

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Зорница Златарова, д.м.н.

назначена със заповед №1773/25.06.2024г. за член на Научното жури

относно

защита на дисертационен труд

от д-р Радиана Калинова Киркова

на тема „ПРИЛОЖЕНИЕ НА ОСТ-АНГИОГРАФИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С
МАКУЛНА ДЕГЕНЕРАЦИЯ, СВЪРЗАНА С ВЪЗРАСТТА И ХОРОИДАЛНА
НЕОВАСКУЛАРИЗАЦИЯ“

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност
„очни болести“, шифър 03.01.36

с научен ръководител: проф. д-р Снежана Мургова, дм

Кратки биографични данни

Д-р Радиана Калинова Киркова е роден през 1990. Завършва медицина през 2016г. в Медицински университет-София. През 2018г. завършва магистратура по „Обществено здраве и здравен мениджмънт“, а през 2020г. придобива специалност „очни болести“ в МУ-София. От декември 2020г. е зачислена, като докторант на самостоятелна подготовка към катедрата по „Очни болести, УНГ болести и ЛЧХ“ в МУ-Плевен. През март 2024 започва Специализация по Невроофтальмология в Университет Вита-Салуте Сан Рафаеле Виа Олджетина, Милано, Италия. В периода 10/02/2021 – 05/09/2022 работи като лекар, очни болести в Отделение по очни болести – УПМБАЛ „Свети Йоан Кръстител“, в периода 05/09/2022 – 04/09/2023 в Очна клиника – HUMANITAS Research Hospital, Милано, Италия, от 27/09/2023 – до момента работи в Очна клиника „Зрението“ – Екип Проф. Танев, както и от 01/04/2024 – до момента работи в Очна клиника – МБАЛ „Света София“. Д-р Киркова е участвала в редица курсове и специализации в Италия, посветени основно на ОСТ и ОСТ-А. През 2021г. д-р Киркова е положила изпит на ЕВО – Fellow of European Board of Ophthalmology (FEBO), през същата година е носител на награда за млад офталмолог с научен принос на името на проф. д-р Стоимен Дъбов.

Актуалност на проблема

Макулната дегенерация свързана с възрастта е една от водещите причини за слепота сред възрастното население, което определя голямото социално значение на това заболяване. Навременните диагностика и лечение са важни за постигане на максимално добър резултат по отношение съхраняването на зрението на тези болни и запазване на качеството им на живот. Макар и по-рядка, ексудативната форма на МДСВ, при която е налице хороидална неоваскуларизация има по-агресивен ход и по-бързо води до значително понижение на зрителната острота. Дълго време флуоресцеиновата ангиография беше основния диагностичен метод, даващ ни информация за наличието и вида на неоваскуларната мембрана (НВМ). В наши дни прецизна оценка на характеристиките на неоваскуларната мембрана, както и на промяната ѝ в хода на лечение с анти-VEGF медикаменти, може да бъде направена с помощта на ОСТ-ангиография (ОСТ-А). Неинвазивността, краткото време за изследване и високата информативност, които носи ОСТ-А по отношение на характеристиките на НВМ, дават възможност за многократно извършване на изследването и за идентифицирането на отделните морфологични видове неоваскуларни мембрани, което да служи като прогностичен маркер за развитие и ход на заболяването.

В дисертационния си труд д-р Радина Киркова проучва именно възможностите на ОСТ-А за изследване на вида на неоваскуларната мембрана, белезите на прогресия и динамиката в морфологичните ѝ характеристики, както и влиянието на провежданата анти-VEGF терапия върху активността на мембраната. Всичко това, прави дисертационния труд актуален и практически полезен.

Структура на дисертационния труд

Структурата на представения дисертационен труд е съобразена със съвременните изисквания и стандарти, написан е на 162 страници, онагледен с 16 таблици и 20 фигури. Трудът включва следните раздели: използвани съкращения – 1стр., въведение – 1 стр., литературен обзор – 46 стр., цели и задачи -1 стр., материал и методи – 11 стр., резултати – 34 стр., обсъждане – 37 стр., изводи – 1 стр., заключение - 2 стр., приноси - 2 стр., библиография – 23 стр. Библиографската справка включва 179 литературни източника, от които 2 на български и 177 на английски език.

