAD	<b>0,001</b>	<b>0,013</b>	<b>0,004</b>	<b>0,032</b>	>0,999	>0,999	0,95	0,146	>0,999	0,916	>0,999	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,314
SHR_6t vs. SHR_12t_NAD	0,951	0,981	>0,999	<b>0,003</b>	0,149	>0,999	0,997	0,382	>0,999	0,67	<b>&lt;0,001</b>	0,862	0,333	0,784	>0,999

Skróty: SPB – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; MAP – średnie ciśnienie tętnicze; IOP – ciśnienie śródgłowe; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna odczytywana przy długości fal 450 nm; SD – odchylenie standardowe; IQR – rozstęp międzykwartyłowy

Tabela 10. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie WKY\_6t (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	SBP	DBP	MAP	IOP	a/v	RT	RGC	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	BDNF oko	BDNF sur	NGF oko	NGF sur
SBP	-	r = 0,871; CI = 0,491 – 0,973; R <sup>2</sup> = 0,759; p = 0,002	r = 0,951; CI = 0,779 – 0,990; R <sup>2</sup> = 0,904; p < 0,001	r = -0,071; CI = -0,702 – 0,622; R <sup>2</sup> = 0,904; p = 0,855	r = -0,011; CI = -0,702 – 0,658; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,978	r = -0,465; CI = -0,927 – 0,556; R <sup>2</sup> = 0,216; p = 0,353	r = 0,747; CI = 0,165 – 0,97; R <sup>2</sup> = 0,557; p = 0,088	r = 0,115; CI = -0,768 – 0,848; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,828	r = 0,548; CI = -0,475 – 0,941; R <sup>2</sup> = 0,3; p = 0,261	r = 0,186; CI = -0,396 – 0,867; R <sup>2</sup> = 0,035; p = 0,725	r = 0,67; CI = 0,31; 0,449; R <sup>2</sup> = 0,449; p = 0,145	r = 0,611; p = 0,116	r = 0,488; CI = 0,536 – 0,931; R <sup>2</sup> = 0,238; p = 0,326	r = 0,541; CI = 0,192 – 0,887; R <sup>2</sup> = 0,293; p = 0,133	r = -0,112; CI = -0,905 – 0,855; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,858
DBP	r = 0,871; CI = 0,491 – 0,973; R <sup>2</sup> = 0,759; p = 0,002	-	r = 0,9803; CI = 0,9059 – 0,9960; R <sup>2</sup> = 0,9609; p < 0,001	r = -0,08568; CI = -0,7094 – 0,6133; R <sup>2</sup> = 0,00734 1; p = 0,826	r = -0,168; CI = -0,749 – 0,558; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,665	r = -0,449; CI = -0,924 – 0,571; R <sup>2</sup> = 0,201; p = 0,372	r = 0,785; CI = 0,073 – 0,975; R <sup>2</sup> = 0,616; p = 0,064	r = 0,284; CI = -0,686 – 0,89; R <sup>2</sup> = 0,081; p = 0,585	r = 0,687; CI = -0,282 – 0,962; R <sup>2</sup> = 0,472; p = 0,132	r = 0,148; CI = -0,754 – 0,857; R <sup>2</sup> = 0,022; p = 0,779	r = -0,644; CI = -0,956 – 0,351; R <sup>2</sup> = 0,415; p = 0,168	r = 0,731; p = 0,047	r = 0,45; CI = 0,57 – 0,924; R <sup>2</sup> = 0,203; p = 0,371	r = 0,561; CI = 0,165 – 0,892; R <sup>2</sup> = 0,514; p = 0,116	r = 0,02; CI = -0,878 – 0,887; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,975
MAP	r = 0,951; CI = 0,779 – 0,99; R <sup>2</sup> = 0,904; p < 0,001	r = 0,9803; CI = 0,9059 – 0,9960; R <sup>2</sup> = 0,9609; p < 0,001	-	r = -0,08; CI = -0,707 – 0,617; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,838	r = -0,108; CI = -0,72 – 0,599; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,783	r = -0,462; CI = -0,926 – 0,56; R <sup>2</sup> = 0,213; p = 0,357	r = 0,781; CI = 0,082 – 0,975; R <sup>2</sup> = 0,609; p = 0,067	r = 0,215; CI = -0,723 – 0,874; R <sup>2</sup> = 0,046; p = 0,683	r = 0,634; CI = -0,365 – 0,955; R <sup>2</sup> = 0,402; p = 0,176	r = 0,165; CI = -0,747 – 0,861; R <sup>2</sup> = 0,027; p = 0,755	r = -0,667; CI = -0,959 – 0,315; R <sup>2</sup> = 0,445; p = 0,148	r = 0,647; p = 0,091	r = 0,491; CI = 0,533 – 0,931; R <sup>2</sup> = 0,241; p = 0,323	r = 0,571; CI = 0,15 – 0,896; R <sup>2</sup> = 0,327; p = 0,108	r = -0,029; CI = -0,889 – 0,876; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,963
IOP	r = -0,071; CI = -0,702 – 0,622; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,855	r = -0,08568; CI = -0,7094 – 0,6133; R <sup>2</sup> = 0,00734 1; p = 0,826	r = -0,08; CI = -0,707 – 0,617; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,838	-	r = 0,435; CI = -0,322 – 0,853; R <sup>2</sup> = 0,189; p = 0,242	r = 0,332; CI = -0,656 – 0,901; R <sup>2</sup> = 0,111; p = 0,52	r = 0,246; CI = -0,882 – 0,707; R <sup>2</sup> = 0,06; p = 0,639	r = 0,362; CI = -0,907 – 0,637; R <sup>2</sup> = 0,131; p = 0,481	r = 0,829; CI = -0,981 – 0,405; R <sup>2</sup> = 0,688; p = 0,041	r = 0,236; CI = -0,879 – 0,712; R <sup>2</sup> = 0,056; p = 0,653	r = 0,109; CI = -0,846 – 0,771; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,837	r = -0,319; p = 0,433	r = 0,219; CI = 0,721 – 0,875; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,678	r = -0,228; CI = -0,775 – 0,514; R <sup>2</sup> = 0,052; p = 0,554	r = -0,531; CI = -0,962 – 0,661; R <sup>2</sup> = 0,282; p = 0,357
a/v	r = -0,011; CI = -0,67 – 0,658; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,978	r = -0,168; CI = -0,749 – 0,558; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,665	r = -0,108; CI = -0,72 – 0,599; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,783	r = 0,435; CI = -0,322 – 0,853; R <sup>2</sup> = 0,189; p = 0,242	-	r = 0,475; CI = -0,548 – 0,929; R <sup>2</sup> = 0,225; p = 0,341	r = 0,54; CI = -0,484 – 0,94; R <sup>2</sup> = 0,291; p = 0,269	r = -0,139; CI = -0,854 – 0,758; R <sup>2</sup> = 0,019; p = 0,793	r = -0,609; CI = -0,951 – 0,401; R <sup>2</sup> = 0,371; p = 0,2	r = 0,488; CI = -0,931 – 0,536; R <sup>2</sup> = 0,238; p = 0,327	r = -0,559; CI = -0,943 – 0,462; R <sup>2</sup> = 0,313; p = 0,249	r = -0,216; p = 0,609	r = -0,886; p = 0,033	r = -0,214; p = 0,619	r = 0,8; p = 0,333
RT	r = -0,465; CI = -0,927 – 0,556; R <sup>2</sup> = 0,216; p = 0,353	r = -0,449; CI = -0,924 – 0,571; R <sup>2</sup> = 0,201; p = 0,372	r = -0,462; CI = -0,926 – 0,56; R <sup>2</sup> = 0,213; p = 0,357	r = 0,332; CI = -0,656 – 0,901; R <sup>2</sup> = 0,111; p = 0,52	r = 0,475; CI = -0,548 – 0,929; R <sup>2</sup> = 0,225; p = 0,341	-	r = 0,404; CI = -0,502 – 0,887; R <sup>2</sup> = 0,163; p = 0,369	r = -0,173; CI = -0,819 – 0,667; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,711	r = 0,055; CI = -0,728 – 0,776; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,907	r = 0,098; CI = -0,707 – 0,793; R <sup>2</sup> = 0,01; p = 0,834	r = -0,206; CI = -0,83 – 0,648; R <sup>2</sup> = 0,042; p = 0,658	r = 0,314; p = 0,564	r = 0,514; CI = 0,674 – 0,961; R <sup>2</sup> = 0,264; p = 0,375	r = -0,077; CI = -0,785 – 0,718; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,869	r = -0,457; CI = -0,985 – 0,899; R <sup>2</sup> = 0,209; p = 0,543
RGC	r = 0,747; CI = 0,165 – 0,97; R <sup>2</sup> = 0,557; p = 0,088	r = 0,785; CI = 0,073 – 0,975; R <sup>2</sup> = 0,616; p = 0,064	r = 0,781; CI = 0,084 – 0,975; R <sup>2</sup> = 0,609; p = 0,067	r = -0,246; CI = -0,882 – 0,707; R <sup>2</sup> = 0,06; p = 0,639	r = 0,54; CI = -0,484 – 0,94; R <sup>2</sup> = 0,291; p = 0,269	r = 0,404; CI = -0,502 – 0,887; R <sup>2</sup> = 0,163; p = 0,369	-	r = 0,209; CI = -0,646 – 0,831; R <sup>2</sup> = 0,044; p = 0,653	r = 0,49; CI = -0,908; R <sup>2</sup> = 0,24; p = 0,265	r = 0,16; CI = -0,674 – 0,815; R <sup>2</sup> = 0,026; p = 0,731	r = -0,727; CI = -0,956 – 0,058; R <sup>2</sup> = 0,528; p = 0,064	r = 0,543; p = 0,297	r = 0,98; CI = 0,719 – 0,999; R <sup>2</sup> = 0,96; p = 0,004	r = -0,045; CI = -0,772 – 0,733; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,924	r = 0,018; CI = -0,96 – 0,963; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,982
ONL/RT	r = 0,115; CI = -0,768 – 0,848; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,828	r = 0,284; CI = -0,686 – 0,89; R <sup>2</sup> = 0,081; p = 0,585	r = 0,215; CI = -0,723 – 0,874; R <sup>2</sup> = 0,046; p = 0,683	r = -0,362; CI = -0,907 – 0,637; R <sup>2</sup> = 0,131; p = 0,481	r = -0,139; CI = -0,854 – 0,758; R <sup>2</sup> = 0,019; p = 0,793	r = -0,173; CI = -0,819 – 0,667; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,711	r = 0,209; CI = -0,646 – 0,831; R <sup>2</sup> = 0,044; p = 0,653	-	r = 0,718; CI = -0,077 – 0,955; R <sup>2</sup> = 0,515; p = 0,069	r = -0,358; CI = -0,875 – 0,541; R <sup>2</sup> = 0,128; p = 0,431	r = -0,639; CI = -0,94 – 0,22; R <sup>2</sup> = 0,409; p = 0,122	r = 0,371; p = 0,497	r = 0,238; CI = 0,816 – 0,926; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,7	r = 0,367; CI = -0,534 – 0,877; R <sup>2</sup> = 0,134; p = 0,419	r = 0,873; CI = -0,547 – 0,997; R <sup>2</sup> = 0,763; p = 0,127



