Prof. dr hab. med. Bożena Romanowska-Dixon
Katedra Okulistyki
Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

Kraków, 13.10.2018.

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ
Magdaleny Szwabowicz
pt.: **„Ocena rogówki u pacjentów leczonych ranibizumabem lub afliberceptem z powodu wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem"**

W związku z uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
o wybraniu mnie recenzentem rozprawy doktorskiej
lek med. Magdaleny Szwabowicz,
mam zaszczyt przedstawić następującą **o p i n i ę**

Zwiększenie długości życia w populacjach krajów rozwiniętych i zmiany środowiskowe spowodowały wzrost liczby chorych na zwyrodnienie centralnej siatkówki, tj. związane z wiekiem zwyrodnienie plamki (age related macular degeneration, AMD). Schorzenie to jest obecnie określane jako „Epidemia XXI wieku". Jest jedną z najczęstszych przyczyn trwałego pogorszenia widzenia centralnego. Pojawia się plama w środku pola widzenia, nie można czytać, rozpoznać ludzi, prowadzić samochodu. Są 2 postaci AMD: sucha i wysiękowa. Ta druga stanowi 10% zachorowań, ale nieodwracalnie i w postępujący sposób niszczy centralną siatkówkę, centralne widzenie, a więc uniemożliwia wykonywanie pracy i samodzielną egzystencję.

Obecnie standardowym leczeniem wysiękowej postaci AMD jest doszklistkowe podawanie iniekcji preparatów z grupy antagonistów śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń (anty-Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF). Zgodnie

z wskazaniami można stosować aflibercept lub ranibizumab. Wielokrotnie powtarzane iniekcje preparatów anty-VEGF do wnętrza gałki ocznej mogą powodować rozwój powikłań. Nie jest znany wpływ tych substancji na stan śródbłonka rogówki.

Komórki śródbłonka rogówki spełniają kluczową rolę w zachowaniu prawidłowej struktury rogówki i jej przejrzystości. Nie mają zdolności regeneracji, a więc ich uszkodzenie stanowi ryzyko dekompensacji rogówki, jej obrzęku, utraty przejrzystości, zwyrodnienia, bólu i poważnych zaburzeń widzenia.

Liczne dotychczasowe badania kliniczne wykazały wysoki profil bezpieczeństwa stosowanych preparatów anty-VEGF, ale niewiele jest opracowań dotyczących ewentualnego niekorzystnego ich wpływu na komórki śródbłonka rogówki.

Przedstawiona mi do oceny praca pt. „Ocena rogówki u pacjentów leczonych ranibizumabem lub afliberceptem z powodu wysiękowej postaci zwyrodnienia plamki żółtej związanego z wiekiem" obejmuje 109 stron, w tym 58 tabel, 53 ryciny, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis skrótów oraz 124 pozycje piśmiennictwa. Całość rozprawy Autorka podzieliła na 11 rozdziałów, a układ rozprawy jest typowy dla tego typu opracowań. We wstępie Doktorantka przedstawiła szczegółowe informacje dotyczące związanego z wiekiem zwyrodnienia plamki, z uwzględnieniem patomechanizmu, klasyfikacji, objawów, diagnostyki i leczenia AMD. Omówiła też szczegółowo śródbłonek rogówki, czynniki uszkadzające go, i metody oceny śródbłonka rogówki.

Cele pracy Doktorantka realizowała poprzez:

1. Ocenę morfometryczną komórek śródbłonka rogówki oraz grubości centralnej rogówki u pacjentów z wysiękową postacią AMD leczonych doszklistkowymi iniekcjami afliberceptu lub ranibizumabu.
2. Porównanie parametrów charakteryzujących komórki śródbłonka rogówki w grupie pacjentów leczonych wyłącznie ranibizumabem oraz w grupie pacjentów leczonej wyłącznie afliberceptem.
3. Ocenę bezpieczeństwa stosowania afliberceptu i ranibizumabu w odniesieniu do śródbłonka rogówki.

4. Ocenę morfometryczną komórek śródbłonka rogówki oraz grubości centralnej rogówki u pacjentów leczonych doszklistkowymi iniekcjami afliberceptu lub ranibizumabu, z uwzględnieniem wieku chorych.

Badania retrospektywne przeprowadzono w grupie 106 chorych (110 oczu) leczonych z powodu związanego z wiekiem zwyrodnienia plamki, przy pomocy powtarzalnych w odpowiednich schematach, doszklistkowych iniekcji 0,5mg ranibizumabu lub 2mg afliberceptu. Przyjęto prawidłowe kryteria włączenia i wykluczenia. Przez okres 3 miesięcy każdy chory otrzymywał 1x w miesiącu doszklistkową iniekcję ranibizumabu (0,5mg) lub afliberceptu (2mmg). Badania chorych, poza rutynowymi, stosowanymi w programach lekowych, obejmowały ocenę gęstości komórek śródbłonka rogówki/mm^2, odsetka komórek heksagonalnych, wskaźnika zróżnicowania wielkości komórek śródbłonka rogówki, oraz ocenę grubości centralnej rogówki (μm) przed leczeniem, pomiędzy iniekcjami, i w okresie obserwacji. Ponadto analizowano wpływ wieku na uzyskane wyniki.