Литературният обзор е изчерпателен и показва детайлно познаване на материята. Започва с преглед на различни класификации на МДСВ и данни за разпространението ѝ, като една от водещите причини за слепота в света. Разгледани са различни рискови

фактори за развитието на МДСВ, патогенезата на заболяването, особеностите на различните диагностични методи – флуоресцеинова ангиография, OCT и OCT-A с техните предимства и недостатъци. Обръща се внимание и на съвременните възможности за лечение на пациентите с ексудативна форма на МДСВ с анти- VEGF медикаменти. В заключението на литературния обзор се подчертава, че OCT-A се превърна в неотменна част от диагностиката и проследяването на пациенти с МДСВ, като приложението му подобрява възможностите за идентифициране на ХНВ и динамиката във вида ѝ в хода на лечението, което е предпоставка за направените в дисертационния труд задълбочени изследвания върху значението на отделните морфологични видове ХНВ, като прогностичен маркер за хода на заболяването.

Целта на дисертационния труд е да проучи възможностите на OCT-A при диагностицирането и проследяване на ефекта от лечението на пациенти с МДСВ и хороидална неоваскуларизация.

За постигането на тази цел, докторантът си е поставил следните 6 задачи:

Задача 1: Дефиниране на вида неоваскуларна мембрана, съгласно изображенията от OCT-A и предложената от *Coscas et al* класификация.

Задача 2: Прилагане на анти-VEGF интравитреална терапия при пациенти с МДСВ и ХНВ. Оценка на промяна на вида неоваскуларна мембрана.

Задача 3: Дефиниране на OCT-A белезите на прогресия и активност на неоваскуларната мембрана.

Задача 4: Влияние на провежданата анти-VEGF терапия върху активността на мембраната и OCT-A белезите на прогресия и активност.

Задача 5: Оценка на влиянието на съдовото ремоделиране след анти-VEGF терапия върху зрителната острота.

Задача 6: Съставяне на протокол за терапевтично поведение.

Материал и методи

За целите на дисертационния труд е проведено ретроспективно клинично проучване в периода ноември 2018г. – декември 2020г., в което са проследени 119 болни, 61 от които

са изследвани и лекувани във Франция. Лечебните заведения, които са послужили, като база за събиране на материали са:

- СБАЛОБ „Зрение“ – София
- Societe d'experience liberal des ophthalmologists Barathon - Montluçon, Франция
- Клиника по очни болести УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен

Клиничните методи включват подробна анамнеза, стандартен очен преглед, включващ индиректна офталмобиомикроскопия с +90Д леща. На всички пациенти са направени и високоспециализирани изследвания ФА, ОСТ и ОСТ-А. В зависимост от вида на НВМ от ОСТ-А пациентите са разделени в следните групи:

1. НВ-мембрана тип „Корал“ – с ексцентричен хранещ съд, масивни трункуси с тънки капилярни рамификации
2. НВ-мембрана тип „Медуза“ – има масивен хранещ съд с центрифугални съдови трункуси с тънки капиляри
3. НВ-мембрана тип „Мъртво дърво“ – има масивен основен трункус и вариращи по големина и калибър рамификации
4. НВ-мембрана тип „Дантела“ – силно анастомозираща съдова мрежа, без основен съд
5. НВ-мембрана тип „Филаменти“ – съставена от множество преплитаци се, нишковидни съдове
6. Недетерминиран тип НВ-мембрана – чиито ОСТ-А изглед не отговаря на нито един от горните видове

На всички пациенти включени в проучването е проведено лечение с интравитреално приложение на Eulea по стандартна методика и протокол с три натоварващи дози през месец, като на 25-тия ден след апликацията е правен контролен преглед, включващ изследване на очния статус, ОСТ и ОТС-А.