OPL/RT	r = 0,548; CI = -0,475 - 0,941; R <sup>2</sup> = 0,3; p = 0,261	r = 0,687; CI = -0,282 - 0,962; R <sup>2</sup> = 0,472; p = 0,132	r = 0,634; CI = -0,365 - 0,955; R <sup>2</sup> = 0,402; p = 0,176	r = 0,829; CI = -0,981 - 0,054; R <sup>2</sup> = 0,688; p = <b>0,041</b>	r = 0,609; CI = -0,951 - 0,401; R <sup>2</sup> = 0,371; p = 0,2	r = 0,055; CI = -0,728 - 0,908; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,907	r = 0,49; CI = -0,417 - 0,908; R <sup>2</sup> = 0,24; p = 0,265	r = 0,718; CI = -0,077 - 0,955; R <sup>2</sup> = 0,515; p = 0,069	-	r = 0,305; CI = -0,582 - 0,861; R <sup>2</sup> = 0,093; p = 0,506	r = 0,71; CI = -0,953 - 0,093; R <sup>2</sup> = 0,504; p = 0,074	r = 0,714; p = 0,136	r = 0,435; CI = -0,726 - 0,952; R <sup>2</sup> = 0,189; p = 0,464	r = 0,692; CI = -0,127 - 0,95; R <sup>2</sup> = 0,479; p = 0,085	r = 0,279; CI = -0,932 - 0,978; R <sup>2</sup> = 0,078; p = 0,722
INL/RT	r = 0,186; CI = -0,737 - 0,867; R <sup>2</sup> = 0,035; p = 0,725	r = 0,148; CI = -0,754 - 0,857; R <sup>2</sup> = 0,022; p = 0,779	r = 0,667; CI = -0,959 - 0,315; R <sup>2</sup> = 0,445; p = 0,148	r = 0,236; CI = -0,879 - 0,712; R <sup>2</sup> = 0,056; p = 0,653	r = 0,488; CI = -0,931 - 0,536; R <sup>2</sup> = 0,238; p = 0,327	r = 0,098; CI = -0,707 - 0,793; R <sup>2</sup> = 0,01; p = 0,834	r = 0,16; CI = -0,674 - 0,815; R <sup>2</sup> = 0,026; p = 0,731	r = 0,358; CI = -0,875 - 0,541; R <sup>2</sup> = 0,128; p = 0,431	r = 0,305; CI = -0,582 - 0,861; R <sup>2</sup> = 0,093; p = 0,506	-	r = 0,011; CI = -0,758 - 0,748; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,982	r = 0,543; p = 0,297	r = 0,243; CI = -0,927 - 0,814; R <sup>2</sup> = 0,059; p = 0,694	r = 0,34; CI = -0,555 - 0,87; R <sup>2</sup> = 0,116; p = 0,456	r = 0,777; CI = -0,995 - 0,727; R <sup>2</sup> = 0,604; p = 0,223
IPL/RT	r = 0,67; CI = -0,96 - 0,31; R <sup>2</sup> = 0,449; p = 0,145	r = 0,644; CI = -0,956 - 0,351; R <sup>2</sup> = 0,415; p = 0,168	r = 0,667; CI = -0,959 - 0,315; R <sup>2</sup> = 0,445; p = 0,148	r = 0,109; CI = -0,846 - 0,771; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,837	r = 0,559; CI = -0,943 - 0,462; R <sup>2</sup> = 0,313; p = 0,249	r = 0,206; CI = -0,648; R <sup>2</sup> = 0,042; p = 0,658	r = 0,727; CI = -0,956 - 0,058; R <sup>2</sup> = 0,528; p = 0,064	r = 0,639; CI = -0,94 - 0,22; R <sup>2</sup> = 0,409; p = 0,122	r = 0,71; CI = -0,953 - 0,093; R <sup>2</sup> = 0,504; p = 0,074	r = 0,011; CI = -0,758 - 0,748; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,982	-	r = 0,143; p = 0,803	r = 0,667; CI = -0,975 - 0,524; R <sup>2</sup> = 0,444; p = 0,219	r = 0,361; CI = -0,876 - 0,538; R <sup>2</sup> = 0,131; p = 0,426	r = 0,376; CI = -0,982 - 0,916; R <sup>2</sup> = 0,142; p = 0,624
BDNF oko	r = 0,611; p = 0,116	r = 0,731; p = <b>0,047</b>	r = 0,647; p = 0,091	r = 0,319; p = 0,433	r = 0,216; p = 0,609	r = 0,314; p = 0,564	r = 0,543; p = 0,297	r = 0,371; p = 0,497	r = 0,714; p = 0,136	r = 0,714; p = 0,136	r = 0,143; p = 0,803	-	r = 0,432; p = 0,327	r = 0,628; p = 0,077	r = 0,1; p = 0,95
BDNF sur	r = 0,488; CI = -0,536 - 0,931; R <sup>2</sup> = 0,238; p = 0,326	r = 0,45; CI = -0,57 - 0,924; R <sup>2</sup> = 0,203; p = 0,371	r = 0,491; CI = -0,533 - 0,931; R <sup>2</sup> = 0,241; p = 0,323	r = 0,219; CI = -0,721 - 0,875; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,678	r = 0,886; p = <b>0,033</b>	r = 0,514; CI = -0,674 - 0,961; R <sup>2</sup> = 0,264; p = 0,375	r = 0,98; CI = -0,719 - 0,999; R <sup>2</sup> = 0,96; p = <b>0,004</b>	r = 0,238; CI = -0,816 - 0,926; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,7	r = 0,435; CI = -0,726 - 0,952; R <sup>2</sup> = 0,189; p = 0,464	r = 0,243; CI = -0,927 - 0,814; R <sup>2</sup> = 0,059; p = 0,694	r = 0,667; CI = -0,975 - 0,524; R <sup>2</sup> = 0,444; p = 0,219	r = 0,432; p = 0,327	-	r = 0,353; CI = -0,545 - 0,874; R <sup>2</sup> = 0,125; p = 0,438	r = 0,417; R <sup>2</sup> = 0,174; p = 0,726
NGF oko	r = 0,541; CI = -0,192 - 0,887; R <sup>2</sup> = 0,293; p = 0,133	r = 0,561; CI = -0,165 - 0,892; R <sup>2</sup> = 0,314; p = 0,116	r = 0,571; CI = -0,15 - 0,896; R <sup>2</sup> = 0,327; p = 0,108	r = 0,228; CI = -0,775 - 0,514; R <sup>2</sup> = 0,052; p = 0,554	r = 0,214; p = 0,619	r = 0,077; CI = -0,785 - 0,718; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,869	r = 0,045; CI = -0,772 - 0,733; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,924	r = 0,367; CI = -0,534 - 0,127 - 0,877; R <sup>2</sup> = 0,134; p = 0,419	r = 0,692; CI = -0,932 - 0,978; R <sup>2</sup> = 0,479; p = 0,085	r = 0,34; CI = -0,555 - 0,87; R <sup>2</sup> = 0,116; p = 0,456	r = 0,361; CI = -0,876 - 0,538; R <sup>2</sup> = 0,131; p = 0,426	r = 0,628; p = 0,077	r = 0,353; CI = -0,545 - 0,874; R <sup>2</sup> = 0,125; p = 0,438	-	r = 0,379; CI = -0,911 - 0,624; R <sup>2</sup> = 0,144; p = 0,458
NGF sur	r = 0,112; CI = -0,905 - 0,855; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,858	r = 0,02; CI = -0,878 - 0,887; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,975	r = 0,029; CI = -0,889 - 0,876; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,963	r = 0,018; CI = -0,96 - 0,963; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,982	r = 0,8; p = 0,333	r = 0,457; CI = -0,985 - 0,899; R <sup>2</sup> = 0,209; p = 0,543	r = 0,018; CI = -0,96 - 0,963; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,982	r = 0,873; CI = -0,547 - 0,997; R <sup>2</sup> = 0,763; p = 0,127	r = 0,279; CI = -0,932 - 0,978; R <sup>2</sup> = 0,078; p = 0,722	r = 0,777; CI = -0,995 - 0,982 - 0,916; R <sup>2</sup> = 0,604; p = 0,223	r = 0,376; CI = -0,982 - 0,916; R <sup>2</sup> = 0,142; p = 0,624	r = 0,1; p = 0,95	r = 0,417; R <sup>2</sup> = 0,174; p = 0,726	r = 0,379; CI = -0,911 - 0,624; R <sup>2</sup> = 0,144; p = 0,458	-

Skróty: SPB – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; MAP – średnie ciśnienie tętnicze; IOP – ciśnienie śródgłowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrowej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrowej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; CI – 95% przedział ufności

Tabela 11. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie WKY\_12t (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	SBP	DBP	MAP	IOP	a/v	RT	RGC	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	BDNF oko	BDNF sur	NGF oko	NGF sur
SBP	-	r = 0,972; CI = -0,883 - 0,994; R <sup>2</sup> = 0,945; p < <b>0,001</b>	r = 0,999; CI = -0,957 - 0,998; R <sup>2</sup> = 0,98; p < <b>0,001</b>	r = -0,2; CI = -0,737 - 0,492; R <sup>2</sup> = 0,04; p = 0,58	r = -0,14; CI = -0,707 - 0,537; R <sup>2</sup> = 0,02; p = 0,699	r = -0,12; CI = -0,849 - 0,766; R <sup>2</sup> = 0,014; p = 0,821	r = 0,432; CI = -0,585 - 0,921; R <sup>2</sup> = 0,186; p = 0,393	r = -0,403; CI = -0,915 - 0,607; R <sup>2</sup> = 0,163; p = 0,428	r = -0,313; CI = -0,897 - 0,668; R <sup>2</sup> = 0,098; p = 0,546	r = -0,314; CI = -0,897 - 0,179 - 0,985; R <sup>2</sup> = 0,748; p = 0,544	r = 0,865; CI = -0,886 - 0,196; R <sup>2</sup> = 0,29; p = 0,135	r = 0,538; CI = -0,206; R <sup>2</sup> = 0,29; p = 0,135	r = 0,206; CI = -0,795 - 0,583; R <sup>2</sup> = 0,042; p = 0,625	r = 0,57; CI = -0,883 - 0,094; R <sup>2</sup> = 0,324; p = 0,086	r = -0,559; p = 0,097
DBP	r = 0,972; CI = -0,883 - 0,994; R <sup>2</sup> = 0,945; p < <b>0,001</b>	-	r = 0,995; CI = -0,98 - 0,999; R <sup>2</sup> = 0,991; p < <b>0,001</b>	r = 0,067; CI = -0,587; R <sup>2</sup> = 0,004; p = 0,854	r = 0,325; CI = -0,383; R <sup>2</sup> = 0,106; p = 0,359	r = 0,184; CI = -0,866 - 0,738; R <sup>2</sup> = 0,034; p = 0,727	r = 0,355; CI = -0,641 - 0,906; R <sup>2</sup> = 0,126; p = 0,49	r = 0,339; CI = -0,902 - 0,652; R <sup>2</sup> = 0,115; p = 0,511	r = 0,259; CI = -0,885 - 0,7; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,621	r = 0,378; CI = -0,91 - 0,626; R <sup>2</sup> = 0,143; p = 0,46	r = 0,834; CI = -0,07 - 0,981; R <sup>2</sup> = 0,696; p = 0,039	r = 0,48; CI = -0,271; R <sup>2</sup> = 0,23; p = 0,191	r = 0,248; CI = -0,811 - 0,553; R <sup>2</sup> = 0,062; p = 0,553	r = 0,535; CI = -0,871 - 0,142; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,111	r = 0,377; p = 0,282
MAP	r = 0,999; CI = -0,957 - 0,998; R <sup>2</sup> = 0,98; p < <b>0,001</b>	r = 0,995; CI = -0,98 - 0,999; R <sup>2</sup> = 0,991; p < <b>0,001</b>	-	r = -0,121; CI = -0,698 - 0,55; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,739	r = 0,252; CI = -0,761 - 0,449; R <sup>2</sup> = 0,064; p = 0,482	r = 0,159; CI = -0,86 - 0,75; R <sup>2</sup> = 0,025; p = 0,764	r = 0,387; CI = -0,619 - 0,912; R <sup>2</sup> = 0,15; p = 0,448	r = 0,367; CI = -0,908 - 0,633; R <sup>2</sup> = 0,135; p = 0,474	r = 0,284; CI = -0,89 - 0,686; R <sup>2</sup> = 0,126; p = 0,586	r = 0,355; CI = -0,906 - 0,642; R <sup>2</sup> = 0,126; p = 0,49	r = 0,85; CI = -0,124 - 0,983; R <sup>2</sup> = 0,723; p = 0,032	r = 0,505; CI = -0,876 - 0,239; R <sup>2</sup> = 0,255; p = 0,165	r = 0,232; CI = -0,805 - 0,565; R <sup>2</sup> = 0,054; p = 0,581	r = 0,552; CI = -0,877 - 0,12; R <sup>2</sup> = 0,304; p = 0,098	r = -0,529; p = 0,119
IOP	r = -0,2; CI = -0,737 - 0,492; R <sup>2</sup> = 0,004; p = 0,58	r = -0,067; CI = -0,668 - 0,537; R <sup>2</sup> = 0,004; p = 0,854	r = -0,121; CI = -0,698 - 0,55; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,739	-	r = 0,72; CI = -0,929 - -0,165; R <sup>2</sup> = 0,518; p = <b>0,019</b>	r = 0,416; CI = -0,597 - 0,918; R <sup>2</sup> = 0,173; p = 0,412	r = 0,251; CI = -0,704 - 0,746; R <sup>2</sup> = 0,063; p = 0,632	r = 0,167; CI = -0,862 - 0,746; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,752	r = 0,007; CI = -0,814 - 0,809; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,989	r = 0,015; CI = -0,806 - 0,817; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,978	r = 0,028; CI = -0,802 - 0,821; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,958	r = 0,782; CI = -0,244 - 0,924; R <sup>2</sup> = 0,6109; p = <b>0,013</b>	r = 0,628; CI = -0,137 - 0,924; R <sup>2</sup> = 0,395; p = 0,095	r = 0,303; CI = -0,403 - 0,783; R <sup>2</sup> = 0,092; p = 0,394	r = 0,332; p = 0,343
a/v	r = -0,14; CI = -0,707 - 0,537; R <sup>2</sup> = 0,02; p = 0,699	r = -0,325; CI = -0,793 - 0,383; R <sup>2</sup> = 0,106; p = 0,359	r = -0,252; CI = -0,761 - 0,449; R <sup>2</sup> = 0,064; p = 0,482	r = 0,72; CI = -0,929 - -0,165; R <sup>2</sup> = 0,518; p = <b>0,019</b>	-	r = 0,083; CI = -0,838 - 0,7811; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,875	r = 0,136; CI = -0,759 - 0,853; R <sup>2</sup> = 0,018; p = 0,797	r = 0,195; CI = -0,869 - 0,733; R <sup>2</sup> = 0,038; p = 0,711	r = 0,002; CI = -0,811 - 0,812; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,997	r = 0,336; CI = -0,654 - 0,902; R <sup>2</sup> = 0,113; p = 0,515	r = 0,155; CI = -0,751 - 0,859; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,769	r = 0,017; p = 0,982	r = 0,524; p = 0,197	r = 0,043; p = 0,911	r = -0,152; p = 0,674
RT	r = -0,12; CI = -0,849 - 0,766; R <sup>2</sup> = 0,014; p = 0,821	r = -0,184; CI = -0,866 - 0,738; R <sup>2</sup> = 0,034; p = 0,727	r = -0,159; CI = -0,86 - 0,75; R <sup>2</sup> = 0,025; p = 0,764	r = 0,416; CI = -0,597 - 0,918; R <sup>2</sup> = 0,173; p = 0,412	r = 0,083; CI = -0,838 - 0,7811; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,875	-	r = 0,76; CI = -0,135 - 0,972; R <sup>2</sup> = 0,578; p = 0,08	r = -0,652; CI = -0,957 - 0,338; R <sup>2</sup> = 0,426; p = 0,16	r = 0,338; CI = -0,902 - 0,653; R <sup>2</sup> = 0,114; p = 0,512	r = 0,695; CI = -0,268 - 0,963; R <sup>2</sup> = 0,483; p = 0,126	r = 0,032; CI = -0,8 - 0,822; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,952	r = 0,66; CI = -0,533 - 0,975; R <sup>2</sup> = 0,435; p = 0,226	r = 0,203; CI = -0,828 - 0,92; R <sup>2</sup> = 0,041; p = 0,744	r = 0,606; CI = -0,405 - 0,95; R <sup>2</sup> = 0,367; p = 0,203	r = 0,6; p = 0,242
RGC	r = 0,432; CI = -0,585 - 0,921; R <sup>2</sup> = 0,186; p = 0,393	r = 0,355; CI = -0,641 - 0,906; R <sup>2</sup> = 0,126; p = 0,49	r = 0,387; CI = -0,619 - 0,912; R <sup>2</sup> = 0,15; p = 0,448	r = 0,251; CI = -0,704 - 0,883; R <sup>2</sup> = 0,063; p = 0,632	r = 0,136; CI = -0,759 - 0,853; R <sup>2</sup> = 0,018; p = 0,797	r = 0,76; CI = -0,135 - 0,972; R <sup>2</sup> = 0,578; p = 0,08	-	r = -0,653; CI = -0,957 - 0,338; R <sup>2</sup> = 0,426; p = 0,16	r = -0,727; CI = -0,968 - 0,206; R <sup>2</sup> = 0,529; p = 0,102	r = 0,308; CI = -0,671 - 0,896; R <sup>2</sup> = 0,095; p = 0,552	r = 0,603; CI = -0,408 - 0,95; R <sup>2</sup> = 0,364; p = 0,205	r = 0,073; CI = -0,897 - 0,865; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,908	r = 0,386; CI = -0,753 - 0,946; R <sup>2</sup> = 0,149; p = 0,522	r = 0,004; CI = -0,81 - 0,813; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,995	r = 0,2; p = 0,714
ONL/RT	r = -0,403; CI = -0,915 - 0,607; R <sup>2</sup> = 0,163; p = 0,428	r = 0,339; CI = -0,902 - 0,652; R <sup>2</sup> = 0,115; p = 0,511	r = 0,367; CI = -0,908 - 0,633; R <sup>2</sup> = 0,135; p = 0,474	r = 0,167; CI = -0,862 - 0,746; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,752	r = 0,195; CI = -0,869 - 0,733; R <sup>2</sup> = 0,038; p = 0,711	r = 0,652; CI = -0,957 - 0,338; R <sup>2</sup> = 0,426; p = 0,16	r = -0,653; CI = -0,957 - 0,338; R <sup>2</sup> = 0,426; p = 0,16	-	r = 0,329; CI = -0,658 - 0,9; R <sup>2</sup> = 0,108; p = 0,524	r = 0,368; CI = -0,908 - 0,632; R <sup>2</sup> = 0,136; p = 0,4723	r = 0,51; CI = -0,935 - 0,86; R <sup>2</sup> = 0,26; p = 0,302	r = 0,091; CI = -0,901 - 0,86; R <sup>2</sup> = 0,008; p = 0,885	r = 0,349; CI = -0,771 - 0,941; R <sup>2</sup> = 0,122; p = 0,565	r = 0,142; CI = -0,855 - 0,757; R <sup>2</sup> = 0,02; p = 0,789	r = 0,029; p > 0,999
OPL/RT	r = -0,313; CI = -0,897 - 0,668; R <sup>2</sup> = 0,098; p = 0,546	r = -0,259; CI = -0,885 - 0,686; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,621	r = -0,284; CI = -0,89 - 0,686; R <sup>2</sup> = 0,08; p = 0,586	r = -0,007; CI = -0,814 - 0,809; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,989	r = 0,002; CI = -0,811 - 0,812; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,997	r = -0,338; CI = -0,902 - 0,653; R <sup>2</sup> = 0,114; p = 0,512	r = -0,727; CI = -0,968 - 0,206; R <sup>2</sup> = 0,529; p = 0,102	r = -0,329; CI = -0,658 - 0,9; R <sup>2</sup> = 0,108; p = 0,524	-	r = 0,297; CI = -0,678 - 0,893; R <sup>2</sup> = 0,088; p = 0,568	r = -0,715; CI = -0,966 - 0,825 - 0,23; R <sup>2</sup> = 0,511; p = 0,11	r = 0,211; CI = -0,825 - 0,922; R <sup>2</sup> = 0,044; p = 0,734	r = -0,746; CI = -0,982 - 0,398; R <sup>2</sup> = 0,5568; p = 0,148	r = 0,106; CI = -0,772 - 0,845; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,842	r = 0,086; p = 0,919

