

Ocena objawów okulistycznych oraz profilu cytokin w filmie łzowym u objawowych pacjentów z COVID-19

Anna Niedźwiedź¹, Miłosz Kawa¹, Ewa Pius-Sadowska¹, Agnieszka Kuligowska², Alicja Ziontkowska², Dawid Wrzałek², Anna Machalińska²

1. Zakład Patologii Ogólnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

2. I Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Wstęp: Celem pracy było zbadanie obecności i czasu trwania objawów okulistycznych we wczesnej fazie COVID-19 oraz ocena współwystępującej lokalnej odpowiedzi immunologicznej w obszarze powierzchni oka.

Materiał i metody: Do badania włączono 180 pacjentów z rozpoznaniem COVID-19 oraz od 160 zdrowych osób z grupy kontrolnej (z ujemnym wynikiem w kierunku zakażenia SARS-CoV-2) dobranych pod względem wieku. W obu grupach oceniono częstość występowania objawów okulistycznych w momencie zgłoszenia się do szpitala oraz w ciągu 7 dni poprzedzających rekrutację. Stężenia TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p70, GM-CSF i IFN- γ w filmie łzowym zostały oznaczone przy użyciu technologii Luminex xMAP.

Wyniki: W grupie pacjentów z rozpoznaniem COVID-19 12,64% zgłaszało co najmniej jeden objaw okulistyczny w momencie przyjęcia do szpitala, a 24,14% w ciągu 7 dni poprzedzających przyjęcie ($p < 0.001$ vs grupa kontrolna). W momencie przyjęcia dominującym objawem było łzawienie ($p = 0.04$) oraz ból oka ($p = 0.01$), natomiast w okresie poprzedzającym przyjęcie do szpitala pacjenci najczęściej skarżyli się na swędzenie, pieczenie, łzawienie, zaczerwienienie i ból oka (odpowiednio $p = 0.01$, $p = 0.01$, $p = 0.001$, $p = 0.02$ i $p < 0.001$). Stężenia IL-10 i VEGF w filmie łzowym były wyższe, natomiast stężenia TNF- α , IL-1 β , IL-8 oraz GM-CSF znacząco niższe u pacjentów z COVID-19 w porównaniu do grupy kontrolnej.

Omówienie: Koronawirus SARS-CoV-2 nie indukuje nasilonej lokalnej odpowiedzi immunologicznej w obszarze powierzchni oka. Wyniki naszego badania wskazują, iż w infekcji COVID-19 objawy oczne poprzedzają objawy ogólnoustrojowe, co daje podstawy sądzić iż mogą one stanowić objawy prodromalne infekcji COVID-19.

Słowa kluczowe: COVID-19, objawy oczne, cytokiny zapalne we łzach, Luminex

Evaluating the ocular symptoms and tear film cytokine profile in symptomatic COVID-19 patients

Anna Niedźwiedź¹, Miłosz Kawa¹, Ewa Pius-Sadowska¹, Agnieszka Kuligowska², Alicja Ziontkowska², Dawid Wrzątek², Anna Machalińska²

1. Zakład Patologii Ogólnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

2. I Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Introduction: The aim of this study was to investigate the presence and duration of ophthalmic symptoms in the early phase of COVID-19 disease and to assess the corresponding local immune response on ocular surface.

Materials and methods: Study included the data of 180 COVID-19 patients and 160 age-matched healthy controls. Main outcome was to explore the occurrence of ophthalmological manifestations at the time of enrollment to the hospital, and during the preceding 7 days. Tear film concentrations of TNF- α , IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p70, GM-CSF, and IFN- γ were determined by a magnetic bead assay (Luminex xMAP).

Results: Among COVID-19 patients, 12.64% had at least one ocular symptom at the time of the admission and 24.14% within preceding 7 days ($p < 0.001$ vs controls). The dominant symptoms reported at the time of the admission were eye tearing ($p = 0.04$) and eye pain ($p = 0.01$), while in the preceding 7 days the dominant symptoms were eye itching, burning, tearing, redness and pain of the eye ($p = 0.01$, $p = 0.01$, $p = 0.001$, $p = 0.02$ and $p < 0.001$, respectively). The tear film concentrations of IL-10 and VEGF were found to be increased, whereas TNF- α , IL-1 β , IL-8 and GM-CSF were significantly decreased among COVID-19 patients compared to the controls.