Д-р Киркова е използвала съвременни статистически методи за обработка на данни, а именно корелационен анализ, тест на независимите променливи (Independent Sample T-test), корелация на Pearson (chi-square test), коефициентът на корелация по ранг на Спирман. Използвани са софтуерни статистически пакети SPSS и EXCEL за Windows.

Като статистически значими са приети всички стойности с $P < 0.05$. Избраното критично ниво на значимост е $\alpha = 0,05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато P стойността (P -value) е по-малка от α .

Резултати

В настоящето проучване проспективно са проследени 119 пациенти с новооткрита, нелекувана до момента неоваскуларна форма на МДСВ. Средната им възраст е 75.45 г, като от женски пол са били 55,5% от тях.

Според морфологичните характеристики от ОСТ-А на наивните неоваскуларни мембрани, пациентите са били разделени в следните групи: „корал“, „медуза“, „мъртво дърво“, „дантела“, „филаменти“ и „недетерминиран“, като най-голям е броят на пациентите в групата тип „корал“ (40 бр.), следван от „дантела“ (25 бр.), „филаменти“ (23 бр.) и „медуза“ (19 бр.). Анализирано е разпределението на отделните видове наивна НВМ по пол и възраст, като не е установена статистически значима връзка по тези признаци. Резултатите от проучването сочат, че най-млади са пациентите с НВМ тип „дантела“ – средна възраст 71.56 г, следвани от пациенти с НВМ „мъртво дърво“, а най-възрастните са „недетерминиран тип“ НВМ: 80.75 г. Сред мъжете, най-голям е броят на пациенти с наивна НВМ тип „корал“ (17 бр.), следван от НВМ тип „дантела“ (15 бр.) и „филаменти“ (12 бр.). При жените с най-голяма честота се открояват НВМ тип „корал“ (23 бр.), „медуза“ (14 бр.) и „филаменти“ (11 бр.). След проведено лечение с три интравитреални апликации на анти-VEGF препарат (Eylea, Bayer) с интервал месец между тях, не е установена статистически значима връзка между пола и възрастта на пациентите и морфологичната форма на неоваскуларна мембрана след терапия.

Направен е анализ на връзката между началния вид /наивна неоваскуларна мембрана/ и промяната ѝ след проведеното лечение и е установено, че съществува статистически значима връзка между морфологичната форма преди и след терапия, за цялата кохорта от 119 пациенти. За по-детайлен анализ са сформирани две групи пациенти с „диференцирани“ и „недиференцирани“ мембрани. Към „диференцираните“ се отнасят „корал“, „медуза“ и „мъртво дърво“, а към „недиференцираните“ – „дантела“, „филаменти“ и „недетерминиран“. Проучването установява, че съществува статистически значима зависимост между отделните форми в групата на „диференцираните“ мембрани, но не и в тази на „недиференцираните“. Неоваскуларните мембрани от вид „корал“ най-често след терапия преминават във вид

„медуза“ (47%), или „мъртво дърво“ (33%), тип „медуза“ след терапия в 55.6% преминава в „мъртво дърво“, а в 44.4% не се променя, а в 75% от случаите „мъртво дърво“ запазва своя морфологичен вид и след терапията. То се явява крайна, максимално диференцирана форма (по хистологична същност) на неоваскуларна мембрана, която не се променя във времето.

Изследвани са корелационните зависимости между белезите на прогресия (периолезионалното тъмно хало, рамификации в патологичната мрежа, ангиографска връзка между НВ-мембрана и нормалната мрежа) и вида на НВМ преди и след терапия, като са получени следните резултати:

1. Не се открива статистически значима връзка между вида на найвната НВ мембрана и наличието на перилезионалното тъмно хало: Spearman's rho: $\rho = 0.1166$, $p = 0.20665$, $n = 119$
2. Перилезионалното тъмно хало намалява след терапия – Spearman's rho: $\rho = -0.68361$, $p = 0.00665$, $n = 119$
3. Рамификациите в патологичната съдова мрежа намаляват след терапия единствено в групата на диференцираните мембрани, като колкото по-диференцирана е мембраната, толкова по-малко са рамификациите след терапия: Spearman's rho: $\rho = -0.33451$, $p = 0.00788$, $n = 62$ (1-3)
4. Колкото по-диференцирана е мембраната, толкова по-често има ангиографска връзка след терапия.