INL/RT	r = -0,314; CI = -0,897 – 0,668; R <sup>2</sup> = 0,099; p = 0,544	r = -0,378; CI = -0,91 – 0,626; R <sup>2</sup> = 0,143; p = 0,46	r = -0,355; CI = -0,906 – 0,642; R <sup>2</sup> = 0,126; p = 0,49	r = 0,015; CI = -0,806 – 0,817; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,978	r = 0,336; CI = -0,654 – 0,902; R <sup>2</sup> = 0,113; p = 0,515	r = 0,695; CI = -0,268 – 0,963; R <sup>2</sup> = 0,483; p = 0,126	r = 0,308; CI = -0,671 – 0,896; R <sup>2</sup> = 0,095; p = 0,552	r = -0,368; CI = -0,908 – 0,632; R <sup>2</sup> = 0,136; p = 0,4723	r = 0,297; CI = -0,678 – 0,985; R <sup>2</sup> = 0,088; p = 0,568	-	r = -0,434; CI = -0,921 – 0,583; R <sup>2</sup> = 0,189; p = 0,39	r = 0,783; CI = -0,322 – 0,985; R <sup>2</sup> = 0,612; p = 0,118	r = -0,354; CI = -0,942 – 0,768; R <sup>2</sup> = 0,125; p = 0,559	r = 0,439; CI = -0,579 – 0,922; R <sup>2</sup> = 0,193; p = 0,384	r = 0,6; p = 0,242
IPL/RT	r = 0,865; CI = -0,179 – 0,985; R <sup>2</sup> = 0,748; p = 0,026	r = 0,834; CI = -0,07 – 0,981; R <sup>2</sup> = 0,696; p = 0,039	r = 0,85; CI = -0,124 – 0,983; R <sup>2</sup> = 0,723; p = 0,032	r = 0,028; CI = -0,802 – 0,821; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,958	r = 0,155; CI = -0,751 – 0,859; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,769	r = 0,032; CI = -0,8 – 0,822; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,952	r = 0,603; CI = -0,408 – 0,95; R <sup>2</sup> = 0,364; p = 0,205	r = -0,51; CI = -0,935 – 0,515; R <sup>2</sup> = 0,26; p = 0,302	r = -0,715; CI = -0,966 – 0,23; R <sup>2</sup> = 0,511; p = 0,11	r = -0,434; CI = -0,921 – 0,583; R <sup>2</sup> = 0,189; p = 0,39	-	r = -0,73; CI = -0,428 – 0,533; R <sup>2</sup> = 0,533; p = 0,162	r = 0,176; CI = -0,836 – 0,916; R <sup>2</sup> = 0,031; p = 0,777	r = -0,57; CI = -0,945 – 0,449; R <sup>2</sup> = 0,325; p = 0,237	r = -0,886; p = 0,033
BDNF oko	r = -0,538; CI = -0,886 – 0,196; R <sup>2</sup> = 0,29; p = 0,135	r = -0,48; CI = -0,868 – 0,271; R <sup>2</sup> = 0,23; p = 0,191	r = -0,505; CI = -0,876 – 0,239; R <sup>2</sup> = 0,255; p = 0,165	r = 0,782; CI = -0,244 – 0,952; R <sup>2</sup> = 0,6109; p = 0,013	r = 0,017; p = 0,982	r = 0,66; CI = -0,533 – 0,975; R <sup>2</sup> = 0,435; p = 0,226	r = -0,073; CI = -0,897 – 0,865; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,908	r = -0,091; CI = -0,901 – 0,86; R <sup>2</sup> = 0,008; p = 0,885	r = 0,211; CI = -0,825 – 0,922; R <sup>2</sup> = 0,044; p = 0,734	r = 0,783; CI = -0,322 – 0,981 – 0,428; R <sup>2</sup> = 0,533; p = 0,162	-	r = 0,73; CI = -0,981 – 0,428; R <sup>2</sup> = 0,533; p = 0,162	r = 0,258; CI = -0,614 – 0,847; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,576	r = 0,76; CI = -0,194 – 0,946; R <sup>2</sup> = 0,578; p = 0,018	r = 0,87; p = 0,004
BDNF sur	r = -0,206; CI = -0,795 – 0,583; R <sup>2</sup> = 0,042; p = 0,625	r = -0,248; CI = -0,811 – 0,553; R <sup>2</sup> = 0,062; p = 0,553	r = -0,232; CI = -0,805 – 0,565; R <sup>2</sup> = 0,054; p = 0,581	r = 0,628; CI = -0,137 – 0,924; R <sup>2</sup> = 0,395; p = 0,095	r = 0,524; p = 0,197	r = 0,203; CI = -0,828 – 0,92; R <sup>2</sup> = 0,041; p = 0,744	r = 0,386; CI = -0,753 – 0,946; R <sup>2</sup> = 0,149; p = 0,522	r = 0,349; CI = -0,771 – 0,398; R <sup>2</sup> = 0,122; p = 0,565	r = -0,746; CI = -0,982 – 0,5568; R <sup>2</sup> = 0,148	r = -0,354; CI = -0,942 – 0,836 – 0,916; R <sup>2</sup> = 0,125; p = 0,559	r = 0,176; CI = -0,836 – 0,916; R <sup>2</sup> = 0,031; p = 0,777	r = 0,258; CI = -0,614 – 0,847; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,576	-	r = 0,508; CI = -0,306 – 0,893; R <sup>2</sup> = 0,258; p = 0,199	r = 0,539; p = 0,175
NGF oko	r = -0,57; CI = -0,883 – 0,094; R <sup>2</sup> = 0,324; p = 0,086	r = -0,535; CI = -0,871 – 0,142; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,111	r = -0,535; CI = -0,871 – 0,142; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,111	r = 0,303; CI = -0,403 – 0,783; R <sup>2</sup> = 0,092; p = 0,394	r = 0,043; p = 0,911	r = 0,606; CI = -0,405 – 0,95; R <sup>2</sup> = 0,367; p = 0,203	r = 0,004; CI = -0,81 – 0,813; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,995	r = -0,142; CI = -0,855 – 0,757; R <sup>2</sup> = 0,02; p = 0,789	r = 0,106; CI = -0,772 – 0,845; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,842	r = 0,439; CI = -0,579 – 0,922; R <sup>2</sup> = 0,193; p = 0,384	r = -0,57; CI = -0,945 – 0,946; R <sup>2</sup> = 0,578; p = 0,018	r = 0,76; CI = -0,194 – 0,946; R <sup>2</sup> = 0,578; p = 0,018	r = 0,508; CI = -0,306 – 0,893; R <sup>2</sup> = 0,258; p = 0,199	-	r = 0,523; p = 0,15
NGF sur	r = -0,559; p = 0,097	r = -0,377; p = 0,282	r = -0,529; p = 0,119	r = 0,332; p = 0,343	r = -0,152; p = 0,674	r = 0,6; p = 0,242	r = 0,2; p = 0,714	r = 0,029; p > 0,999	r = 0,086; p = 0,919	r = 0,6; p = 0,242	r = -0,886; p = 0,033	r = 0,87; p = 0,004	r = 0,539; p = 0,175	r = 0,523; p = 0,15	-

Skróty: SPB – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; MAP – średnie ciśnienie tętnicze; IOP – ciśnienie śródgłowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; CI – 95% przedział ufności

