

(56)

Perspektywy terapii genowej w okulistyce

Gene therapy prospects in ophthalmology

Marcin Stopa

Z Katedry i Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Krystyna Pecold

Summary: Purpose: Presentation of newest achievements from borderland of ophthalmology and molecular biology and their clinical employment areas in the therapy of eye diseases.
Material and methods: MEDLINE database has been searched for terms gene, gene therapy, ocular, eye in title and summary fields.
Results: Based on the latest literature eye disorders have been selected that are currently in focus of gene therapy. Experimental approaches in vitro as well as in vivo have been reviewed.
Conclusions: modern ophthalmology profits more and more from newest achievements in molecular biology such as gene therapy. Transfer of additional genes to selected target cells within eye is able to change function and allows to achieve required effects. It is performed through employment of so called vectors, small particles allowing the gene to be transferred. Presently most often used vectors are derived from viruses (retrovirus, adenovirus, viruses AAV). Experimental studies have been performed in following eye diseases: retinitis pigmentosa, Leber congenital amaurosis, glaucoma, retinoblastoma, postoperative posterior capsule opacification, corneal diseases, age related macular degeneration, uveal melanoma. In each case the experimental results were promising. However, possible side effects of such therapy are not sufficiently known. There have been no clinical gene therapy studies in ophthalmology so far.

Słowa kluczowe: transfer genów, terapia genowa, oko, wektor.

Key words: gene transfer, gene therapy, eye, vector.

1. Wprowadzenie

Gwałtowny rozwój biologii molekularnej w ostatniej dekadzie umożliwił medycynie coraz lepsze poznanie patofizjologii wielu chorób. Dzięki najnowszym technologiom możliwa jest nowoczesna diagnostyka oparta na badaniu genomu pacjenta. Ustalenie podłoża genetycznego schorzenia pozwala nam częściej ingerować w przyczyny chorób za pomocą przenoszenia cząsteczek DNA, zawierających wybrany gen, do pojedynczych komórek pacjenta. Idea leczenia chorób poprzez przenoszenie cząsteczki DNA z wybranym genem, czyli transferu genu, określana jest obecnie jako terapia genowa. Właściwie w każdej dziedzinie medycyny prowadzi się badania nad leczeniem za pomocą transferu genów do wybranych docelowych komórek. Pierwsze badania kliniczne miały miejsce w 1990 roku (2) i po 12 latach od tego czasu w fazie klinicznej jest około 300 programów badawczych w samych tylko Stanach Zjednoczonych. Blisko dwie trzecie z nich dotyczy nowotworów, a próbom leczenia poddano już powyżej 3500 pacjentów (18). W przypadku wielu dziedzin, w tym okulistyki, doświadczenia są jeszcze w fazie laboratoryjnej. Prawdopodobnie jednak i tu w ciągu najbliższych kilku lat możemy się spodziewać badań z udziałem pacjentów.

2. Terapia genowa schorzeń okulistycznych

2.1. Podstawowe pojęcia biologii molekularnej

Terapię genową możemy zdefiniować jako leczenie lub zapobieganie chorobom za pomocą przenoszenia cząsteczek DNA, zawierających dodatkowe geny, do wybranych komórek organizmu, zwa-

nych komórkami docelowymi (18). Samo DNA nie wywołuje w komórce efektu terapeutycznego. Ulega ono procesowi transkrypcji w kwas RNA, stanowiący matrycę do wytwarzania protein, których budowa odpowiada informacjom zawartym w nici DNA. Dopiero wytworzone białka mogą zmieniać cykl komórki, katalizować określone reakcje biochemiczne, niwelować defekt genetyczny, zmieniać budowę struktur komórki. W teorii medycyna, znając funkcję każdego z zapisanych w genach białek, byłaby w stanie wybiórco i dowolnie ingerować w komórkę. Geny w postaci molekuł DNA dostarczane są do komórek docelowych za pomocą specjalnych przekaźników zwanych wektorami. Odbywać się to może za pomocą różnych technik. Definicje ważnych pojęć, pomocnych w zrozumieniu dalszej części artykułu, zawarte są w tabeli I.