Discussion: SARS-CoV-2 coronavirus does not attract a strong local response of the conjunctival immune system. The results of our study evidently indicate, that ocular manifestations can occur early in the course of COVID-19 before other systemic manifestations, which inclines us to believe that conjunctival manifestations could be the preliminary signs of the developing COVID-19 disease.

Podwyższony poziom cytokin zapalnych a obecność cząstek wirusa SARS-CoV-2 w wydzielinie spojówkowej u pacjentów z pełnoobjawową infekcją COVID-19

Anna Niedźwiedź¹, Miłosz Kawa¹, Ewa Pius-Sadowska¹, Agnieszka Kuligowska², Alicja Ziontkowska², Dawid Wrzałek², Marta P. Wiącek², Anna Machalińska²

1. Zakład Patologii Ogólnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

2. I Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Wstęp: Zapalenie spojówek może być jedną z pierwszych manifestacji klinicznych choroby COVID-19 wywołanej przez wirusa SARS-CoV-2. Przypuszcza się, iż obecność cząstek wirusa w wydzielinie spojówkowej może stymulować proces miejscowego wydzielania cytokin zapalnych. Mając na uwadze, iż wirusowe zapalenia spojówek cechuje wysoka zakaźność, a spojówki są jedną z potencjalnych dróg transmisji wirusa, w niniejszej pracy dokonano analizy częstości występowania cząsteczek SARS-CoV-2 w wydzielinie spojówkowej oraz oceniono wpływ lokalnej obecności wirusa na aktywację miejscowej odpowiedzi zapalnej.

Materiał i metody: Do badań włączono 232 pacjentów z objawami COVID-19, od których pobrano film łzowy i oznaczono w nim stężenia TNF- α , IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p70, GM-CSF oraz IFN- γ . Obecność cząsteczek wirusa SARS-CoV-2 w wydzielinie spojówkowej weryfikowano na podstawie badania wymazu spojówkowego metodą RT-PCR.

Wyniki: Obecność RNA wirusowego w wymazach z worka spojówkowego została potwierdzona u 21 pacjentów (9%). Nie wykazano związku między obecnością oraz czasem trwania objawów okulistycznych a obecnością cząsteczek wirusa w wydzielinie spojówkowej. Stężenia IFN- γ , TNF- α , IL-5, IL-8 i GM-CSF były istotnie większe w grupie pacjentów z dodatnim wynikiem wymazu spojówkowego w kierunku zakażenia SARS-CoV-2 aniżeli w grupie pacjentów z wynikiem ujemnym.

Omówienie: Niski odsetek dodatnich wymazów ze spojówki może wskazywać na niski tropizm wirusa SARS-CoV-2 w stosunku do powierzchni oka. Mediatory zapalne obserwowane w wydzielinie spojówkowej w grupie pacjentów z dodatnim wynikiem wymazu spojówkowego mogą odgrywać kluczową rolę w patofizjologii aktywnego zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w obrębie narządu wzroku.

Słowa kluczowe: COVID-19, cytokiny zapalne we łzach, wymaz spojówkowy RT-PCR

Increased proinflammatory cytokines in tears correspond with conjunctival SARS-CoV-2 positivity in symptomatic COVID-19 patients

Anna Niedźwiedź¹, Miłosz Kawa¹, Ewa Pius-Sadowska¹, Agnieszka Kuligowska², Alicja Ziontkowska², Dawid Wrzałek², Marta P. Wiącek², Anna Machalińska²

1. Zakład Patologii Ogólnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

2. I Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

Introduction: Conjunctivitis may be one of the first clinical manifestations of the SARS-CoV-2 coronavirus disease COVID-19. It is presumed that the presence of virus particles in the conjunctival secretion may stimulate the local expression of inflammatory cytokines. Considering the high infectivity of viral conjunctivitis, and the fact that conjunctiva is one of the potential routes of viral transmission, the aim of this study was to analyze the panel of selected inflammatory cytokines in tears of COVID-19 patients in relation to presence of SARS-CoV-2 viral load in conjunctival secretions.