Tabela 12. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie SHR\_6t (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	SBP	DBP	MAP	IOP	a/v	RT	RGC	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	BDNF oko	BDNF sur	NGF oko	NGF sur
SBP	-	r = 0,934; CI = 0,737 - 0,985; R <sup>2</sup> = 0,871; p < 0,001	r = 0,973; CI = 0,886 - 0,994; R <sup>2</sup> = 0,946; p < 0,001	r = 0,177; CI = 0,509 - 0,726; R <sup>2</sup> = 0,031; p = 0,625	r = 0,314; CI = 0,265 - 0,393 - 0,5 - 0,55 - 0,726; R <sup>2</sup> = 0,084; p = 0,449	r = 0,29; CI = 0,463 - 0,8; R <sup>2</sup> = 0,084; p = 0,449	r = 0,04; CI = 0,686 - 0,641; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,919	r = 0,592; CI = 0,902 - 0,712; R <sup>2</sup> = 0,351; p = 0,093	r = 0,091; CI = 0,61 - 0,118; R <sup>2</sup> = 0,008; p = 0,816	r = 0,239; CI = 0,506 - 0,779; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,536	r = 0,19; CI = 0,543 - 0,758; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,625	r = 0,106; CI = 0,6 - 0,363 - 0,84; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,786	r = 0,396; CI = 0,363 - 0,84; R <sup>2</sup> = 0,157; p = 0,291	r = 0,237; CI = 0,461 - 0,754; R <sup>2</sup> = 0,056; p = 0,509	r = 0,556; CI = 0,245 - 0,906; R <sup>2</sup> = 0,309; p = 0,153
DPB	r = 0,934; CI = 0,737 - 0,985; R <sup>2</sup> = 0,871; p < 0,001	-	r = 0,991; CI = 0,962 - 0,998; R <sup>2</sup> = 0,982; p < 0,001	r = 0,122; CI = 0,55 - 0,698; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,737	r = 0,189; CI = 0,5 - 0,732; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,6	r = 0,246; CI = 0,5 - 0,782; R <sup>2</sup> = 0,06; p = 0,524	r = 0,049; CI = 0,636 - 0,691; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,9	r = 0,499; CI = 0,874 - 0,716; R <sup>2</sup> = 0,249; p = 0,172	r = 0,098; CI = 0,606 - 0,689; R <sup>2</sup> = 0,01; p = 0,802	r = 0,046; CI = 0,638 - 0,441 - 0,58 - 0,734; R <sup>2</sup> = 0,01; p = 0,907	r = 0,316; CI = 0,441 - 0,58 - 0,734; R <sup>2</sup> = 0,019; p = 0,408	r = 0,137; CI = 0,58 - 0,734; R <sup>2</sup> = 0,019; p = 0,725	r = 0,448; CI = 0,308 - 0,857; R <sup>2</sup> = 0,2; p = 0,227	r = 0,164; CI = 0,519 - 0,719; R <sup>2</sup> = 0,027; p = 0,651	r = 0,551; CI = 0,251 - 0,905; R <sup>2</sup> = 0,304; p = 0,157
MAP	r = 0,973; CI = 0,886 - 0,994; R <sup>2</sup> = 0,946; p < 0,001	r = 0,991; CI = 0,962 - 0,998; R <sup>2</sup> = 0,982; p < 0,001	-	r = 0,144; CI = 0,534 - 0,709; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,692	r = 0,239; CI = 0,46 - 0,755; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,507	r = 0,265; CI = 0,484 - 0,79; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,966	r = 0,017; CI = 0,655 - 0,673; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,966	r = 0,54; CI = 0,886 - 0,715; R <sup>2</sup> = 0,292; p = 0,133	r = 0,097; CI = 0,606 - 0,715; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,804	r = 0,119; CI = 0,592 - 0,726; R <sup>2</sup> = 0,074; p = 0,761	r = 0,273; CI = 0,478 - 0,793; R <sup>2</sup> = 0,074; p = 0,477	r = 0,128; CI = 0,586 - 0,73; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,743	r = 0,433; CI = 0,325 - 0,852; R <sup>2</sup> = 0,187; p = 0,245	r = 0,195; CI = 0,496 - 0,735; R <sup>2</sup> = 0,038; p = 0,589	r = 0,56; CI = 0,239 - 0,907; R <sup>2</sup> = 0,314; p = 0,149
IOP	r = 0,177; CI = 0,509 - 0,726; R <sup>2</sup> = 0,031; p = 0,625	r = 0,122; CI = 0,55 - 0,698; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,737	r = 0,144; CI = 0,534 - 0,709; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,692	-	r = 0,013; CI = 0,637 - 0,622; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,972	r = 0,535; CI = 0,201 - 0,885; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,138	r = 0,532; CI = 0,193 - 0,608 - 0,714; R <sup>2</sup> = 0,283; p = 0,141	r = 0,095; CI = 0,496 - 0,714; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,808	r = 0,251; CI = 0,784 - 0,063; p = 0,515	r = 0,134; CI = 0,733 - 0,582; R <sup>2</sup> = 0,018; p = 0,732	r = 0,318; CI = 0,811 - 0,439; R <sup>2</sup> = 0,101; p = 0,404	r = 0,007; CI = 0,52 - 0,668; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,986	r = 0,011; CI = 0,636 - 0,623; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,976	r = 0,058; CI = 0,733 - 0,674; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,892	
a/v	r = 0,314; CI = 0,393 - 0,788; R <sup>2</sup> = 0,099; p = 0,377	r = 0,189; CI = 0,5 - 0,732; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,6	r = 0,239; CI = 0,46 - 0,755; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,507	r = 0,013; CI = 0,637 - 0,622; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,972	-	r = 0,591; CI = 0,901 - 0,12; R <sup>2</sup> = 0,349; p = 0,094	r = 0,808; CI = 0,958 - 0,31; R <sup>2</sup> = 0,653; p = 0,008	r = 0,165; CI = 0,561 - 0,747; R <sup>2</sup> = 0,027; p = 0,671	r = 0,135; CI = 0,581 - 0,734; R <sup>2</sup> = 0,018; p = 0,728	r = 0,219; CI = 0,771 - 0,521; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,571	r = 0,067; CI = 0,625 - 0,7; 0,8; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,864	r = 0,219; CI = 0,574 - 0,615; R <sup>2</sup> = 0,025; p = 0,603	r = 0,159; CI = 0,77 - 0,615; R <sup>2</sup> = 0,025; p = 0,707	r = 0,515; CI = 0,226 - 0,879; R <sup>2</sup> = 0,266; p = 0,156	r = 0,406; CI = 0,5 - 0,888; R <sup>2</sup> = 0,165; p = 0,366
RT	r = 0,29; CI = 0,463 - 0,8; R <sup>2</sup> = 0,084; p = 0,449	r = 0,246; CI = 0,5 - 0,782; R <sup>2</sup> = 0,06; p = 0,524	r = 0,265; CI = 0,484 - 0,673; R <sup>2</sup> = 0,07; p = 0,966	r = 0,535; CI = 0,201 - 0,885; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,138	r = 0,591; CI = 0,901 - 0,12; R <sup>2</sup> = 0,349; p = 0,094	-	r = 0,818; CI = 0,336 - 0,96; R <sup>2</sup> = 0,668; p = 0,007	r = 0,377; CI = 0,833 - 0,652; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,9565	r = 0,356; CI = 0,825 - 0,403; R <sup>2</sup> = 0,127; p = 0,347	r = 0,295; CI = 0,459 - 0,802; R <sup>2</sup> = 0,087; p = 0,441	r = 0,131; CI = 0,732 - 0,446 - 0,855; R <sup>2</sup> = 0,017; p = 0,737	r = 0,378; CI = 0,446 - 0,855; R <sup>2</sup> = 0,143; p = 0,357	r = 0,326; CI = 0,491 - 0,838; R <sup>2</sup> = 0,107; p = 0,430	r = 0,191; CI = 0,542 - 0,759; R <sup>2</sup> = 0,037; p = 0,622	r = 0,026; CI = 0,691 - 0,718; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,952
RGC	r = 0,04; CI = 0,686 - 0,641; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,919	r = 0,049; CI = 0,636 - 0,691; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,9	r = 0,017; CI = 0,655 - 0,673; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,966	r = 0,532; CI = 0,205 - 0,884; R <sup>2</sup> = 0,283; p = 0,141	r = 0,808; CI = 0,958 - 0,31; R <sup>2</sup> = 0,653; p = 0,008	r = 0,818; CI = 0,336 - 0,96; R <sup>2</sup> = 0,668; p = 0,007	r = 0,021; CI = 0,676 - 0,652; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,9565	r = 0,407; CI = 0,843 - 0,353; R <sup>2</sup> = 0,165; p = 0,278	r = 0,03; CI = 0,681 - 0,805 - 0,647; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,939	r = 0,03; CI = 0,802 - 0,453; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,429	r = 0,424; CI = 0,753 - 0,648 - 0,335; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,256	r = 0,104; CI = 0,88 - 0,359; R <sup>2</sup> = 0,214; p = 0,249	r = 0,463; CI = 0,632 - 0,694; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,786	r = 0,056; CI = 0,632 - 0,702; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,858	r = 0,032; CI = 0,688 - 0,72; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,941
ONL/RT	r = 0,592; CI = 0,902 - 0,118; R <sup>2</sup> = 0,351; p = 0,093	r = 0,499; CI = 0,874 - 0,247; R <sup>2</sup> = 0,249; p = 0,172	r = 0,54; CI = 0,886 - 0,193; R <sup>2</sup> = 0,292; p = 0,133	r = 0,095; CI = 0,714 - 0,009; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,808	r = 0,165; CI = 0,561 - 0,383; R <sup>2</sup> = 0,142; p = 0,317	r = 0,377; CI = 0,833 - 0,676 - 0,652; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,9565	r = 0,021; CI = 0,676 - 0,652; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,9565	-	r = 0,023; CI = 0,677 - 0,651; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,953	r = 0,734; CI = 0,94 - 0,136; R <sup>2</sup> = 0,538; p = 0,025	r = 0,424; CI = 0,753 - 0,648 - 0,335; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,256	r = 0,104; CI = 0,88 - 0,359; R <sup>2</sup> = 0,214; p = 0,249	r = 0,463; CI = 0,632 - 0,694; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,786	r = 0,056; CI = 0,632 - 0,702; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,858	r = 0,032; CI = 0,688 - 0,72; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,941
OPL/RT	r = 0,091; CI = 0,61 - 0,712; R <sup>2</sup> = 0,008; p = 0,816	r = 0,119; CI = 0,592 - 0,726; R <sup>2</sup> = 0,014; p = 0,761	r = 0,097; CI = 0,606 - 0,715; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,804	r = 0,251; CI = 0,496 - 0,784; R <sup>2</sup> = 0,063; p = 0,515	r = 0,135; CI = 0,581 - 0,734; R <sup>2</sup> = 0,018; p = 0,728	r = 0,356; CI = 0,825 - 0,403; R <sup>2</sup> = 0,127; p = 0,347	r = 0,407; CI = 0,843 - 0,353; R <sup>2</sup> = 0,165; p = 0,278	r = 0,023; CI = 0,677 - 0,651; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,953	-	r = 0,055; CI = 0,632 - 0,694; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,889	r = 0,037; CI = 0,643 - 0,684; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,925	r = 0,576; CI = 0,911 - 0,758 - 0,641; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,786	r = 0,115; CI = 0,758 - 0,641; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,786	r = 0,07; CI = 0,623 - 0,702; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,858	r = 0,084; CI = 0,745 - 0,66; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,843
INL/RT	r = 0,239; CI = 0,506 - 0,779; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,536	r = 0,046; CI = 0,638 - 0,689; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,907	r = 0,119; CI = 0,592 - 0,726; R <sup>2</sup> = 0,014; p = 0,761	r = 0,134; CI = 0,582 - 0,18; R <sup>2</sup> = 0,018; p = 0,732	r = 0,219; CI = 0,771 - 0,521; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,571	r = 0,295; CI = 0,459 - 0,802; R <sup>2</sup> = 0,087; p = 0,441	r = 0,03; CI = 0,681 - 0,805 - 0,647; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,953	r = 0,734; CI = 0,94 - 0,136; R <sup>2</sup> = 0,538; p = 0,025	r = 0,055; CI = 0,632 - 0,694; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,889	-	r = 0,003; CI = 0,666 - 0,794 - 0,585; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,993	r = 0,203; CI = 0,78 - 0,609; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,693	r = 0,167; CI = 0,78 - 0,609; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,693	r = 0,07; CI = 0,623 - 0,702; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,858	r = 0,11; CI = 0,756 - 0,645; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,795