2.2. Transfer genów – rodzaje wektorów

Możliwe jest przenoszenie genów za pomocą metod fizycznych takich jak iniekcja, elektroporacja. Metody takie są jednakże stosunkowo niespecyficzne i mało efektywne. Do transferu genów wykorzystuje się zatem specjalne przekaźniki zwane wektorami. Podzielić je możemy na niewirusowe oraz wirusowe. Przykładami wektorów niewirusowych są lipidy kationowe, polimery kationowe i liposomy. Wektory wirusowe z kolei, najpowszechniej stosowane, tworzone są w oparciu o retrowirusy (Rv), adenowirusy (Ad) i wirusy adeno-associated virus (AAV) (18). W przypadku wektorów wirusowych gen poddawany transferowi jest zintegrowany z genomem wirusa i zawarty we wspólnym kapsydie, a sam jego transfer polega na infekcji wybranych komórek tak zmodyfikowanym wirusem. Transfer

genów za pomocą wektorów wirusowych jest stosunkowo wydajny. Pewne ograniczenia narzucają ograniczona długość insertu, czyli cząstki DNA z zapisanym genem, jaki możemy wbudowywać w genom wirusa, oraz immunogenność samego wektora (23).

2.3. Strategie terapeutyczne

Jakie efekty można uzyskać, wprowadzając dodatkowy, wybrany gen do komórek? W przypadku chorób, w których mamy do czynienia z brakiem lub nieprawidłową kopią genu w genomie, przejawiającym się np. pojedynczym defektem enzymatycznym, uzyskamy jego naprawę, wprowadzając prawidłową kopię genu. Jeżeli choroba uwarunkowana jest nadmierną ekspresją jednego z genów, możemy próbować ją ograniczyć poprzez dostarczanie komplementarnych do danego genu nici DNA. Jest to tzw. strategia anti-sense. Jej rezultatem jest łączenie transferowanego komplementarnego DNA z mRNA genu o nadmiernej ekspresji. Wewnątrzkomórkowa interakcja DNA z mRNA w efekcie obniża aktywność „chorego” genu. W celu obniżenia ekspresji danego genu możliwe jest również wykorzystanie cząstek RNA o specjalnych właściwościach – rybozymów (7). Mają one właściwość wybiórczego rozpoznawania cząstek mRNA i ich modyfikacji lub niszczenia. Strategia suicide z kolei, polegająca na dostarczaniu do komórek genów kodujących substancje toksyczne lub ich prekursorów, wykorzystywana jest zwłaszcza w przypadku terapii chorób nowotworowych (7). Gdy podłoże genetyczne nie jest do końca poznane, a istnieją dowody działania terapeutycznego cytokin, próbuje się dostarczać geny kodujące te ostatnie.

2.4. Dostępność oka dla terapii genowej

Oko jest z pewnością narządem uprzywilejowanym i stanowi doskonały obiekt badań nad terapią genową. Dzięki barierze krwi-siatkówka oraz krwi-płyn komory przedniej stanowi ono swoiście izolowany organ, w którym podanie wektora rzadko powoduje reakcje uogólnione (19). Jest narządem łatwo dostępnym zarówno w celu podania wektorów, jak i późniejszego badania efektów terapii genowej. Dostępne są również modele zwierzęce chorób, na których mogą być prowadzone badania eksperymentalne, np.: dla *retinitis pigmentosa*.

2.5. Przykłady zastosowań

2.5.1 Retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa charakteryzuje się powolnym postępującym zwyrodnieniem komórek fotoreceptorów. Proces zwyrodnieniowy może być wywołwany całą gamą mutacji genetycznych. Mimo że podłoże genetyczne nie jest w pełni poznane, wszystkie tego typu mutacje wywołują ostatecznie apoptozę (14). Istnieje cały szereg myszy transgenicznnych, które ujawniają zmiany analogiczne do tych, które obserwujemy w *retinitis pigmentosa* (6). W swoich doświadczeniach Liang i wsp. wykorzystali jako model myszy *rhodopsin knockout* (rd -/-). Opierali się oni na wcześniejszych obserwacjach, z których wynikało, że cytokina CNTF (ciliary neurotrophic factor) powoduje wolniejsze postępowanie degeneracji fotoreceptorów (3). Liang i współpracownicy włączyli gen kodujący CNTF pod kontrolą promotora CMV do genomu wirusa AAV. Po podaniu podsiatkówkowym i infekcji cząstkami wirusa fotoreceptorów myszy rd -/- uzyskano spowolnienie postępowania zwyrodnienia i wydłużone przeżycie fotoreceptorów przez co najmniej 3 miesiące (14). Bardzo podobne doświadczenia, z wykorzystaniem jednakże FGF-2 (fibroblast growth