Materials and Methods: The concentrations of TNF- α , IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 p70, GM-CSF, and IFN- γ were determined by a magnetic bead assay in a tear film collected from 232 symptomatic COVID-19 patients. SARS-CoV-2 ocular infection was confirmed based on positive conjunctival swab-based RT-PCR testing.

Results: Viral RNA in conjunctival sac was detected in 21 patients (9%). No relation between presence and the duration of ophthalmic symptoms and SARS-CoV-2 infection detected in conjunctival secretions was found. The tear film concentrations of IFN- γ , TNF- α , IL-5, IL-8 and GM-CSF were found to be significantly greater among patients with positive conjunctival swab results as compared to the group negative for SARS-CoV-2 in conjunctival sac.

Discussion: Low percentage of positive conjunctival swabs may implicate low ocular tropism of SARS-CoV-2. Inflammatory mediators observed in human tears with positive conjunctival swab result may play a significant role in ocular pathology of SARS-CoV-2.

Retixoft u pacjentów z retinopatią cukrzycową – wyniki rocznej obserwacji

Joanna Rutkowska¹, Agnieszka Regucka¹, Dorota Pojda-Wilczek^{1,2}

1. *Uniwersyteckie Centrum Kliniczne im. Prof. K. Gibińskiego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach*

2. *Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach*

Wstęp: Retinopatia cukrzycowa jest powikłaniem obecnym niemal u co trzeciej osoby chorej na cukrzycę. Bardzo ważna jest więc profilaktyka zapewniająca odpowiednie wyrównanie metaboliczne, choć nie zawsze jest to osiągalne. W badaniach doświadczalnych wykazano, że suplementacja kwasem alfa-liponowym chroniąc komórki zwojowe siatkówki, może spowolnić postęp retinopatii cukrzycowej.

Materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 21 osób z retinopatią cukrzycową, przyjmujących codziennie jedną kapsułkę preparatu Retixoft zawierającego m.in. kwas alfa-liponowy. U pacjentów przeprowadzono dwie wizyty, pierwszą przed zastosowaniem suplementacji i drugą po 12 miesiącach. Na każdej wizycie wykonano podstawowe badania okulistyczne, ocenę grubości kompleksu komórek zwojowych siatkówki, elektroretinografię wywołaną wzorcem, a także pobrano próbki krwi celem oznaczenia hemoglobiny glikowanej i profilu lipidowego.

Wyniki: Nie stwierdzono żadnych istotnych statystycznie różnic we wszystkich badanych parametrach między pierwszym, a ostatnim badaniem. Jedynie w badaniu wstępnym zaobserwowano istotne statystycznie, dodatnie korelacje: między poziomem hemoglobiny glikowanej, a czasem kulminacji fali N95 oraz pomiędzy grubością kompleksu komórek zwojowych siatkówki, a amplitudą fali P50. W tej samej grupie zaobserwowano odwrotnie proporcjonalną zależność między poziomem triglicerydów, a wartościami amplitudy fal P50 i N95.

Omówienie: Retixoft w zastosowanej dawce nie ma istotnego wpływu na poprawę aktywności komórek zwojowych siatkówki u pacjentów z retinopatią cukrzycową. Ustąpienie korelacji stwierdzonych przed zastosowaniem suplementacji w badaniach końcowych jest obiecujące i sugeruje, że być może przy zwiększeniu dobowej dawki tego preparatu można spodziewać się korzystnego efektu.

Retixoft in diabetic retinopathy patients - one year follow-up results

Joanna Rutkowska¹, Agnieszka Rogucka¹, Dorota Pojda-Wilczek^{1,2}

1. Uniwersyteckie Centrum Kliniczne im. Prof. K. Gibińskiego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

2. Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Diabetic retinopathy as a complication occurs in every third person with diabetes. Prophylaxis based on proper metabolic conditions is crucial, however sometimes it is hard to achieve. There are studies on animal models confirming that alpha-lipoic acid supplementation can protect the ganglion cells and slow down the progression of diabetic retinopathy.