Приложеният статистически анализ на данните от направеното проучване не доказва връзка (било положителна, или отрицателна) на който и да е наивен морфологичен вид мембрана, със зрителната острота преди и след терапия. След настъпилото съдово ремоделиране, е установена статистическа връзка между морфологичния вариант след терапия и зрителната острота: За групата на „диференцираните“ неоваскуларни мембрани, колкото по-малко диференцирана е мембраната, толкова по-ниска е зрителната острота; За групата на недиференцираните мембрани, колкото по-диференцирана е мембраната, толкова по-висока е зрителната острота. В края на раздел „Резултати“ дисертантът описва протокол за терапевтично поведение.

В главата „Обсъждане“ последователно и детайлно са разгледани и анализирани собствените резултати и са сравнени с проучванията на други автори. Част от

изложението, включващо проучванията върху ролята на VEGF, описанието на различните анти-VEGF медикаменти и общоприетите режими на приложение би трябвало да бъде поместено в литературния обзор.

Д-р Киркова прави 6 извода в дисертацията си, както следва:

1. Извършеният анализ върху най-честия вид на НВМ, определен по ОСТ-А и възрастта на пациента не установи статистически значима зависимост.
2. Извършеният анализ върху най-честия вид НВМ, определен по ОСТ-А и пола на пациента не установи статистически значима зависимост.
3. Проучването посочи правопрпорционална зависимост между диференцираността на мембраната, определена по ОСТ-А, след терапия („корал“, „медуза“, „мъртво дърво“) и проявената зрителна острота след терапия.
4. Проучването посочи значима зависимост между диференцираността на мембраната, определена по ОСТ-А и броя на рамификациите.
5. Анализът на връзката на перилезионалното хало и вида на най-честия НВМ, определен на ОСТ-А, не установи такава статистически значима връзка. Проявената връзка е в намаляването на перилезионалното хало след терапия.
6. Проучването на ангиографската връзка между НВМ и нормалната кръвоносна мрежа, подчерта персистирането ѝ след терапия. Това е характерна черта за диференцираните НВМ, определено по ОСТ-А.

Като най-важни приноси на дисертационния труд с оригинален, потвърдителен и научно-приложен характер могат да се посочат:

- За първи път е анализирано съдовото ремоделиране на най-честите НВМ при пациенти с МДСВ под действието на анти-VEGF терапия
- Доказаните зависимости и разлики при съдовото ремоделиране за групите на „диференцираните“ и „недиференцираните“ мембрани, са отнесени като хипотеза за различния произход на неосъдовете при МДСВ (вероятно една част, произхождащи от

нормалната съдова мрежа, а друга – от мигрирали ендотелни-прогениторни клетки). Тази хипотеза е основа за бъдещи проучвания.

- Това е първото проучване, което открива корелационна зависимост между белега на активност/прогресия „ангиографска връзка“ и конкретен вид НВМ
- За първи път е открита корелационна зависимост между „броя рамификации в патологичната мрежа“ като белег на прогресия и определен морфологичен вид НВМ
- Потвърдено е влиянието на анти-VEGF терапията върху броя на рамификациите в патологичната мрежа, описано в предходни проучвания
- Потвърдено е, че перилезионалното тъмно хало намалява размерите си след анти-VEGF терапия

Имам следните забележки към дисертационния труд:

1. За по-голяма прегледност е необходимо източниците цитирани в текста да бъдат номерирани с поредния им номер от библиографската справка.
2. Фигурите, илюстриращи промяната във вида на неоваскуларните мембрани след проведеното лечение би трябвало да бъдат в раздел „Резултати“, а не в „Обсъждане“.
3. На много места в изложението липсва препратка към фигурите и таблиците.