factor), przeprowadzili Lau i wsp. Po podsiatkówkowej iniekcji zrekombinowanych cząstek wirusa z genem FGF-2 pod kontrolą promotora CMV u szczepu myszy transgenicznnych TgN S334ter-4 uzyskano zmniejszenie liczby receptorów ulegających zwyrodnieniu (13). U żadnego z badaczy uzyskana poprawa nie była jednak trwała.

2.5.2 Wrodzona ślepota Lebera (LCA)

Wrodzona ślepota Lebera należy do dziedzicznej odmiany *retinitis pigmentosa*, która powoduje prawie całkowitą ślepotę już w dzieciństwie. Jedną z ustalonych przyczyn tej choroby jest mutacja genu RPE 65 (w LCA typ II). Istnieje model zwierzęcy tego schorzenia. Stworzono psy z podwójną mutacją RPE65 -/-. W badaniach laboratoryjnych Acland i wsp. wprowadzili gen RPE65 poprzez podanie doszkliskowe i podsiatkówkowe zrekombinowanych wirusów AAV. Ekspresja tego genu w komórkach barwnikowych zapobiegła zmianom degeneracyjnym. Po 4 miesiącach psy poddane leczeniu uzyskiwały w testach behawioralnych ostrość wzroku odpowiadającą 5/5. Funkcja narządu wzroku potwierdzona została dodatkowo badaniami ERG. Zwierzęta w grupie kontrolnej, u których nie zastosowano terapii genowej, utraciły wzrok (1).

2.5.3 Jaskra

W jaskrze dochodzi do obumierania komórek zwojowych siatkówki. Do stanu takiego może dochodzić w wyniku podwyższonego ciśnienia wewnątrzgałkowego bądź predyspozycji genetycznych bez podwyższonego ciśnienia wewnątrzgałkowego. Dochodzić może do nagromadzenia się toksycznych związków glutaminianu, utraty wolnych rodników tlenowych, utraty ochronnego działania czynników wzrostu (20). Efekt końcowy jest w obu przypadkach identyczny – apoptoza komórek zwojowych. W badaniach laboratoryjnych używa się modeli zwierzęcych, w których apoptoza jest indukowana przez przecięcie nerwu wzrokowego bez podwyższenia ciśnienia wewnątrzgałkowego bądź przez zamknięcie żył nadwardówkowych z podwyższeniem ciśnienia wewnątrzgałkowego. Zaobserwowano, że w czasie apoptozy dochodzi do zwiększonej ekspresji genu *bax*. Podejmowane są zatem próby podawania doszkliskowego komplementarnego DNA, zgodnie ze strategią anti-sense (9). Inna grupa badaczy, opierając się na obserwacji, iż czynnik wzrostu BDNF (brain derived growth factor) należy do substancji mających działać neuroprotektynie na komórki zwojowe, przeprowadza eksperymenty, w których wprowadza gen BDNF za pomocą wektorów adenowirusowych (5). W fazie początkowej są badania transferu genów do komórek w obrębie beleczkowania lub w obrębie pooperacyjnej poduszki filtracyjnej. Udowodniono jedynie, że transfer taki jest możliwy za pomocą wektorów wirusowych (15,22).

2.5.4 Retinoblastoma

Siatkówczak należy do najczęstszych ocznych guzów złośliwych występujących u dzieci. Obecne leczenie operacyjne (duże guzy – często enukleacja) połączone z naświetlaniem ma liczne efekty uboczne. W trakcie badań są próby unicestwienia komórek nowotworu za pomocą strategii suicide. Doświadczenia *in vitro* przeprowadzane na linii komórkowej siatkówczaka Y79Rb dowiodły, że podanie adenowirusa z genem HSV-Tk (gen kinazy tymidynowej wirusa HSV) wraz z następczym podaniem gancykloviru wywołuje obumieranie komórek guza. W wyniku reakcji gancykloviru pod wpływem kinazy tymidynowej powstają toksyczne analogi nukleotydów. Do podobnych efektów dochodzi *in vivo* u myszy po poda-

niu doszkliskowym komórek Y79Rb. Myszy takie stanowią sztuczny model zwierzęcy siatkówczaka. Leczenie za pomocą transferu HSV-Tk wraz z podaniem gancykloviru wyraźnie wydłużało przeżycie w stosunku do grupy kontrolnej (8).