Material and methods: 21 individuals with diabetic retinopathy were enrolled in the study. They received one pill of Retixoft daily, which includes, among others, alpha-lipoic acid. Patients underwent two visits, the first before supplementation and the second after 12 months. At each visit, full eye examination, assessment of the retinal ganglion cell complex and pattern electroretinography were performed. Also blood samples were taken to determine the lipid profile and glycated hemoglobine level.

Results: There were no statistically significant differences in all taken results between the first and second examination. Only at the first visit (before supplementation) statistically significant positive correlations have been observed between glycated hemoglobine level and N95 implicit time, as well as between ganglion cel complex thickness and P50 amplitude. In the same group statistically significant negative correlation has been observed also between triglicerydes level and P50, N95 amplitudes.

Conclusions: Our study revealed no effect on retinal ganglion cells acitivity in diabetic retinopathy patients after one year of Retixoft supplementation. However, the lack of correlations at the final examination, which have been observed at the first visit, can be promising. Perhaps the effect of alpha-lipoic acid would be better with higher daily doses.

Key words: Diabetic retinopathy. alpha-lipoic acid, pattern electroretinography, ganglion cells

Charakterystyka kliniczna pacjentów z chorobą Stargardta, z potwierdzoną mutacją w genie *ABCA4*

Kamil Szulborski, Monika Ołdak, Jacek P. Szaflik

Klinika Okulistyki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Cel pracy. Charakterystyka kliniczna pacjentów z STGD, która rozwinęła się na skutek mutacji w genie *ABCA4*. Poszukiwano również zależności pomiędzy poszczególnymi parametrami opisującymi pacjentów oraz oceniano przydatność skal stopniujących.

Materiał i metody. Badanie retrospektywne objęło 42 pacjentów z potwierdzonym genetycznym podłożem choroby, u których w toku diagnostyki przeprowadzono pełne badanie okulistyczne, obejmujące wywiad chorobowy, ocenę ostrości wzroku z najlepszą korekcją, ocenę zmian w dnie oka wg klasyfikacji Fujinami'ego - FGS, ocenę zmian w FAF wg klasyfikacji Fujinami'ego, obecność ciszy naczyniówkowej w AF, OCT plamki, FERG z oceną zmian wg klasyfikacji Loisa oraz mfFERG.

Wyniki i wnioski. Jest to jedna z pierwszych analiz tak dużej grupy pacjentów z STGD pochodzących z Europy Środkowej, z potwierdzoną bialleliczną mutacją w genie *ABCA4*. Charakteryzując badaną grupę pacjentów, potwierdzono dużą heterogenność obrazu klinicznego choroby, odpowiadającą jednak dotychczasowym opisom tego schorzenia. Większym zmianom w FERG, ocenianym wg klasyfikacji Loisa, odpowiada wyższy wiek pacjenta, niższa ostrość wzroku, bardziej zaawansowane zmiany w dnie oka i FAF, a także obniżone odpowiedzi w pierścieniach obwodowych w badaniu mfERG. Im wyższy był wiek pacjenta w chwili wystąpienia objawów, tym obserwowano mniejsze zmiany zanikowe, wyrażone centralną grubością siatkówki (CRT) w badaniu OCT. U pacjentów z lepszą ostrością wzroku obserwowano mniejsze nasilenie zmian w badaniu dna oka i w badaniu FAF. Klasyfikacja Loisa zmian w FERG wykazuje najwięcej korelacji z innymi parametrami klinicznymi. Zastosowanie skal stopniujących w chorobie Stargardta jest niezwykle przydatne dla charakterystyki fenotypowej pacjentów.

Słowa kluczowe: Choroba Stargardta (STGD), gen *ABCA4*, diagnostyka okulistyczna, autofluorescencja dna oka (FAF), optyczna koherentna tomografia (OCT), elektroretinografia błyskowa (flash ERG), elektroretinografia wielogniskowa (mfERG)

Clinical characteristics of patients with Stargardt disease, with a confirmed mutation in the *ABCA4* gene

Kamil Szulborski, Monika Ołdak, Jacek P. Szaflik

Klinika Okulistyki Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Aim. To characterize patients with STGD, which developed as a result of mutation in the *ABCA4* gene. Correlations between individual parameters describing patients were also searched for and the usefulness of grading scales was assessed.