Публикации по темата на дисертационния труд

Д-р Киркова е представила списък с общо 3 публикации, една от които е в списание реферирано и индексирано в световноизвестна база данни с научна информация Web of Science. Общо седем на брой са участията ѝ с научни съобщения в национални и международни научни форуми.

Авторефератът е написан на 66 страници и представлява кратко, но изчерпателно представяне на дисертационния труд.

В заключение смятам, че представения от д-р Радиана Киркова дисертационен труд на тема „Приложение на ОСТ-ангиография при пациенти с макулна дегенерация, свързана с възрастта и хороидална неоваскуларизация“ има практическо и научно значение. Дисертационният труд отговаря на изискванията за присъждане на ОНС „доктор“ посочени в Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за прилагането му в МУ-Плевен. Всичко това ми дава основание да дам

своята положителна оценка и да предложи на уважаемото Научното жури да присъди на д-р Радина Калинова Киркова образователната и научна степен „доктор“ по научна специалност „офталмология“.

12.08.2024 г.

Рецензент: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

гр. Варна

проф. д-р Зорница Златарова, д.м.н.

REVIEW

by Prof. Dr. Zornitsa Zlatarova, MD.

appointed by Order No. №1773/25.06.2024 as a member of the Scientific Jury

regarding

defense of a dissertation

by Dr. Radina Kalinova Kirkova

on " Application of OCT-angiography in patients with age-related macular degeneration and choroidal neovascularization"

for awarding the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty "Ophthalmology", code 03.01.36

with scientific supervisor: Prof. Dr. Snezhana Murgova, MD

Brief biographical information

Dr. Radina Kalinova Kirkova was born in 1990. She graduated in medicine in 2016 at Medical University-Sofia. In 2018 graduated with a master's degree in "Public Health and Health Management", and in 2020 acquired a specialty "eye diseases" at MU-Sofia. From December 2020 was enrolled as a doctoral student of independent training at the Department of "Ocular Diseases, ENT Diseases and MFS" at MU-Pleven. In March 2024, the Specialization in Neuro-Ophthalmology begins at the University Vita-Salute San Raffaele Via Olgetina, Milan, Italy. In the period 10/02/2021 - 05/09/2022 he worked as a doctor, ophthalmologist in the Department of Eye Diseases - UPMBAL "St. John the Baptist", in the period 05/09/2022 - 04/09/2023 in the Eye Clinic - HUMANITAS Research Hospital, Milan, Italy, from 27/09/2023 - until now works at Eye Clinic "Vision" - Team Prof. Tanev, as well as from 01/04/2024 - until now works at Eye Clinic - MBAL "Sveta Sofia". Dr. Kirkova has participated in a number of courses and specializations in Italy, mainly dedicated to OCT and OCT-A. In 2021 Dr. Kirkova passed the EBO exam - Fellow of the European Board of Ophthalmology (FEBO), in the same year she was the winner of an award for a young ophthalmologist with a scientific contribution named after Prof. Dr. Stoimen Dubov.

Relevance of the problem

Age-related macular degeneration (ARMD) is one of the leading causes of blindness among the elderly population, which determines the great social importance of this disease. Timely diagnosis and treatment are important to achieve the best possible result in terms of preserving the sight of these patients and preserving their quality of life. Although rarer, the exudative form of ARMD, in which choroidal neovascularization is present, has a more aggressive course and leads to a significant decrease in visual acuity faster. Fluorescein angiography was the main diagnostic method, giving us information about the presence and type of neovascular membrane (NVM). Nowadays, a precise evaluation of the characteristics of the neovascular membrane, as well as its change during treatment with anti-VEGF drugs, can be done with the help of OCT-angiography (OCT-A). The non-invasiveness, short examination time and high informativeness that OCT-A brings with regard to the characteristics of CNV make it possible to perform the examination repeatedly and to identify the individual morphological types of neovascular membranes, which can serve as a prognostic marker for the development and course of the disease.