IPL/RT	r = 0,19; CI = - 0,543 - 0,758; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,625	r = 0,316; CI = - 0,441 - 0,81; R <sup>2</sup> = 0,1; p = 0,408	r = 0,273; CI = - 0,478 - 0,793; R <sup>2</sup> = 0,074; p = 0,477	r = - 0,318; CI = - 0,811 - 0,439; R <sup>2</sup> = 0,101; p = 0,404	r = 0,067; CI = - 0,625 - 0,7; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,864	r = - 0,131; CI = - 0,732 - 0,805 - 0,584; R <sup>2</sup> = 0,017; p = 0,737	r = - 0,303; CI = - 0,805 - 0,453; R <sup>2</sup> = 0,092; p = 0,429	r = - 0,424; CI = - 0,849 - 0,335; R <sup>2</sup> = 0,18; p = 0,256	r = 0,037; CI = - 0,643 - 0,684; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,925	r = - 0,003; CI = - 0,666 - 0,662; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,993	-	r = 0,208; CI = - 0,582 - 0,796; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,622	r = 0,517; CI = - 0,295 - 0,896; R <sup>2</sup> = 0,268; p = 0,189	r = - 0,245; CI = - 0,782 - 0,5; R <sup>2</sup> = 0,0602; p = 0,525	r = 0,185; CI = - 0,598 - 0,787; R <sup>2</sup> = 0,034; p = 0,661
BDNF oko	r = 0,106; CI = - 0,6 - 0,72; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,786	r = 0,137; CI = - 0,58 - 0,734; R <sup>2</sup> = 0,019; p = 0,725	r = 0,128; CI = - 0,586 - 0,73; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,743	r = - 0,221; CI = - 0,772 - 0,52; R <sup>2</sup> = 0,049; p = 0,569	r = 0,219; CI = - 0,574 - 0,8; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,603	r = 0,378; CI = - 0,446 - 0,855; R <sup>2</sup> = 0,143; p = 0,357	r = 0,126; CI = - 0,635 - 0,763; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,766	r = - 0,104; CI = - 0,753 - 0,648; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,807	r = - 0,576; CI = - 0,911 - 0,217; R <sup>2</sup> = 0,331; p = 0,136	r = - 0,203; CI = - 0,794 - 0,585; R <sup>2</sup> = 0,041; p = 0,63	r = 0,208; CI = - 0,582 - 0,796; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,622	-	r = 0,667; CI = - 0,072 - 0,933; R <sup>2</sup> = 0,445; p = 0,071	r = 0,783; CI = - 0,247 - 0,952; R <sup>2</sup> = 0,613; p = 0,013	r = 0,579; CI = - 0,309 - 0,928; R <sup>2</sup> = 0,335; p = 0,173
BDNF sur	r = 0,396; CI = - 0,363 - 0,84; R <sup>2</sup> = 0,157; p = 0,291	r = 0,448; CI = - 0,308 - 0,857; R <sup>2</sup> = 0,2; p = 0,227	r = 0,433; CI = - 0,325 - 0,852; R <sup>2</sup> = 0,187; p = 0,245	r = 0,007; CI = - 0,66 - 0,668; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,986	r = - 0,159; CI = - 0,777 - 0,615; R <sup>2</sup> = 0,025; p = 0,707	r = 0,326; CI = - 0,491 - 0,838; R <sup>2</sup> = 0,107; p = 0,430	r = 0,036; CI = - 0,686 - 0,722; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,933	r = - 0,463; CI = - 0,88 - 0,359; R <sup>2</sup> = 0,214; p = 0,249	r = - 0,115; CI = - 0,758 - 0,641; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,786	r = - 0,167; CI = - 0,78 - 0,609; R <sup>2</sup> = 0,028; p = 0,693	r = 0,517; CI = - 0,295 - 0,896; R <sup>2</sup> = 0,268; p = 0,189	r = 0,667; CI = - 0,072 - 0,933; R <sup>2</sup> = 0,445; p = 0,071	-	r = 0,273; CI = - 0,478 - 0,793; R <sup>2</sup> = 0,074; p = 0,477	r = 0,083; CI = - 0,715 - 0,787; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,859
NGF oko	r = 0,237; CI = - 0,461 - 0,754; R <sup>2</sup> = 0,056; p = 0,509	r = 0,164; CI = - 0,519 - 0,719; R <sup>2</sup> = 0,027; p = 0,651	r = 0,195; CI = - 0,496 - 0,735; R <sup>2</sup> = 0,038; p = 0,589	r = - 0,011; CI = - 0,636 - 0,623; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,976	r = 0,515; CI = - 0,226 - 0,879; R <sup>2</sup> = 0,266; p = 0,156	r = 0,191; CI = - 0,542 - 0,759; R <sup>2</sup> = 0,037; p = 0,622	r = - 0,126; CI = - 0,729 - 0,587; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,746	r = 0,056; CI = - 0,632 - 0,694; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,886	r = - 0,114; CI = - 0,724 - 0,595; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,77	r = 0,07; CI = - 0,623 - 0,702; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,858	r = - 0,245; CI = - 0,782 - 0,5; R <sup>2</sup> = 0,0602; p = 0,525	r = 0,783; CI = - 0,247 - 0,952; R <sup>2</sup> = 0,613; p = 0,013	r = 0,273; CI = - 0,478 - 0,793; R <sup>2</sup> = 0,074; p = 0,477	-	r = 0,727; CI = - 0,045 - 0,947; R <sup>2</sup> = 0,528; p = 0,041
NGF sur	r = 0,556; CI = - 0,245 - 0,906; R <sup>2</sup> = 0,309; p = 0,153	r = 0,551; CI = - 0,251 - 0,905; R <sup>2</sup> = 0,304; p = 0,157	r = 0,56; CI = - 0,239 - 0,907; R <sup>2</sup> = 0,314; p = 0,149	r = - 0,058; CI = - 0,733 - 0,674; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,892	r = 0,406; CI = - 0,5 - 0,888; R <sup>2</sup> = 0,165; p = 0,366	r = 0,026; CI = - 0,691 - 0,718; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,952	r = - 0,163; CI = - 0,778 - 0,612; R <sup>2</sup> = 0,0261; p = 0,701	r = 0,032; CI = - 0,688 - 0,72; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,941	r = - 0,084; CI = - 0,745 - 0,66; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,843	r = - 0,11; CI = - 0,756 - 0,645; R <sup>2</sup> = 0,012; p = 0,795	r = 0,185; CI = - 0,598 - 0,787; R <sup>2</sup> = 0,034; p = 0,661	r = 0,579; CI = - 0,309 - 0,928; R <sup>2</sup> = 0,335; p = 0,173	r = 0,083; CI = - 0,715 - 0,787; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,859	r = 0,727; CI = - 0,045 - 0,947; R <sup>2</sup> = 0,528; p = 0,041	-

Skróty: SPB – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; MAP – średnie ciśnienie tętnicze; IOP – ciśnienie śródgałkowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; CI – 95% przedział ufności

Tabela 13. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie SHR\_12t\_NAD (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	SBP	DBP	MAP	IOP	a/v	RT	RGC	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	BDNF oko	BDNF sur	NGF oko	NGF sur
SBP	-	r = 0,99; CI = 0,964 – 0,997; R <sup>2</sup> = 0,981; p < 0,001	r = 0,972; CI = 0,933 – 0,993; R <sup>2</sup> = 0,946; p < 0,001	r = -0,232; CI = -0,711 – 0,232; R <sup>2</sup> = 0,054; p = 0,469	r = -0,043; CI = -0,544 – 0,454; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,895	r = 0,2; p = 0,584	r = 0,039; CI = -0,653 – 0,575; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,915	r = -0,646; CI = -0,907 – -0,028; R <sup>2</sup> = 0,418; p = 0,044	r = -0,143; CI = -0,709 – 0,535; R <sup>2</sup> = 0,02; p = 0,695	r = 0,201; CI = -0,491 – 0,737; R <sup>2</sup> = 0,04; p = 0,579	r = 0,312; CI = -0,396 – 0,778; R <sup>2</sup> = 0,097; p = 0,381	r = 0,216; CI = -0,661 – 0,744; R <sup>2</sup> = 0,047; p = 0,549	r = -0,101; CI = -0,661 – 0,531; R <sup>2</sup> = 0,01; p = 0,767	r = 0,154; CI = -0,461 – 0,669; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,634	r = 0,402; CI = -0,261 – 0,807; R <sup>2</sup> = 0,162; p = 0,22
DBP	r = 0,99; CI = 0,964 – 0,997; R <sup>2</sup> = 0,981; p < 0,001	-	r = 0,99; CI = 0,964 – 0,997; R <sup>2</sup> = 0,981; p < 0,001	r = -0,293; CI = -0,742 – 0,337; R <sup>2</sup> = 0,086; p = 0,355	r = -0,288; CI = -0,739 – 0,343; R <sup>2</sup> = 0,083; p = 0,365	r = 0,127; p = 0,733	r = -0,072; CI = -0,671 – 0,584; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,844	r = -0,633; CI = -0,903 – -0,006; R <sup>2</sup> = 0,401; p = 0,049	r = -0,114; CI = -0,694 – 0,556; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,754	r = 0,057; CI = -0,594 – 0,663; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,876	r = 0,517; CI = -0,166 – 0,865; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,994	r = 0,003; CI = -0,631 – 0,628; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,994	r = 0,046; CI = -0,57 – 0,629; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,893	r = -0,012; CI = -0,582 – 0,566; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,969	r = 0,527; CI = -0,107 – 0,856; R <sup>2</sup> = 0,278; p = 0,096
MAP	r = 0,972; CI = 0,902 – 0,993; R <sup>2</sup> = 0,946; p < 0,001	r = 0,99; CI = 0,964 – 0,997; R <sup>2</sup> = 0,981; p < 0,001	-	r = -0,2747; CI = -0,7331 – 0,3552; R <sup>2</sup> = 0,07548; p = 0,3875	r = -0,199; CI = -0,694 – 0,423; R <sup>2</sup> = 0,04; p = 0,535	r = 0,079; p = 0,838	r = -0,028; CI = -0,647 – 0,612; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,937	r = -0,657; CI = -0,91 – 0,047; R <sup>2</sup> = 0,432; p = 0,039	r = -0,128; CI = -0,701 – 0,545; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,724	r = 0,118; CI = -0,552 – 0,696; R <sup>2</sup> = 0,041; p = 0,745	r = 0,448; CI = -0,253 – 0,841; R <sup>2</sup> = 0,201; p = 0,194	r = 0,079; CI = -0,579 – 0,675; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,828	r = -0,009; CI = -0,606 – 0,594; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,979	r = 0,052; CI = -0,538 – 0,608; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,873	r = 0,485; CI = -0,162 – 0,841; R <sup>2</sup> = 0,236; p = 0,13
IOP	r = -0,232; CI = -0,711 – 0,395; R <sup>2</sup> = 0,054; p = 0,469	r = -0,2934; CI = -0,7423 – 0,3373; R <sup>2</sup> = 0,08609; p = 0,3547	r = -0,2747; CI = -0,7331 – 0,3552; R <sup>2</sup> = 0,07548; p = 0,3875	-	r = -0,125; CI = -0,652 – 0,484; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,7	r = -0,255; p = 0,475	r = -0,545; CI = -0,875 – 0,129; R <sup>2</sup> = 0,297; p = 0,103	r = -0,439; CI = -0,763 – 0,837; R <sup>2</sup> = 0,193; p = 0,204	r = -0,402; CI = -0,823 – 0,162; R <sup>2</sup> = 0,249	r = -0,191; CI = -0,732 – 0,499; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,598	r = -0,486; CI = -0,854 – 0,208; R <sup>2</sup> = 0,236; p = 0,155	r = -0,202; CI = -0,738 – 0,49; R <sup>2</sup> = 0,041; p = 0,577	r = 0,515; CI = -0,122 – 0,852; R <sup>2</sup> = 0,266; p = 0,105	r = -0,039; CI = -0,6 – 0,547; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,904	r = -0,534; CI = -0,859 – 0,096; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,09
a/v	r = -0,043; CI = -0,602 – 0,544; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,895	r = -0,288; CI = -0,739 – 0,423; R <sup>2</sup> = 0,083; p = 0,365	r = -0,199; CI = -0,694 – 0,423; R <sup>2</sup> = 0,04; p = 0,535	r = -0,125; CI = -0,652 – 0,484; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,7	-	r = 0,115; p = 0,759	r = 0,567; CI = -0,097 – 0,322; R <sup>2</sup> = 0,087	r = -0,599; CI = -0,892 – 0,359; R <sup>2</sup> = 0,067	r = -0,254; CI = -0,762 – 0,447; R <sup>2</sup> = 0,065; p = 0,479	r = 0,588; CI = -0,067 – 0,481 – 0,661 – 0,743; R <sup>2</sup> = 0,046; p = 0,554	r = 0,213; CI = -0,661 – 0,718 – 0,596; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,882	r = 0,054; CI = -0,718 – 0,603; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,542	r = -0,207; CI = -0,718 – 0,347; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,542	r = -0,283; CI = -0,737 – 0,491; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,373	r = -0,155; CI = -0,691 – 0,491; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,649
RT	r = 0,2; p = 0,584	r = 0,127; p = 0,733	r = 0,079; p = 0,838	r = -0,255; p = 0,475	r = 0,115; p = 0,759	-	r = 0,503; p = 0,144	r = -0,297; p = 0,407	r = -0,758; p = 0,015	r = 0,273; p = 0,448	r = 0,115; p = 0,759	r = 0,092; p = 0,819	r = 0,127; p = 0,733	r = 0,042; p = 0,918	r = -0,083; p = 0,843
RGC	r = 0,039; CI = -0,605 – 0,653; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,915	r = -0,072; CI = -0,671 – 0,584; R <sup>2</sup> = 0,005; p = 0,844	r = -0,028; CI = -0,647 – 0,612; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,937	r = -0,545; CI = -0,875 – 0,129; R <sup>2</sup> = 0,297; p = 0,103	r = 0,567; CI = -0,097 – 0,882; R <sup>2</sup> = 0,322; p = 0,087	r = 0,503; p = 0,144	-	r = -0,39; CI = -0,819 – 0,318; R <sup>2</sup> = 0,152; p = 0,265	r = -0,191; CI = -0,733 – 0,499; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,597	r = 0,595; CI = -0,055 – 0,891; R <sup>2</sup> = 0,354; p = 0,07	r = -0,121; CI = -0,697 – 0,551; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,74	r = 0,535; CI = -0,201 – 0,885; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,138	r = 0,146; CI = -0,71 – 0,532; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,687	r = 0,349; CI = -0,36 – 0,802; R <sup>2</sup> = 0,122; p = 0,323	r = -0,258; CI = -0,787 – 0,49; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,503
ONL/RT	r = -0,646; CI = -0,907 – -0,028; R <sup>2</sup> = 0,418; p = 0,044	r = -0,633; CI = -0,903 – -0,006; R <sup>2</sup> = 0,401; p = 0,049	r = -0,657; CI = -0,91 – 0,047; R <sup>2</sup> = 0,432; p = 0,039	r = 0,439; CI = -0,263 – 0,837; R <sup>2</sup> = 0,193; p = 0,204	r = -0,599; CI = -0,892 – 0,049; R <sup>2</sup> = 0,359; p = 0,067	r = -0,297; p = 0,407	r = -0,39; CI = -0,819 – 0,318; R <sup>2</sup> = 0,152; p = 0,265	-	r = 0,239; CI = -0,46 – 0,755; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,506	r = -0,675; CI = -0,916 – -0,079; R <sup>2</sup> = 0,456; p = 0,032	r = -0,439; CI = -0,819 – 0,316; R <sup>2</sup> = 0,154; p = 0,263	r = -0,46; CI = -0,861 – 0,294; R <sup>2</sup> = 0,211; p = 0,213	r = -0,231; CI = -0,751 – 0,467; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,522	r = -0,496; CI = -0,858 – 0,195; R <sup>2</sup> = 0,246; p = 0,145	r = -0,123; CI = -0,59 – 0,728; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,753
OPL/RT	r = -0,143; CI = -0,709 – 0,535; R <sup>2</sup> = 0,02; p = 0,695	r = -0,114; CI = -0,694 – 0,556; R <sup>2</sup> = 0,013; p = 0,754	r = -0,128; CI = -0,701 – 0,545; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,724	r = 0,402; CI = -0,304 – 0,823; R <sup>2</sup> = 0,162; p = 0,249	r = -0,254; CI = -0,762 – 0,447; R <sup>2</sup> = 0,065; p = 0,479	r = -0,758; p = 0,015	r = -0,191; CI = -0,733 – 0,499; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,597	r = 0,239; CI = -0,46 – 0,755; R <sup>2</sup> = 0,057; p = 0,506	-	r = 0,041; CI = -0,604 – 0,654; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,911	r = -0,381; CI = -0,815 – 0,327; R <sup>2</sup> = 0,145; p = 0,277	r = 0,248; CI = -0,498 – 0,783; R <sup>2</sup> = 0,061; p = 0,52	r = 0,54; CI = -0,136 – 0,873; R <sup>2</sup> = 0,291; p = 0,107	r = 0,231; CI = -0,466 – 0,751; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,521	r = -0,386; CI = -0,836 – 0,374; R <sup>2</sup> = 0,149; p = 0,305