Material and methods. The retrospective study included 42 patients and consisted of typical ophthalmological examination, including medical history, assessment of BCVA, assessment of changes in the fundus according to the Fujinami scale, assessment of changes in FAF according to the Fujinami scale, presence of “dark choroid” sign in FA, macular OCT, FERG with assessment according to Lois's scale and mffFERG.

Results and conclusions. This is one of the first analyzes of such a large group of Central European STGD patients with a confirmed biallelic mutation in the *ABCA4* gene. A high heterogeneity of the clinical picture of the disease was confirmed, which corresponds to other descriptions of this disease. Larger changes in FERG as assessed by Lois scale were correlated with higher patient age, lower visual acuity, more advanced changes in the eye fundus and FAF examinations, and with decreased peripheral ring responses in the mffERG. The higher the patient's age at onset, the smaller the atrophic changes, observed in OCT. Degenerative changes in the eye fundus examination are more pronounced in older patients, i.e. with the progression of the disease. In patients with smaller visual acuity impairment, less changes in the fundus and the FAF examination were observed. Lois's classification of FERG shows the most correlation with other clinical parameters. The use of grading scales in STGD to assess changes in the fundus, changes in autofluorescence and changes in FERG is highly useful for the clinical characteristics of patients.

Modele przedkliniczne czerniaka błony naczyniowej

Małgorzata Szczygieł¹, Anna Kozińska¹, Katarzyna Jasińska-Konior¹, Anna Markiewicz², Bożena Romanowska-Dixon², Martyna Elas¹

1. Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

2. Katedra Okulistyki Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Klinika Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Badania and mechanizmami powstawania i rozwoju czerniaka błony naczyniowej (UM), a także testowanie terapii wymaga odpowiednich modeli zwierzęcych i laboratoryjnych. Ciągłe nie ma skutecznego leczenia przerzutów odległych czerniaka. Istnieje potrzeba stworzenia nowych modeli zwierzęcych i komórkowych umożliwiającących badania nad biologią i mechanizmami przerzutów oraz zaproponowanych metod ich leczenia.

Scharakteryzowano szereg modeli UM ukierunkowanych na przerzutowanie w oparciu materiał tkankowy pobierany podczas zabiegów enukleacji lub biopsji zarówno pierwotnych, jak i przerzutowych guzów. Ustabilizowano również modele na błonie omocznioowo-owodniowej zarodków kurzych. Przetestowano kilka podejść do ustabilizowania przerzutów u myszy. We wszystkich przypadkach stwierdzono obecność mutacji BAP1.

Badania prowadzono częściowo w ramach grantów CMUJ nr N41/DBS/000827 and NCN UMO-2020/37/B/NZ4/01313

Uveal melanoma in preclinical models

Małgorzata Szczygieł¹, Anna Kozińska¹, Katarzyna Jasińska-Konior¹, Anna Markiewicz², Bożena Romanowska-Dixon², Martyna Elas¹

1. Department of Biophysics and Cancer Biology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Kraków, Poland

2. Chair of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Jagiellonian University Medical College and Ophthalmology and Ocular Oncology Clinic, University Hospital, Krakow, Poland

The research on mechanisms of uveal melanoma formation and development, as well as testing new therapeutic strategies require creation of adequate animal and laboratory models. So far, there is no efficient therapy in uveal melanoma treatment that would improve condition of patients with distal metastases. There is a great need of new cellular and animal models, especially enabling studying metastasis biology, mechanisms of dissemination, and proposed treatments.

We have generated and characterized a panel of UM models, with a focus toward metastases. Stabilized UM PDX were established based on patient biopsy material both from primary and metastatic UM patients. We have also stabilized tumor growth in chicken [chorioallantoic membrane](#). Several approaches to induce liver metastases in mice were tested. All established models displayed BAP1 mutation.