In her dissertation, Dr. Radina Kirkova specifically studies the possibilities of OCT-A for investigating the type of neovascular membrane, the signs of progression and the dynamics in its morphological characteristics, as well as the influence of anti-VEGF therapy on the activity of the membrane. All this makes the dissertation work up-to-date and practically useful.

Structure of scientific work

The structure of the presented dissertation complies with accepted requirements and standards, it is written on 162 pages, illustrated with 16 tables and 20 figures. The paper includes the following sections: used abbreviations – 1 page, introduction – 1 page, literature review – 46 pages, aims and objectives – 1 page, material and methods – 11 pages, results – 34 pages, discussion – 37 pages, conclusions - 1 page, conclusion - 2 pages, contributions - 2 pages, bibliography - 23 pages. The bibliographic reference includes 179 literary sources, of which 2 are in Bulgarian and 177 in English.

The literature review is comprehensive and shows a detailed knowledge of the subject. It begins with a review of various classifications of ARMD and data on its prevalence, as one of the

leading causes of blindness in the world. Various risk factors for the development of ARMD, the pathogenesis of the disease, the features of the various diagnostic methods - fluorescein angiography, OCT and OCT-A with their advantages and disadvantages are considered. Attention is also paid to the modern possibilities of treatment of patients with exudative form of ARMD with anti-VEGF medications. In the conclusion of the literature review, it is emphasized that OCT-A has become an indispensable part of the diagnosis and follow-up of patients with ARMD, and its application improves the possibilities of identifying CNV and the dynamics of its type during the course of treatment, which is a prerequisite for the in the dissertation, in-depth research on the importance of the individual morphological types of NVM, as a prognostic marker for the course of the disease.

The aim of the dissertation work is to study the possibilities of OCT-A in the diagnosis and monitoring of the effect of the treatment of patients with ARMD and choroidal neovascularization.

To achieve this goal, the doctoral student has set himself the following 6 tasks:

Task 1: Defining the type of neovascular membrane, according to OCT-A images and the classification proposed by Coscas et al.

Task 2: Application of anti-VEGF intravitreal therapy in patients with ARMD and CNV. Assessment of neovascular membrane type change.

Task 3: Defining the OCT-A markers of progression and activity of the neovascular membrane.

Task 4: Effect of ongoing anti-VEGF therapy on membrane activity and OCT-A markers of progression and activity

Task 5: Evaluation of the impact of vascular remodeling after anti-VEGF therapy on visual acuity.

Task 6: Compilation of a therapeutic behavior protocol.

Material and methods

For the purposes of the dissertation, a retrospective clinical study was conducted in November 2018. – December 2020, in which 119 patients were followed, 61 of whom were examined and treated in France. The medical institutions that served as a base for collecting materials are:

- Specialized Eye Hospital "Zrenie" - Sofia
- Societe d'experience liberal des ophthalmologists Barathon - Montluçon, France
- Clinic for eye diseases University Hospital "Dr. Georgi Stranski" - Pleven

Clinical methods include a detailed history, a standard eye examination including indirect ophthalmobiomicroscopy with a +90D lens. All patients also underwent highly specialized examinations FA, OCT and OCT-A. Depending on the type of NVM from OCT-A, patients are divided into the following groups:

1. NV-membrane type "Coral" - with an eccentric feeding vessel, massive trunks with thin capillary ramifications.
2. "Jellyfish"-type NV-membrane - has a massive feeding vessel with centrifugal vascular trunks with thin capillaries.
3. "Dead tree" NV-membrane - has a massive main trunk and ramifications varying in size and caliber.
4. NV-membrane type "Lace" - strongly anastomosing vascular network, without a main vessel.
5. NV-membrane type "Filaments" - composed of many intertwining, thread-like vessels.
6. Indeterminate type of NV-membrane - whose OCT-A view does not correspond to any of the above types.