2.5.5 Zmętnienie torebki tylnej

Zmętnienie torebki tylnej występuje często jako późne powikłanie po zewnątrztorebkowej chirurgii zaćmy. Uważa się, że odpowiedzialna za nie jest hiperplazja pozostałego nabłonka soczewki. Eksperymentalnie bada się możliwość zastosowania strategii suicide z wprowadzeniem genu HSV-Tk za pomocą retrowirusów lub adenowirusów i podaniem gancykloviru, podobnie jak miało to miejsce w siatkówczaku. Badania *in vivo* na królikach z podaniem wektora do komory przedniej i doszkliskowo wykazywały spowolnienie występowania zmętnienia torebki tylnej (4,17).

2.5.6 Schorzenia rogówki

Proces zmętnienia rogówki w przebiegu typu VII mukopolisacharydozy można zahamować za pomocą transferu zdrowego genu beta-glukuronidazy. Kamata i wsp. udowodnili, że jest to możliwe u myszy z defektem odpowiadającym mukopolisacharydozie typu VII. Po podaniu do komory przedniej i do warstwy właściwej rogówki wektora adenowirusowego z genem beta-glukuronidazy zmętnienie nie występowało (10). W obrębie rogówki podejmowane są też próby zmniejszania reakcji immunologicznej na przeszczepioną allogeniczną rogówkę poprzez transfer do tkanki dawcy genu kodującego immunomodulującą cytokinę IL-10 (11).

2.5.7 Starcze zwyrodnienie plamki

Nowotwórstwo naczyniowe w obrębie naczyniówki jest jedną z istotnych przyczyn utraty widzenia u pacjentów ze starczym zwyrodnieniem plamki. Doświadczenia prowadzone są na myszach,

u których wywołuje się sztucznie nowotworzenie naczyń poprzez fotokoagulację laserem kryptonowym. Podanie podsiatkówkowo wirusa AAV z genem kodującym angiostatynę znacząco ogranicza rozmiar nowotworzenia, który jest oceniany za pomocą angiografii fluoresceinowej i badań histologicznych (12).

2.5.8 Czerniak naczyniówki

Czerniak należy do najczęstszych nowotworów oczu u dorosłych pacjentów. Za pomocą terapii genowej podejmowane były próby ograniczenia występowania przerzutów guza. Przypuszcza się, że aktywatory plasminogenu mogą ułatwiać szerzenie się komórek nowotworowych. Transfer za pomocą adenowirusa genu kodującego inhibitor aktywatora plasminogenu typu I (PAI-1) powodował obniżenie o 50% częstości występowania przerzutów do wątroby w eksperymentach na myszach, u których indukowano czerniaka poprzez podanie do przedniego odcinka komórek linii 99E-1 (16).

3. Wnioski

Leczenie chorób okulistycznych poprzez transfer genów do chorzych komórek daje niezmiernie wiele możliwości wpływania na budowę komórki, cykl komórkowy i szlaki metaboliczne. Dzięki terapii genowej jesteśmy w stanie usuwać przyczyny schorzeń, uzyskując *de facto* całkowite wyleczenie u zwierząt, jak np. w przypadku wrodzonej ślepoty Lebera. Z pewnością dokładne poznanie patomechanizmu odpowiedzialnego za powstanie chorób jest podstawą do wypracowania i zastosowania skutecznego leczenia. Bardzo ważne jest stworzenie nowych wektorów, mogących przenosić wydajniej dłuższe łańcuchy DNA do większej liczby komórek. W większości przypadków bardzo ważne jest, by efekt transferu genów był jak najdłuższy, dając możliwie trwałe efekty. Należy podkreślić, że nie są znane do tej pory w pełni efekty uboczne stosowanych terapii. Możemy je podzielić na powstałe w wyniku reakcji organizmu na