This research was supported in part by CMUJ nr N41/DBS/000827 and NCN UMO-2020/37/B/NZ4/01313

Inhibitor HDAC w sferoidach czerniaka błony naczyniowej oka

Anna Kozińska¹, Małgorzata Szczygieł¹, Katarzyna Jasińska-Konior¹, Anna Markiewicz², Bożena Romanowska-Dixon², Martyna Elas¹

1. Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

2. Katedra Okulistyki Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Klinika Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Trójwymiarowe model wzrostu komórek nowotworowych uważa się za bardziej odpowiedni model guzów, odpowiednie do testowania nowych terapii. Prowadzone są badania nad skutecznością działania quisinostatu, inhibitora HDAC w czerniaku błony naczyniowej. Monitorowano wzrost sferoidów z 2 linii PDX oraz 3 linii pierwotnych UM. Komórki traktowano quisinostatem w różnych stężeniach przez 72h w celu określenia jego wpływu na ich żywotność stosując test CellTiter-Glo 3. Określono również immunohistochemicznie występowanie Melan-A, BAP1, i tempo proliferacji komórkowej. Powstałe sferoidy różniły wielkością i zawartością. Quisinostat prowadził do zależnej od dawki redukcji żywotności sferoidów. Trójwymiarowe sferoidy komórek czerniaka błony naczyniowej znajdują zastosowanie w skryningu leków.

Badania prowadzono częściowo w ramach grantów CMUJ nr N41/DBS/000827 and NCN UMO-2020/37/B/NZ4/01313

HDAC inhibitor in uveal melanoma spheroids

Anna Kozińska¹, Małgorzata Szczygieł¹, Katarzyna Jasińska-Konior¹, Anna Markiewicz², Bożena Romanowska-Dixon², Martyna Elas¹

1. Department of Biophysics and Cancer Biology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Kraków, Poland

2. Chair of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Jagiellonian University Medical College and Ophthalmology and Ocular Oncology Clinic, University Hospital, Krakow, Poland

Three-dimensional growth of established cell lines or primary cell cultures is regarded as a more representative model of tumors. Quisinostat, an inhibitor of HDAC, is being tested against uveal melanoma in pre-clinical studies and is currently being tested in phase 2 clinical trials.

Spheroid growth from two PDX UM cell lines and three primary UM cell lines was monitored, cross-sectional area was monitored. Cells were treated with quisinostat in different concentrations for 72h to determine effect on cell viability using imaging and CellTiter-Glo 3D cell viability assay. Melan-A, BAP1 and cell proliferation were estimated immunohistologically.

UM cell lines formed spheroids varying in size and compactness. Quisinostat caused a dose-dependent reduction in viability of 3D spheroid cells.

3D spheroid of UM allow drug screening and are important in optimizing new therapeutic approaches.

This research was supported in part by CMUJ nr N41/DBS/000827 and NCN UMO-2020/37/B/NZ4/01313

Polimorfizmy genowe białek układu dopełniacza a wyniki leczenia doszkliskowymi iniekcjami czynnika anty-VEGF u chorych na wysiękową postać zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem

Agnieszka Kubicka-Trzaska^{1,2}, Katarzyna Żuber-Łaskawiec^{1,2}, Izabella Karska-Basta^{1,2}, Bożena Romanowska-Dixon^{1,2}, Marek Sanak³

1. Katedra Okulistyki Collegium Medicum UJ w Krakowie

2. Klinika Okulistyki i Onkologii Okulistycznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

3. Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej Collegium Medicum UJ w Krakowie

Cel: Celem pracy była ocena zależności między polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (SNPs) w genach kodujących białka układu dopełniacza: C2 (E318D rs9332739), C3 (R102G rs2230199) oraz CFH (Y402H rs1061170) a odpowiedzią na doszkliskowe iniekcje czynnika anty-VEGF u chorych na wysiękowe AMD.

Materiał i metody: Badaniem objęto 111 chorych, którzy byli leczeni doszkliskowymi iniekcjami bawacyzumabu i ranibizumabu, Odpowiedź na leczenie oceniano w oparciu o wyniki najlepszej skorygowanej ostrości wzroku (BCVA - best corrected visual acuity) i badania OCT, w którym analizowano grubość centralnej siatkówki (CRT - central retinal thickness). Ocenę tę przeprowadzano co 4 tygodnie w okresie obserwacji wynoszącym 12 miesięcy. Grupę kontrolną stanowiło 58 osób bez objawów AMD. Badania genetyczne przeprowadzono z krwi żyłnej przy użyciu metody łańcuchowej reakcji polimerazy DNA w czasie rzeczywistym (rt-PCR - real-time polymerase chain reaction).