All patients included in the study were treated with intravitreal application of Eylea according to a standard methodology and protocol with three loading doses every month, and on the 25th day after the application, a legal control examination was performed, including examination of the eye status, OCT and OCT-A .

Dr. Kirkova used modern statistical methods for data processing, namely correlation analysis, test of independent variables (Independent Sample T-test), Pearson's correlation (chi-square test), Spearman's rank correlation coefficient. Statistical software packages SPSS and EXCEL for

Windows were used. All values with $P < 0.05$ were accepted as statistically significant. The chosen critical level of significance is $\alpha = 0.05$. The corresponding null hypothesis is rejected when the P-value is less than α .

Results

In the present study, 119 patients with newly diagnosed, treatment naive neovascular form of ARMD were prospectively followed. Their average age was 75.45 years, and 55.5% of them were female.

According to the morphological characteristics by OCT-A of naive neovascular membranes, patients were divided into the following groups: "coral", "jellyfish", "dead wood", "lace", "filaments" and "indeterminate", with the largest the number of patients in the "coral" type group (40 pcs), followed by "lace" (25 pcs), "filaments" (23 pcs) and "jellyfish" (19 pcs). The distribution of the individual types of naïve NVM by gender and age was analyzed, and no statistically significant relationship was found for these characteristics. The results of the study show that the youngest patients are with "lace" type NVM - mean age 71.56 years, followed by patients with "dead tree" NVM, and the oldest are "indeterminate type" NVM: 80.75 years. Among men, the number of patients with naïve "coral" type NVM is the largest (17 pcs), followed by "lace" type NVM (15 pcs) and "filaments" (12 pcs). Among women, the most frequent types of "coral" (23 pcs), "jellyfish" (14 pcs) and "filaments" (11 pcs) NVMs stand out. After treatment with three intravitreal applications of an anti-VEGF medication (Eylea, Bayer) with an interval of one month between them, no statistically significant relationship was found between the gender and age of the patients and the morphological type of the neovascular membrane after therapy.

An analysis of the relationship between the initial appearance /naïve neovascular membrane/ and its change after the treatment was carried out and it was found that there is a statistically significant relationship between the morphological form before and after therapy, for the entire cohort of 119 patients. For a more detailed analysis, two groups of patients with "differentiated" and "undifferentiated" membranes were formed. "Differentiated" include "coral", "jellyfish" and

"deadwood", and "undifferentiated" include "lace", "filaments" and "indeterminate". The study found that there was a statistically significant relationship between individual shapes in the "differentiated" membrane group, but not in the "undifferentiated" group. Neovascular membranes of the type "coral" most often after therapy change to the type "jellyfish" (47%), or "dead tree" (33%), type "jellyfish" after therapy in 55.6% change to "dead tree", and in 44.4% it does not change, and in 75% of cases "dead wood" retains its morphological appearance even after the therapy. It is a final, maximally differentiated form (by histological essence) of a neovascular membrane that does not change over time.

The correlation dependences between the signs of progression (the perilesional dark halo, ramifications in the pathological network, angiographic connection between the NV-membrane and the normal network) and the type of NVM before and after therapy were investigated, and the following results were obtained:

1. No statistically significant relationship was found between the type of naïve NV membrane and the presence of the perilesional dark halo: Spearman's rho: $\rho = 0.1166$, $p = 0.20665$, $n = 119$
2. Perilesional dark halo decreases after therapy - Spearman's rho: $\rho = -0.68361$, $p = 0.00665$, $n = 119$
3. Ramifications in the pathological vascular network decreased after therapy only in the differentiated membrane group, and the more differentiated the membrane, the less ramifications after therapy: Spearman's rho: $\rho = -0.33451$, $p = 0.00788$, $n = 62$ (1-3)
4. The more differentiated the membrane, the more often there is an angiographic connection after therapy.