INL/RT	r = 0,201; CI = -0,491 – 0,737; R <sup>2</sup> = 0,04; p = 0,579	r = 0,057; CI = -0,594 – 0,663; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,876	r = 0,118; CI = -0,552 – 0,737; R <sup>2</sup> = 0,014; p = 0,745	r = -0,191; CI = -0,732 – 0,499; R <sup>2</sup> = 0,036; p = 0,598	r = 0,588; CI = -0,067 – 0,889; R <sup>2</sup> = 0,345; p = 0,074	r = 0,273; p = 0,448	r = 0,595; CI = -0,055 – 0,891; R <sup>2</sup> = 0,354; p = 0,07	r = -0,675; CI = -0,916 – -0,079; R <sup>2</sup> = 0,456; p = 0,032	r = 0,041; CI = -0,604 – 0,654; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,911	-	r = -0,27; CI = -0,769 – 0,434; R <sup>2</sup> = 0,073; p = 0,451	r = 0,593; CI = -0,117 – 0,902; R <sup>2</sup> = 0,352; p = 0,092	r = 0,151; CI = -0,529 – 0,713; R <sup>2</sup> = 0,023; p = 0,678	r = 0,687; CI = -0,101 – 0,919; R <sup>2</sup> = 0,472; p = 0,028	r = -0,456; CI = -0,86 – 0,299; R <sup>2</sup> = 0,208; p = 0,218
IPL/RT	r = 0,312; CI = -0,396 – 0,787; R <sup>2</sup> = 0,097; p = 0,381	r = 0,517; CI = -0,166 – 0,865; R <sup>2</sup> = 0,268; p = 0,126	r = 0,448; CI = -0,253 – 0,841; R <sup>2</sup> = 0,201; p = 0,194	r = -0,486; CI = -0,854 – 0,208; R <sup>2</sup> = 0,236; p = 0,155	r = 0,213; CI = -0,481 – 0,743; R <sup>2</sup> = 0,046; p = 0,554	r = -0,115; p = 0,759	r = -0,121; CI = -0,697 – 0,551; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,74	r = -0,392; CI = -0,819 – 0,316; R <sup>2</sup> = 0,154; p = 0,263	r = -0,381; CI = -0,815 – 0,327; R <sup>2</sup> = 0,145; p = 0,277	r = -0,27; CI = -0,769 – 0,434; R <sup>2</sup> = 0,073; p = 0,451	-	r = 0,055; CI = -0,632 – 0,694; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,888	r = 0,097; CI = -0,685 – 0,568; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,791	r = 0,006; CI = -0,633 – 0,626; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,987	r = 0,273; CI = -0,478 – 0,793; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,074; p = 0,478
BDNF oko	r = 0,216; CI = -0,479 – 0,744; R <sup>2</sup> = 0,047; p = 0,549	r = -0,003; CI = -0,631 – 0,628; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,994	r = 0,079; CI = -0,579 – 0,675; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,828	r = -0,202; CI = -0,738 – 0,49; R <sup>2</sup> = 0,041; p = 0,577	r = -0,054; CI = -0,661 – 0,596; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,882	r = -0,092; p = 0,819	r = 0,535; CI = -0,201 – 0,885; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,138	r = -0,46; CI = -0,861 – 0,294; R <sup>2</sup> = 0,211; p = 0,213	r = 0,248; CI = -0,498 – 0,783; R <sup>2</sup> = 0,061; p = 0,52	r = 0,593; CI = -0,117 – 0,902; R <sup>2</sup> = 0,352; p = 0,092	r = 0,055; CI = -0,632 – 0,694; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,888	-	r = -0,17; CI = -0,722 – 0,515; R <sup>2</sup> = 0,029; p = 0,639	r = 0,915; CI = -0,674 – 0,98; R <sup>2</sup> = 0,838; p < 0,001	r = -0,337; CI = -0,818 – 0,421; R <sup>2</sup> = 0,114; p = 0,375
BDNF sur	r = -0,101; CI = -0,661 – 0,531; R <sup>2</sup> = 0,01; p = 0,767	r = 0,046; CI = -0,57 – 0,629; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,893	r = -0,009; CI = -0,606 – 0,594; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,979	r = 0,515; CI = -0,122 – 0,852; R <sup>2</sup> = 0,266; p = 0,105	r = -0,207; CI = -0,718 – 0,449; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,542	r = -0,127; p = 0,733	r = -0,146; CI = -0,71 – 0,532; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,687	r = -0,231; CI = -0,136 – 0,751 – 0,467; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,522	r = 0,54; CI = -0,136 – 0,873; R <sup>2</sup> = 0,291; p = 0,107	r = 0,151; CI = -0,529 – 0,713; R <sup>2</sup> = 0,023; p = 0,678	r = -0,097; CI = -0,685 – 0,722 – 0,515; R <sup>2</sup> = 0,009; p = 0,639	r = -0,17; CI = -0,722 – 0,515; R <sup>2</sup> = 0,029; p = 0,639	-	r = -0,04; CI = -0,625 – 0,574; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,908	r = -0,526; CI = -0,868 – 0,155; R <sup>2</sup> = 0,277; p = 0,118
NGF oko	r = 0,154; CI = -0,461 – 0,669; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,634	r = -0,012; CI = -0,582 – 0,566; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,969	r = 0,052; CI = -0,538 – 0,608; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,873	r = -0,039; CI = -0,6 – 0,547; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,904	r = -0,283; CI = -0,737 – 0,347; R <sup>2</sup> = 0,08; p = 0,373	r = 0,042; p = 0,918	r = 0,349; CI = -0,36 – 0,802; R <sup>2</sup> = 0,122; p = 0,323	r = -0,496; CI = -0,858 – 0,195; R <sup>2</sup> = 0,246; p = 0,145	r = 0,231; CI = -0,466 – 0,751; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,521	r = 0,687; CI = -0,101 – 0,919; R <sup>2</sup> = 0,472; p = 0,028	r = -0,006; CI = -0,633 – 0,626; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,987	r = 0,915; CI = -0,674 – 0,98; R <sup>2</sup> = 0,838; p < 0,001	r = -0,04; CI = -0,625 – 0,574; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,908	-	r = -0,426; CI = -0,817 – 0,234; R <sup>2</sup> = 0,181; p = 0,192
NGF sur	r = 0,402; CI = -0,261 – 0,807; R <sup>2</sup> = 0,162; p = 0,22	r = 0,527; CI = -0,107 – 0,856; R <sup>2</sup> = 0,278; p = 0,096	r = 0,485; CI = -0,162 – 0,841; R <sup>2</sup> = 0,236; p = 0,13	r = -0,534; CI = -0,859 – 0,096; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,09	r = -0,155; CI = -0,691 – 0,491; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,649	r = -0,083; p = 0,843	r = -0,258; CI = -0,787 – 0,49; R <sup>2</sup> = 0,067; p = 0,503	r = 0,123; CI = -0,59 – 0,728; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,753	r = -0,386; CI = -0,836 – 0,374; R <sup>2</sup> = 0,149; p = 0,305	r = -0,456; CI = -0,86 – 0,299; R <sup>2</sup> = 0,208; p = 0,218	r = 0,273; CI = -0,478 – 0,818 – 0,421; R <sup>2</sup> = 0,114; p = 0,375	r = -0,337; CI = -0,818 – 0,868 – 0,155; R <sup>2</sup> = 0,277; p = 0,118	r = -0,526; CI = -0,868 – 0,817 – 0,234; R <sup>2</sup> = 0,155; p = 0,192	-	r = -0,426; CI = -0,817 – 0,234; R <sup>2</sup> = 0,181; p = 0,192

Skróty: SPB – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; MAP – średnie ciśnienie tętnicze; IOP – ciśnienie śródgałkowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; CI – 95% przedział ufności

Tabela 14. Analiza opisowa parametrów ocenianych w modelu cukrzycy (szczury szczepu Lewis).

Grupa	IOP [mm Hg] średnia ± SD (IQR)	a/v średnia ± SD (IQR)	RT [µm] średnia ± SD (IQR)	ONL/RT średnia ± SD (IQR)	OPL/RT średnia ± SD (IQR)	INL/RT średnia ± SD (IQR)	IPL/RT średnia ± SD (IQR)	RGC średnia ± SD (IQR)	BDNF oko [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	BDNF sur [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	NGF oko [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)	NGF sur [OD <sub>450</sub> ] średnia ± SD (IQR)
Lewis_KON	15,91 ± 2,273 (14,67 – 17,67)	0,638 ± 0,081 (0,584 – 0,677)	112,3 ± 26,66 (92,8 – 133,5)	0,335 ± 0,045 (0,289 – 0,37)	0,052 ± 0,011 (0,042 – 0,061)	0,193 ± 0,019 (0,186 – 0,203)	0,287 ± 0,061 (0,23 – 0,333)	45,72 ± 7,722 (39,75 – 51,25)	0,468 ± 0,119 (0,385 – 0,571)	0,639 ± 0,321 (0,323 – 0,965)	0,165 ± 0,023 (0,151 – 0,177)	0,101 ± 0,027 (0,088 – 0,112)
Lewis_CUK	16,32 ± 2,488 (14,67 – 18,33)	0,703 ± 0,065 (0,667 – 0,748)	119,4 ± 19,1 (103 – 132)	0,41 ± 0,056 (0,352 – 0,461)	0,055 ± 0,014 (0,045 – 0,059)	0,201 ± 0,027 (0,18 – 0,218)	0,226 ± 0,06 (0,178 – 0,272)	48,04 ± 10,5 (43 – 53)	0,517 ± 0,062 (0,466 – 0,569)	0,242 ± 0,163 (0,147 – 0,222)	0,176 ± 0,022 (0,161 – 0,187)	0,106 ± 0,023 (0,089 – 0,124)
Wartości p w porównaniach między grupami												
Lewis_KON vs. Lewis_CUK	0,521	<b>0,001</b>	0,243	<b>&lt;0,001</b>	0,052	0,295	<b>0,003</b>	0,437	0,147	<b>&lt;0,001</b>	0,073	0,557

Skróty: IOP – ciśnienie śródgłowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy siatkowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; OD<sub>450</sub> – gęstość optyczna odczytywana przy długości fal 450 nm; SD – odchylenie standardowe; IQR - rozstęp międzykwartyłowy.