Nazwa polska (polish term)	Nazwa angielska (english term)	Definicja (definition)
Apoptoza	apoptosis	proces samoistnego zaprogramowanego unicestwienia komórki
Ekspresja	expression	proces, w którym dochodzi do transkrypcji DNA w mRNA, a następnie translacji mRNA w białka
Genom	genome	całość materiału genetycznego danego organizmu
Insert	insert	odcinek DNA włączony w obręb innego łańcucha DNA
Kapsyd	capsid	otoczka wirusa
Knockout	knockout	organizmy, w których wszystkie kopie danego genu zostały eksperymentalnie unieczynnione
Komórki docelowe	target cells	komórki, do których ma zostać przeniesiony gen w terapii genowej
Promotor	promoter	miejsce w obrębie DNA odpowiedzialne za zainicjowanie procesu transkrypcji
Terapia genowa	gene therapy	leczenie lub zapobieganie chorobom z wykorzystaniem transferu genów
Transfekcja	transfection	wywoływany proces przyjmowania obcego DNA do komórki
Transkrypcja	transcription	proces tworzenia RNA na podstawie matrycy DNA
Translacja	translation	wytwarzanie białek na podstawie informacji zawartych w mRNA
Wektor	vector	cząstka, dzięki której możliwy jest transfer genów (np. wirus)

Tab. I. Podstawowe pojęcia biologii molekularnej.

Table I. Basic terminology in molecular biology.

obecność wektora (reakcje o charakterze immunologicznym) oraz na uboczne reakcje komórek na wprowadzony gen. Smutnym przykładem nieprzewidywalności terapii genowej jest śmierć 18-letniego pacjenta poddawanego terapii genowej we wrześniu 1999 roku w szpitalu klinicznym Uniwersytetu Pensylwanii (21). W wypadku badań klinicznych zalecana jest zatem daleko idąca ostrożność. W okulistyce badania z udziałem pacjentów są jeszcze kwestią najbliższej przyszłości.

PIŚMIENICTWO: 1. Acland G. M., Aguirre G. D., Ray J., Zhang Q., Aleman T. S., Cideciyan A. V., Pearce-Kelling S. E., Anand V., Zeng Y., Maguire A. M., Jacobson S. G., Hauswirth W. W., Bennett J.: *Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness*. Nat. Genet., 2001, 28 (1), 92-95. 2. Blaese M., Blankenstein T., Brenner M., Cohen-Haguenauer O., Gansbacher B., Russell S., Sorrentino B., Velu T.: *Vectors in cancer therapy: how will they deliver?* Cancer Gene Ther., 1995, 2 (4), 291-297. 3. Chong N. H., Alexander R. A., Waters L., Barnett K. C., Bird A. C., Luthert P. J.: *Repeated injections of a ciliary neurotrophic factor analogue leading to long-term photoreceptor survival in hereditary retinal degeneration*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1999, 40 (6), 1298-305. 4. Couderc B. C., de Neuville S., Douin-Echinard V., Serres B., Manenti S., Darbon J. M., Malecaze F.: *Retrovirus-mediated transfer of a suicide gene into lens epithelial cells in vitro and in an experimental model of posterior capsule opacification*. Curr. Eye Res., 1999, 19 (6), 472-482. 5. Di Polo A., Aigner L. J., Dunn R. J., Bray G. M., Aguayo A. J.: *Prolonged delivery of brain-derived neurotrophic factor by adenovirus-infected Muller cells temporarily rescues injured retinal ganglion cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, 95 (7), 3978-3983. 6. Hafezi F., Grimm C., Simmen B. C., Wenzel A., Reme C. E.: *Molecular ophthalmology: an update on animal models for retinal degenerations and dystrophies*. Br. J. Ophthalmol., 2000, 84 (8), 922-927. 7. Hauswirth W. W., Beaufre L.: *Ocular gene therapy: quo vadis?* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000, 41 (10), 2821-2826. 8. Hurwitz M. Y., Marcus K. T., Chevez-Barrios P., Louie K., Aguilar-Cordova E., Hurwitz R. L.: *Suicide gene therapy for treatment of retinoblastoma in a murine model*. Hum. Gene Ther., 1999, 10 (3), 441-448. 9. Isenmann S., Engel S., Gillardon F., Bahr M.: *Bax antisense oligonucleotides reduce axotomy-induced retinal ganglion cell death in vivo by reduction of Bax protein expression*. Cell. Death. Differ., 1999, 6 (7), 673-682. 10. Kamata Y., Okuyama T., Kosuga M., O'Hira A., Kanaji A., Sasaki K., Yamada M., Azuma N.: *Adenovirus-mediated gene therapy for corneal clouding in mice*