Wyniki: Genotyp CC w polimorfizmie rs1061170 CFH występował częściej u chorych na AMD niż w grupie kontrolnej ($p=0,0058$). Genotyp ten również częściej był obserwowany wśród 28 pacjentów (25,2%) ze słabą odpowiedzią na terapię anty-VEGF w porównaniu z osobami, u których reakcja na leczenie była pozytywna ($p=0,0002$). Chorzy, u których odnotowano słabą reakcję na leczenie i u których nie stwierdzono występowania tego genotypu, odnieśli korzyści z przejścia na inny lek anty-VEGF. W ostatnim badaniu kontrolnym nosiciele genotypu CC w polimorfizmie rs1061170 CFH mieli znacznie gorszą BCVA ($p=0,0350$) i większą CRT ($p=0,0168$) niż osoby nie posiadające tego genotypu. Natomiast u nosicieli genotypu TT wykazano istotną poprawę BCVA ($p=0,0467$) i zmniejszenie CRT w porównaniu z nosicielami genotypów CC i CT ($p=0,0194$). Nie znaleziono zależności między występowaniem AMD oraz wynikami terapii anty-VEGF a pozostałymi badanymi polimorfizmami rs9332739 C2 i rs2230199 C3.

Wnioski: Genotyp CC polimorfizmu rs1061170 CFH był związany z występowaniem AMD w badanej grupie chorych. Genotyp ten dodatkowo promował słabą odpowiedź na terapię anty-VEGF. Natomiast nosiciele genotypu TT w tym polimorfizmie wykazali ostatecznie lepszą BCVA oraz mniejszą CRT po 12 miesiącach leczenia w porównaniu do osób nie posiadających tego genotypu.

Genetic variants of complement proteins and response to anti-vascular endothelial growth factor therapy in patients with exudative age-related macular degeneration

Agnieszka Kubicka-Trzaska^{1,2}, Katarzyna Żuber-Łaskawiec^{1,2}, Izabella Karska-Basta^{1,2} Bożena Romanowska-Dixon^{1,2}, Marek Sanak³

1. *Department of Ophthalmology, Jagiellonian University Medical College, Kraków*

2. *Clinic of Ophthalmology and Ocular Oncology, University Hospital, Kraków*

3. *Division of Molecular Biology and Clinical Genetics, Jagiellonian University Medical College, Kraków*

Purpose: To assess the association between the single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the genes encoding complement factors C2, C3 and CFH (E318D rs9332739, R102G rs2230199, and Y402H rs1061170, respectively) and response to intravitreal anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) therapy in patients with exudative age-related macular degeneration (AMD).

Materials and methods: The study included 111 patients with exudative AMD treated with intravitreal bevacizumab or ranibizumab injections. Response to therapy was assessed on the basis of best corrected visual acuity (BCVA) and central retinal thickness (CRT) measured every 4 weeks for 12 months. The control group included 58 individuals without AMD. The SNPs were genotyped by real-time polymerase chain reaction in genomic DNA isolated from peripheral blood samples.

Results: The CC genotype in SNP rs1061170 of the *CFH* gene was more frequent in patients with AMD than in controls ($p=0.0058$). It was also more common among the 28 patients (25.2%) with poor response to therapy compared with good responders ($p=0.0002$). Poor responders, especially those without this genotype, benefited from switching to another anti-VEGF drug. At the last follow-up assessment, carriers of this genotype had significantly worse BCVA ($p=0.0350$) and greater CRT ($p=0.0168$) than noncarriers. TT genotype carriers showed improved BCVA ($p=0.0467$) and reduced CRT compared with CC and CT genotype carriers ($p=0.0194$). No associations with AMD or anti-VEGF therapy outcomes for SNP rs9332739 in the *C2* gene and SNP rs2230199 in the *C3* gene were found.

Conclusions: The CC genotype for SNP rs1061170 in the *CFH* gene was associated with AMD in our population. Additionally, it promoted a poor response to anti-VEGF therapy. On the other hand, TT genotype carriers showed better functional and anatomical response to anti-VEGF therapy at 12 months than carriers of the other genotypes for this SNP.