Tabela 15. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie Lewis\_KON (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	IOP	a/v	RT	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	RGC	BDNF oko	BDNF sur	NGF oko	NGF sur
IOP	-	r = 0,2478; CI = -0,452 – 0,759; R <sup>2</sup> = 0,061; p = 0,49	r = -0,905; CI = -0,99 – 0,351; R <sup>2</sup> = 0,819; p = <b>0,013</b>	r = 0,752; CI = -0,154 – 0,971; R <sup>2</sup> = 0,565; p = 0,085	r = 0,292; CI = -0,681 – 0,892; R <sup>2</sup> = 0,085; p = 0,575	r = 0,379; CI = -0,625 – 0,911; R <sup>2</sup> = 0,144; p = 0,459	r = -0,726; CI = -0,968 – 0,209; R <sup>2</sup> = 0,527; p = 0,103	r = -0,262; CI = -0,885 – 0,698; R <sup>2</sup> = 0,068; p = 0,616	r = -0,036; p = 0,964	r = 0,3; p = 0,683	r = 0,765; p = <b>0,013</b>	r = -0,347; p = 0,399
a/v	r = 0,2478; CI = -0,452 – 0,759; R <sup>2</sup> = 0,061; p = 0,49	-	r = -0,379; CI = -0,911 – 0,625; R <sup>2</sup> = 0,144; p = 0,458	r = 0,048; CI = -0,795 – 0,827; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,929	r = 0,583; CI = -0,434 – 0,947; R <sup>2</sup> = 0,34; p = 0,225	r = -0,22; CI = -0,875 – 0,72; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,67	r = 0,171; CI = -0,744 – 0,863; R <sup>2</sup> = 0,029; p = 0,747	r = -0,173; CI = -0,863 – 0,743; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,743	r = -0,657; CI = -0,943 – 0,19; R <sup>2</sup> = 0,432; p = 0,109	r = -0,289; CI = -0,933 – 0,797; R <sup>2</sup> = 0,083; p = 0,638	r = 0,154; CI = -0,527 – 0,714; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,671	r = 0,558; CI = -0,242 – 0,906; R <sup>2</sup> = 0,312; p = 0,151
RT	r = -0,905; CI = -0,99 – 0,351; R <sup>2</sup> = 0,819; p = <b>0,013</b>	r = -0,379; CI = -0,911 – 0,625; R <sup>2</sup> = 0,144; p = 0,458	-	r = -0,869; CI = -0,986 – 0,194; R <sup>2</sup> = 0,755; p = <b>0,025</b>	r = -0,557; CI = -0,943 – 0,465; R <sup>2</sup> = 0,31; p = 0,251	r = -0,599; CI = -0,949 – 0,414; R <sup>2</sup> = 0,358; p = 0,209	r = 0,803; CI = -0,026 – 0,978; R <sup>2</sup> = 0,644; p = 0,055	r = 0,49; CI = -0,534 – 0,931; R <sup>2</sup> = 0,24; p = 0,324	r = -0,793; R <sup>2</sup> = 0,629; p = 0,417	r = -0,234; R <sup>2</sup> = 0,055; p = 0,85	r = -0,331; CI = -0,901 – 0,657; R <sup>2</sup> = 0,11; p = 0,521	r = -0,965; CI = -0,998 – 0,552; R <sup>2</sup> = 0,93; p = <b>0,008</b>
ONL/RT	r = 0,752; CI = -0,154 – 0,971; R <sup>2</sup> = 0,565; p = 0,085	r = 0,048; CI = -0,795 – 0,827; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,929	r = -0,869; CI = -0,986 – 0,194; R <sup>2</sup> = 0,755; p = <b>0,025</b>	-	r = 0,483; CI = -0,489 – 0,93; R <sup>2</sup> = 0,234; p = 0,332	r = 0,534; CI = -0,489 – 0,939; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,275	r = -0,77; CI = -0,973 – 0,11; R <sup>2</sup> = 0,594; p = 0,073	r = -0,456; CI = -0,925 – 0,565; R <sup>2</sup> = 0,208; p = 0,364	r = 0,432; R <sup>2</sup> = 0,186; p = 0,716	r = -0,522; R <sup>2</sup> = 0,272; p = 0,651	r = 0,345; CI = -0,648 – 0,904; R <sup>2</sup> = 0,119; p = 0,503	r = 0,773; CI = -0,343 – 0,984; R <sup>2</sup> = 0,598; p = 0,125
OPL/RT	r = 0,292; CI = -0,681 – 0,892; R <sup>2</sup> = 0,085; p = 0,575	r = 0,583; CI = -0,434 – 0,947; R <sup>2</sup> = 0,34; p = 0,225	r = -0,557; CI = -0,943 – 0,465; R <sup>2</sup> = 0,31; p = 0,251	r = 0,483; CI = -0,540 – 0,93; R <sup>2</sup> = 0,234; p = 0,332	-	r = 0,173; CI = -0,743 – 0,863; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,743	r = -0,061; CI = -0,831 – 0,79; R <sup>2</sup> = 0,004; p = 0,909	r = -0,609; CI = -0,951 – 0,401; R <sup>2</sup> = 0,371; p = 0,2	r = 0,881; R <sup>2</sup> = 0,776; p = 0,314	r = -0,999; R <sup>2</sup> = 0,998; p = <b>0,031</b>	r = -0,045; CI = -0,826 – 0,796; R <sup>2</sup> = 0,002; p = 0,933	r = 0,401; CI = -0,745 – 0,948; R <sup>2</sup> = 0,161; p = 0,503
INL/RT	r = 0,379; CI = -0,625 – 0,911; R <sup>2</sup> = 0,144; p = 0,459	r = -0,22; CI = -0,875 – 0,72; R <sup>2</sup> = 0,048; p = 0,67	r = -0,599; CI = -0,949 – 0,414; R <sup>2</sup> = 0,358; p = 0,209	r = 0,534; CI = -0,489 – 0,939; R <sup>2</sup> = 0,286; p = 0,275	r = 0,173; CI = -0,743 – 0,863; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,743	-	r = -0,829; CI = -0,981 – 0,053; R <sup>2</sup> = 0,687; p = <b>0,041</b>	r = -0,023; CI = -0,819 – 0,804; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,965	r = 0,755; R <sup>2</sup> = 0,57; p = 0,455	r < 0,001; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,1	r = 0,618; CI = -0,389 – 0,952; R <sup>2</sup> = 0,381; p = 0,191	r = 0,702; CI = -0,474 – 0,978; R <sup>2</sup> = 0,492; p = 0,187
IPL/RT	r = -0,726; CI = -0,968 – 0,209; R <sup>2</sup> = 0,527; p = 0,103	r = 0,171; CI = -0,744 – 0,863; R <sup>2</sup> = 0,029; p = 0,747	r = 0,803; CI = -0,026 – 0,978; R <sup>2</sup> = 0,644; p = 0,055	r = -0,77; CI = -0,973 – 0,11; R <sup>2</sup> = 0,594; p = 0,073	r = -0,061; CI = -0,831 – 0,79; R <sup>2</sup> = 0,004; p = 0,909	r = -0,829; CI = -0,981 – 0,053; R <sup>2</sup> = 0,687; p = <b>0,041</b>	-	r = 0,208; CI = -0,726 – 0,872; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,693	r = -0,396; R <sup>2</sup> = 0,157; p = 0,741	r = -0,205; R <sup>2</sup> = 0,042; p = 0,869	r = -0,485; CI = -0,93 – 0,539; R <sup>2</sup> = 0,235; p = 0,33	r = -0,92; CI = -0,995 – 0,202; R <sup>2</sup> = 0,847; p = <b>0,027</b>
RGC	r = -0,262; CI = -0,885 – 0,698; R <sup>2</sup> = 0,068; p = 0,616	r = -0,173; CI = -0,863 – 0,743; R <sup>2</sup> = 0,03; p = 0,743	r = 0,49; CI = -0,534 – 0,931; R <sup>2</sup> = 0,24; p = 0,324	r = -0,456; CI = -0,925 – 0,565; R <sup>2</sup> = 0,208; p = 0,364	r = -0,609; CI = -0,951 – 0,401; R <sup>2</sup> = 0,371; p = 0,2	r = -0,023; CI = -0,819 – 0,804; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,965	r = 0,208; CI = -0,726 – 0,872; R <sup>2</sup> = 0,043; p = 0,693	-	r = -0,923; R <sup>2</sup> = 0,852; p = 0,252	r = 0,937; R <sup>2</sup> = 0,877; p = 0,228	r = 0,615; CI = -0,393 – 0,952; R <sup>2</sup> = 0,378; p = 0,194	r = -0,476; CI = -0,957 – 0,701; R <sup>2</sup> = 0,227; p = 0,418
BDNF oko	r = -0,036; p = 0,964	r = -0,657; CI = -0,943 – 0,19; R <sup>2</sup> = 0,432; p = 0,109	r = -0,793; R <sup>2</sup> = 0,629; p = 0,417	r = 0,432; R <sup>2</sup> = 0,186; p = 0,716	r = 0,881; R <sup>2</sup> = 0,776; p = 0,314	r = 0,755; R <sup>2</sup> = 0,57; p = 0,455	r = -0,396; R <sup>2</sup> = 0,157; p = 0,741	r = -0,923; R <sup>2</sup> = 0,852; p = 0,252	-	r = 0,378; R <sup>2</sup> = 0,143; p = 0,753	r = 0,104; CI = -0,704 – 0,795; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,825	r = 0,125; CI = -0,851 – 0,907; R <sup>2</sup> = 0,016; p = 0,841
BDNF sur	r = 0,3; p = 0,683	r = -0,289; CI = -0,933 – 0,797; R <sup>2</sup> = 0,083; p = 0,638	r = -0,234; R <sup>2</sup> = 0,055; p = 0,85	r = -0,522; R <sup>2</sup> = 0,272; p = 0,651	r = -0,999; R <sup>2</sup> = 0,998; p = <b>0,031</b>	r < 0,001; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,1	r = -0,205; R <sup>2</sup> = 0,042; p = 0,869	r = 0,937; R <sup>2</sup> = 0,877; p = 0,228	r = 0,378; R <sup>2</sup> = 0,143; p = 0,753	-	r = -0,18; CI = -0,917 – 0,835; R <sup>2</sup> = 0,032; p = 0,772	r = 0,193; CI = -0,831 – 0,919; R <sup>2</sup> = 0,037; p = 0,756

NGF oko	$r = 0,765$ ; $p = 0,013$	$r = 0,154$ ; CI = -0,527 – 0,714; $R^2 = 0,024$ ; $p = 0,671$	$r =$ -0,331; CI = -0,901 – 0,657; $R^2 = 0,111$ ; $p = 0,521$	$r = 0,345$ ; CI = -0,648 – 0,904; $R^2 = 0,119$ ; $p = 0,503$	$r = -0,045$ ; CI = -0,826 – 0,796; $R^2 = 0,002$ ; $p = 0,933$	$r = 0,618$ ; CI = -0,389 – 0,952; $R^2 = 0,381$ ; $p = 0,191$	$r = -0,485$ ; CI = -0,93 – 0,539; $R^2 = 0,235$ ; $p = 0,33$	$r = 0,615$ ; CI = -0,393 – 0,952; $R^2 = 0,378$ ; $p = 0,194$	$r = 0,104$ ; CI = -0,704 – 0,795; $R^2 = 0,011$ ; $p = 0,825$	$r = -0,18$ ; CI = -0,917 – 0,835; $R^2 = 0,032$ ; $p = 0,772$	–	$r = -0,204$ ; CI = -0,795 – 0,585; $R^2 = 0,042$ ; $p = 0,627$
NGF sur	$r =$ -0,347; $p = 0,399$	$r = 0,558$ ; CI = -0,242 – 0,906; $R^2 = 0,312$ ; $p = 0,151$	$r =$ -0,965; CI = -0,998 – 0,552; $R^2 = 0,93$ ; $p = 0,008$	$r = 0,773$ ; CI = -0,343 – 0,984; $R^2 = 0,598$ ; $p = 0,125$	$r = 0,401$ ; CI = -0,745 – 0,948; $R^2 = 0,161$ ; $p = 0,503$	$r = 0,702$ ; CI = -0,474 – 0,978; $R^2 = 0,492$ ; $p = 0,187$	$r = -0,92$ ; CI = -0,995 – -0,202; $R^2 = 0,847$ ; $p = 0,027$	$r = -0,476$ ; CI = -0,957 – 0,701; $R^2 = 0,227$ ; $p = 0,418$	$r = 0,125$ ; CI = -0,851 – 0,907; $R^2 = 0,016$ ; $p = 0,841$	$r = 0,193$ ; CI = -0,831 – 0,919; $R^2 = 0,037$ ; $p = 0,756$	$r = -0,204$ ; CI = -0,795 – 0,585; $R^2 = 0,042$ ; $p = 0,627$	–

Skróty: IOP – ciśnienie śródgałkowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy splotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy splotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; CI – 95% przedział ufności

Tabela 16. Wyniki korelacji badanych parametrów w grupie Lewis\_CUK (analiza niekierunkowa [dwustronna]).