with mucopolysaccharidosis type VII. Mol. Ther., 2001, 4 (4), 307-312. 11. Klebe S., Sykes P. J., Coster D. J., Krishnan R., Williams K. A.: *Prolongation of sheep corneal allograft survival by ex vivo transfer of the gene encoding interleukin-10*. Transplantation, 2001, 71 (9), 1214-1220. 12. Lai C. C., Wu W. C., Chen S. L., Xiao X., Tsai T. C., Huan S. J., Chen T. L., Tsai R. J., Tsao Y. P.: *Suppression of choroidal neovascularization by adeno-associated virus vector expressing angiostatin*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2001, 42 (10), 2401-2407. 13. Lau D., McGee L. H., Zhou S., Rendahl K. G., Manning W. C., Escobedo J. A., Flannery J. G.: *Retinal degeneration is slowed in transgenic rats by AAV-mediated delivery of FGF-2*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000, 41 (11), 3622-3633. 14. Liang F. Q., Dejneka N. S., Cohen D. R., Krasnoperova N. V., Lem J., Maguire A. M., Dudus L., Fisher K. J., Bennett J.: *AAV-mediated delivery of ciliary neurotrophic factor prolongs photoreceptor survival in the rhodopsin knockout mouse*. Mol. Ther., 2001, 3 (2): 241-248. 15. Loewen N., Fautsch M. P., Peretz M., Bahler C. K., Cameron J. D., Johnson D. H., Poeschla E. M.: *Genetic modification of human trabecular meshwork with lentiviral vectors*. Hum. Gene Ther., 2001, 12 (17), 2109-2119. 16. Ma D., Gerard R. D., Li X. Y., Alizadeh H., Niederkorn J. Y.: *Inhibition of metastasis of intraocular melanomas by adenovirus-mediated gene transfer of plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) in an athymic mouse model*. Blood, 1997, 90 (7), 2738-2746. 17. Malecaze F., Couderc B., de Neuville S., Serres B., Mallet J., Douin-Echinard V., Manenti S., Revah F., Darbon J. M.: *Adenovirus-mediated suicide gene transduction: feasibility in lens epithelium and in prevention of posterior capsule opacification in rabbits*. Hum. Gene Ther., 1999, 10 (14), 2365-2372. 18. Mountain A.: *Gene therapy: the first decade*. Trends Biotechnol., 2000, 18 (3), 119-128. 19. Reichel M. B., Hudde T., Ali R. R., Wiedemann P.: *Gene transfer in der Augenheilkunde*. Ophthalmologe, 1999, 96 (9), 570-577. 20. Schwartz M., Yoles E.: *Self-destructive and self-protective processes in the damaged optic nerve: implications for glaucoma*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000, 41 (2), 349-351. 21. Scollay R.: *Gene therapy: a brief overview of the past, present, and future*. Ann. N Y Acad. Sci., 2001, 953, 26-30. 22. Skaf M., di Martino D. S., de Arruda Mello P. A., Varma R.: *Adenoviral-mediated gene transfer to the filtering bleb in rabbits*. J. Glaucoma, 2001, 10 (6), 470-476. 23. Suber M. L., Hurwitz M. Y., Chevez-Barrios P., Hurwitz R. L.: *Immune consequences of intraocular administration of modified adenoviral vectors*. Hum. Gene Ther. 2001, 12 (7), 833-838.

Praca wpłynęła do Redakcji 26.03.2002 r. (89).

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
 dr n. med. Marcin Stopa
 Katedra i Klinika Okulistyki Akademii Medycznej
 im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
 ul. Długa 1/2
 61-848 Poznań