Wyniki badań zostały przedstawione w rozdziale 6, na 57 stronach. Poddano je szczegółowej analizie statystycznej, stosując odpowiednio dobrane testy. Wyniki badań przedstawiono w postaci rycin, tabel i wykresów. Wszystkie tabele i wykresy uzupełnione są dokładnymi opisami.

Na podstawie uzyskanych wyników badań Autorka dysertacji wykazała, że w grupie pacjentów:

- leczonych ranibizumabem: średnia gęstość komórek śródbłonka przed leczeniem wynosiła 2397/mm^2, natomiast 6 mc po leczeniu 2357/mm^2 (+/-460). Utrata komórek wyniosła po pierwszej iniekcji 0,3%, po drugiej 0,5% i po trzeciej 0,8%, a po 6 miesiącach od leczenia wynosiła 1,7%
- leczonych afliberceptem: średnia gęstość komórek śródbłonka przed leczeniem wynosiła 2448/mm^2 (+/- 493), natomiast 6 mc po leczeniu 2348/mm^2 (+/-473). Utrata komórek wyniosła po pierwszej iniekcji 1,3%, po drugiej 2,5% i po trzeciej 3,5% oraz 5,6% po 6 miesiącach od rozpoczęcia leczenia. Statystycznie istotne zmniejszenie gęstości komórek śródbłonka w tej grupie chorych zaobserwowano po każdej z 3 iniekcji oraz po 6 miesiącach od rozpoczęcia leczenia.

Odsetek komórek heksagonalnych w grupie chorych leczonych ranibizumabem lub afliberceptem wynosił odpowiednio 53 (+/-9) i 52 (+/-9) przed leczeniem, natomiast po 6 miesiącach od rozpoczęcia leczenia 49 (+/-9) i 49 (+/-8). Analiza pleomorfizmu

wykazała jego wzrost w obu grupach chorych, niezależnie od stosowanego doszklistkowo preparatu anty-VEGF.

Nie wykazano również statystycznie istotnych różnic w grubości centralnej rogówki.

Uzyskane wyniki pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. W przeprowadzonej analizie stwierdzono wpływ powtarzalnych iniekcji doszklistkowych preparatów anty-VEGF w postaci większego niż fizjologiczne obniżenia gęstości komórek śródbłonka rogówki.
2. Utrata komórek śródbłonka rogówki była większa u pacjentów leczonych afliberceptem. Ponadto wykazano znamiennie mniejszą gęstość komórek śródbłonka rogówki w grupie pacjentów leczonych afliberceptem, w wieku powyżej 80 roku życia, w porównaniu z pacjentami w wieku 50-70 lat. Zależność ta nie wystąpiła w grupie chorych leczonych ranibizumabem.
3. Stwierdzono negatywny wpływ iniekcji ranibizumabu i afliberceptu w postaci obniżenia ilości (odsetka) komórek heksagonalnych.
4. Wykazano łagodny niekorzystny wpływ doszklistkowych iniekcji zarówno ranibizumabu, jak i afliberceptu na wskaźnik zróżnicowania wielkości komórek, tj. nastąpiło zwiększenie polimegatyzmu.
5. Stwierdzono nieznaczny wpływ doszklistkowych iniekcji ranibizumabu na zwiększenie grubości centralnej rogówki. Nie zaobserwowano tego zjawiska podczas leczenia afliberceptem.

   Zaprezentowane wnioski stanowią wyczerpującą odpowiedź na postawione przez Autorkę założenia pracy.

W rozdziale 7, „Dyskusja", Doktorantka omówiła uzyskane wyniki badań i porównała je z danymi pochodzącymi z 124 pozycjami piśmiennictwa. Dyskusja jest prowadzona w sposób wyczerpujący, rzeczowy, krytyczny i wskazuje na umiejętność Autorki dysertacji posługiwania się piśmiennictwem. Większość wyników jest zbieżna z doniesieniami innych autorów.

Uwagi:

- w materiale i metodach (punkt 3) wyniki dotyczące gęstości komórek śródbłonka rogówki powinny być podane w odniesieniu do powierzchni $1mm^2$, a nie podane w mm^2

- w rozdziale „Dyskusja" wystąpiła chyba pomyłka w danych dotyczących średniej gęstości komórek śródbłonka w grupie pacjentów leczonych ranibizumabem, podano 2397 komórek na mm^2 (+/-3459) ?
- skrót CCT oznacza: *central corneal thickness,* co tłumaczy się na „grubość centralnej rogówki" (i takie badanie było wykonywane w ocenie rogówki), a nie „centralna grubość rogówki".
- brakuje spisu rycin i tabel.

Niewielkie błędy nie pomniejszają wartości rozprawy. Napisana jest w przejrzysty sposób. Dysertację oceniam bardzo pozytywnie.

Podsumowując uważam, że rozprawa doktorska lek med. Magdaleny Szwabowicz odpowiada warunkom przewidzianym dla prac doktorskich.

Zgłaszam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie lek med. Magdaleny Szwabowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK KATEDRY OKULISTYKI UJCM

Prof. dr hab. med. Bożena Romanowska-Dixon

Bożena Romanowska-Dixon