	IOP	a/v	RT	ONL/RT	OPL/RT	INL/RT	IPL/RT	RGC	BDNF oko	BDNF sur	NGF oko	NGF sur
IOP	-	r = 0,329; CI = -0,083; -0,035 – 0,616; R <sup>2</sup> = 0,108; p = 0,076	r = -0,083; CI = 0,787 -0,715; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,860	r = -0,592; CI = -0,930 – 0,291; R <sup>2</sup> = 0,35; p = 0,162	r = -0,145; CI = -0,81 – 0,683; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,757	r = 0,231; CI = -0,632 – 0,838; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,618	r = 0,584; CI = -0,302 – 0,929; R <sup>2</sup> = 0,341; p = 0,169	r = 0,051; CI = -0,73 – 0,775; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,913	r = -0,104; CI = -0,718 – 0,602; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,791	r = -0,371; p = 0,497	r = 0,348; CI = -0,361 – 0,602; R <sup>2</sup> = 0,121; p = 0,325	r = -0,181; CI = -0,754 – 0,549; R <sup>2</sup> = 0,033; p = 0,641
a/v	r = 0,329; CI = -0,035 – 0,616; R <sup>2</sup> = 0,108; p = 0,076	-	r = 0,079; CI = -0,717 – 0,785; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,867	r = -0,744; CI = -0,959 – 0,021; R <sup>2</sup> = 0,553; p = 0,055	r = 0,122; CI = -0,695 – 0,801; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,795	r = -0,449; CI = -0,898 – 0,459; R <sup>2</sup> = 0,202; p = 0,312	r = 0,881; CI = 0,38 – 0,982; R <sup>2</sup> = 0,776; p = 0,009	r = -0,525; CI = -0,916 – 0,377; R <sup>2</sup> = 0,276; p = 0,226	r = -0,323; CI = -0,837 – 0,494; R <sup>2</sup> = 0,105; p = 0,435	r = 0,714; p = 0,136	r = 0,581; CI = -0,135 – 0,898; R <sup>2</sup> = 0,338; p = 0,101	r = 0,795; CI = 0,204 – 0,961; R <sup>2</sup> = 0,631; p = 0,019
RT	r = -0,083; CI = 0,787 – 0,715; R <sup>2</sup> = 0,007; p = 0,860	r = 0,079; CI = -0,717 – 0,785; R <sup>2</sup> = 0,006; p = 0,867	-	r = 0,292; CI = -0,591 – 0,606; R <sup>2</sup> = 0,085; p = 0,526	r = -0,271; CI = -0,85 – 0,606; R <sup>2</sup> = 0,073; p = 0,557	r = -0,348; CI = -0,872 – 0,549; R <sup>2</sup> = 0,121; p = 0,445	r = -0,038; CI = -0,769 – 0,811; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,935	r = 0,148; CI = -0,681 – 0,811; R <sup>2</sup> = 0,022; p = 0,751	r = -0,452; CI = -0,899 – 0,457; R <sup>2</sup> = 0,204; p = 0,309	r = -0,4; p = 0,75	r = 0,23; CI = -0,633 – 0,838; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,62	r = 0,75; CI = -0,158 – 0,971; R <sup>2</sup> = 0,562; p = 0,086
ONL/RT	r = -0,592; CI = -0,930 – 0,291; R <sup>2</sup> = 0,35; p = 0,162	r = -0,744; CI = -0,959 – 0,021; R <sup>2</sup> = 0,553; p = 0,055	r = 0,292; CI = -0,591 – 0,857; R <sup>2</sup> = 0,085; p = 0,526	-	r = -0,28; CI = -0,853 – 0,599; R <sup>2</sup> = 0,079; p = 0,543	r = 0,324; CI = -0,568 – 0,866; R <sup>2</sup> = 0,105; p = 0,479	r = -0,946; CI = -0,992 – 0,67; R <sup>2</sup> = 0,895; p = 0,001	r = 0,423; CI = -0,484 – 0,892; R <sup>2</sup> = 0,179; p = 0,344	r = 0,155; CI = -0,677 – 0,813; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,74	r = 0; p > 0,999	r = -0,332; CI = -0,868 – 0,562; R <sup>2</sup> = 0,110; p = 0,467	r = 0,28; CI = -0,888 – 0,889; R <sup>2</sup> = 0,078; p = 0,591
OPL/RT	r = -0,145; CI = -0,81 – 0,683; R <sup>2</sup> = 0,021; p = 0,757	r = 0,122; CI = -0,695 – 0,801; R <sup>2</sup> = 0,015; p = 0,795	r = -0,271; CI = -0,85 – 0,606; R <sup>2</sup> = 0,073; p = 0,557	r = -0,28; CI = -0,853 – 0,599; R <sup>2</sup> = 0,079; p = 0,543	-	r = -0,358; CI = -0,875 – 0,541; R <sup>2</sup> = 0,128; p = 0,430	r = 0,286; CI = -0,595 – 0,855; R <sup>2</sup> = 0,082; p = 0,535	r = 0,032; CI = -0,739 – 0,767; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,946	r = -0,574; CI = -0,927 – 0,316; R <sup>2</sup> = 0,329; p = 0,178	r = -0,8; p = 0,333	r = 0,008; CI = -0,75 – 0,757; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,986	r = -0,0242; CI = -0,82 – 0,803; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,964
INL/RT	r = 0,231; CI = -0,632 – 0,838; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,618	r = -0,449; CI = -0,898 – 0,459; R <sup>2</sup> = 0,202; p = 0,312	r = -0,348; CI = -0,872 – 0,549; R <sup>2</sup> = 0,121; p = 0,445	r = 0,324; CI = -0,568 – 0,866; R <sup>2</sup> = 0,105; p = 0,479	r = -0,358; CI = -0,875 – 0,541; R <sup>2</sup> = 0,128; p = 0,430	-	r = -0,534; CI = -0,918 – 0,367; R <sup>2</sup> = 0,285; p = 0,217	r = 0,687; CI = -0,137 – 0,949; R <sup>2</sup> = 0,472; p = 0,088	r = 0,627; CI = -0,238 – 0,938; R <sup>2</sup> = 0,394; p = 0,132	r = 0,4; p = 0,75	r = -0,557; CI = -0,923 – 0,338; R <sup>2</sup> = 0,31; p = 0,194	r = 0,052; CI = -0,793 – 0,829; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,922
IPL/RT	r = 0,584; CI = -0,302 – 0,929; R <sup>2</sup> = 0,341; p = 0,169	r = 0,881; CI = 0,38 – 0,982; R <sup>2</sup> = 0,776; p = 0,009	r = -0,038; CI = -0,769 – 0,736; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,935	r = -0,946; CI = -0,992 – 0,67; R <sup>2</sup> = 0,895; p = 0,001	r = 0,286; CI = -0,595 – 0,855; R <sup>2</sup> = 0,082; p = 0,535	r = -0,534; CI = -0,918 – 0,367; R <sup>2</sup> = 0,285; p = 0,217	-	r = -0,51; CI = -0,913 – 0,394; R <sup>2</sup> = 0,26; p = 0,242	r = -0,374; CI = -0,879 – 0,528; R <sup>2</sup> = 0,14; p = 0,409	r = 0; p > 0,999	r = 0,563; CI = -0,330 – 0,924; R <sup>2</sup> = 0,317; p = 0,188	r = -0,152; CI = -0,858 – 0,752; R <sup>2</sup> = 0,023; p = 0,774
RGC	r = 0,051; CI = -0,73 – 0,775; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,913	r = -0,525; CI = -0,916 – 0,377; R <sup>2</sup> = 0,276; p = 0,226	r = 0,148; CI = -0,681 – 0,811; R <sup>2</sup> = 0,022; p = 0,751	r = 0,423; CI = -0,484 – 0,892; R <sup>2</sup> = 0,179; p = 0,344	r = 0,032; CI = -0,739 – 0,767; R <sup>2</sup> = 0,001; p = 0,946	r = 0,687; CI = -0,137 – 0,949; R <sup>2</sup> = 0,472; p = 0,088	r = -0,51; CI = -0,913 – 0,394; R <sup>2</sup> = 0,26; p = 0,242	-	r = 0,007; CI = -0,75 – 0,756; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,988	r = 0,2; p = 0,917	r = -0,595; CI = -0,931 – 0,286; R <sup>2</sup> = 0,354; p = 0,159	r = 0,57; CI = -0,449 – 0,945; R <sup>2</sup> = 0,325; p = 0,237
BDNF oko	r = -0,104; CI = -0,718 – 0,602; R <sup>2</sup> = 0,011; p = 0,791	r = -0,323; CI = -0,837 – 0,494; R <sup>2</sup> = 0,105; p = 0,435	r = -0,452; CI = -0,899 – 0,457; R <sup>2</sup> = 0,204; p = 0,309	r = 0,155; CI = -0,677 – 0,813; R <sup>2</sup> = 0,024; p = 0,74	r = -0,574; CI = -0,927 – 0,316; R <sup>2</sup> = 0,329; p = 0,178	r = 0,627; CI = -0,238 – 0,938; R <sup>2</sup> = 0,394; p = 0,132	r = -0,374; CI = -0,879 – 0,528; R <sup>2</sup> = 0,14; p = 0,409	r = 0,007; CI = -0,75 – 0,756; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,988	-	r = 0,1; p = 0,95	r = -0,56; CI = -0,892 – 0,166; R <sup>2</sup> = 0,314; p = 0,117	r = -0,312; CI = -0,834 – 0,503; R <sup>2</sup> = 0,098; p = 0,451
BDNF sur	r = -0,371; p = 0,497	r = 0,714; p = 0,136	r = -0,4; p = 0,75	r = 0; p > 0,999	r = -0,8; p = 0,333	r = 0,4; p = 0,75	r = 0; p > 0,999	r = 0,2; p = 0,917	r = 0,1; p = 0,95	-	r = -0,143; p = 0,803	r = -0,2; p = 0,714;

NGF oko	r = 0,348; CI = -0,361 - 0,802; R <sup>2</sup> = 0,121; p = 0,325	r = 0,581; CI = -0,135 - 0,898; R <sup>2</sup> = 0,338; p = 0,101	r = 0,23; CI = -0,633 - 0,838; R <sup>2</sup> = 0,053; p = 0,62	r = -0,332; CI = -0,868 - 0,562; R <sup>2</sup> = 0,110; p = 0,467	r = 0,008; CI = -0,75 - 0,757; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,986	r = -0,557; CI = -0,923 - 0,338; R <sup>2</sup> = 0,31; p = 0,194	r = 0,563; CI = -0,330 - 0,924; R <sup>2</sup> = 0,317; p = 0,188	r = -0,595; CI = -0,931 - 0,286; R <sup>2</sup> = 0,354; p = 0,159	r = -0,56; CI = -0,892 - 0,166; R <sup>2</sup> = 0,314; p = 0,117	r = -0,143; p = 0,803	-	r = 0,315; CI = -0,441 - 0,81; R <sup>2</sup> = 0,099; p = 0,409
NGF sur	r = -0,181; CI = -0,754 - 0,549; R <sup>2</sup> = 0,033; p = 0,641	r = 0,795; CI = 0,204 - 0,961; R <sup>2</sup> = 0,631; <b>p = 0,019</b>	r = 0,75; CI = -0,158 - 0,971; R <sup>2</sup> = 0,562; p = 0,086	r = 0,28; CI = -0,688 - 0,889; R <sup>2</sup> = 0,078; p = 0,591	r = -0,0242; CI = -0,82 - 0,803; R <sup>2</sup> < 0,001; p = 0,964	r = 0,052; CI = -0,793 - 0,829; R <sup>2</sup> = 0,003; p = 0,922	r = -0,152; CI = -0,858 - 0,752; R <sup>2</sup> = 0,023; p = 0,774	r = 0,57; CI = -0,449 - 0,945; R <sup>2</sup> = 0,325; p = 0,237	r = -0,312; CI = -0,834 - 0,503; R <sup>2</sup> = 0,098; p = 0,451	r = -0,2 p = 0,714;	r = 0,315; CI = -0,441 - 0,81; R <sup>2</sup> = 0,099; p = 0,409	-

Skróty: IOP – ciśnienie śródgałkowe; a/v – stosunek średnicy tętnic do średnicy żył na dnie oka; RT – grubość siatkówki; ONL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej zewnętrznej do grubości siatkówki; OPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej zewnętrznej do grubości siatkówki; INL/RT – stosunek grubości warstwy jądrazastej wewnętrznej do grubości siatkówki; IPL/RT – stosunek grubości warstwy spłotowatej wewnętrznej do grubości siatkówki; cRGC – centralne komórki zwojowe siatkówki; pRGC – obwodowe komórki zwojowe siatkówki; BDNF oko – poziom BDNF w galce ocznej; BDNF sur – poziom BDNF w surowicy; NGF oko – poziom NGF w galce ocznej; NGF sur – poziom NGF w surowicy; CI – 95% przedział ufności