The applied statistical analysis of the data from the study did not prove a relationship (either positive or negative) of any naïve morphological type of membrane with visual acuity before and after therapy. After vascular remodeling occurred, a statistical relationship was found between the morphological variant after therapy and visual acuity: For the group of "differentiated" neovascular membranes, the less differentiated the membrane, the lower the visual acuity; For the undifferentiated membrane group, the more differentiated the membrane, the higher the visual acuity. At the end of the Results section, the dissertation describes a behavioral therapy protocol.

In the chapter "Discussion" the own results are consistently and in detail examined and analyzed and compared with the studies of other authors. A part of the exposition including the studies on the role of VEGF, the description of the different anti-VEGF drugs and the generally accepted regimens of administration should be placed in the literature review.

Dr. Kirkova makes 6 conclusions in her dissertation as follows:

1. The analysis performed on the naïve form of NVM, determined by OCT-A and the patient's age, did not establish a statistically significant relationship.
2. The analysis performed on the naïve type of NVM determined by OCT-A and the patient's gender did not establish a statistically significant relationship.
3. The study indicated a directly proportional relationship between the differentiation of the membrane, determined by OCT-A, after therapy ("coral", "jellyfish", "dead tree") and the manifested visual acuity after therapy.
4. The study indicated a significant relationship between the differentiation of the membrane, determined by OCT-A, and the number of ramifications.
5. The analysis of the relationship between the perilesional halo and the type of naïve NVM, determined on OCT-A, did not establish such a statistically significant relationship. The demonstrated relationship is in the reduction of the perilesional halo after therapy.
6. The study of the angiographic relationship between the NVM and the normal vascular network highlighted its persistence after therapy. This is a characteristic feature of the differentiated NVM, determined according to OCT-A.

As the most important contributions of the dissertation work of an original, confirmatory and scientifically-applied character, we can point out:

- For the first time, the vascular remodeling of naïve NVMs in patients with ARMD under the action of anti-VEGF therapy has been analyzed.
- Proven dependencies and differences in vascular remodeling for groups of "differentiated" and "undifferentiated" membranes, have been hypothesized for the different origin of new vessels in ARMD (probably one part originating from the normal vascular network and

another from migrated endothelial-progenitors cells). This hypothesis is the basis for future studies.

- This is the first study to find a correlation between the activity/progression marker "angiographic band" and a specific type of NVM.
- For the first time, a correlational dependence was found between the "number of ramifications in the pathological network" as a sign of progression and a certain morphological type of NVM
- The influence of anti-VEGF therapy on the number of ramifications in the pathological network, described in previous studies, was confirmed.
- Perilesional dark halo has been confirmed to decrease in size after anti-VEGF therapy.

I have the following remarks about the dissertation:

1. For greater clarity, it is necessary to number the sources cited in the text with their consecutive number from the bibliographic reference.
2. Figures illustrating the change in the appearance of neovascular membranes after treatment should be in the Results section, not in the Discussion.
3. Reference to the figures and tables is missing in many places in the exposition.

Publications on the subject of the dissertation

Dr. Kirkova has presented a list of a total of 3 publications, one of which is in a journal referenced and indexed in the world-famous scientific information database Web of Science. A total of seven are her participations in national and international scientific forums.

The abstract is written on 66 pages and is a short but comprehensive presentation of the dissertation work.

In conclusion, I believe that the dissertation work presented by Dr. Radina Kirkova on the topic "Application of OCT-angiography in patients with age-related macular degeneration and choroidal neovascularization" has practical and scientific significance. The dissertation meets the requirements for the award of the "Doctor" degree specified in the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria and the Rules for its

Implementation at MU-Pleven. All this gives me the reason to give my positive assessment and to propose to the respected Scientific Jury to award Dr. Radina Kalinova Kirkova the educational and scientific degree "Doctor" in the scientific specialty "Ophthalmology".

12.08.2024

Varna

Reviewer: **На основание чл. 59 от ЗЗЛД**

Prof. Dr. Zornitsa Zlatarova, PhD, DSc.