

Katedra i Oddział
Kliniczny
Otorynolaryngologii
i Onkologii
Laryngologicznej w
Zabrze SUM w
Katowicach

41-800 Zabrze
ul. M. Curie-Skłodowskiej 10
www.sum.edu.pl

Kierownik Katedry
Prof. dr hab. n. med. Maciej
Misiótek
tel.: (+48 32) 3732395
fax: (+48 32) 2717420

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 3732395

fax: (+48 32)
2717420

klinikaori.zabrze@sum.edu.pl

Ocena rozprawy doktorskiej **lek. Marleny Matulki** pod tytułem
*„Metaloproteinaza 9 (MMP-9) i tkankowy inhibitor
metaloproteinazy 1 (TIMP-1) w przewlekłym zapaleniu ucha
środkowego z perlakiem u dorosłych”*

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska porusza bardzo istotny i wciąż aktualny problem dorosłych chorych z przewlekłym perlakowym zapaleniem ucha środkowego. Schorzenie znane od bardzo wielu lat ciągle kryje jeszcze wiele tajemnic i często bywa powodem, niekoniernie miłych niespodzianek dla nas lekarzy oraz pacjentów. Sadzę, że rozprawa doskonale wpisuje się w oczekiwania środowiska laryngologicznego, które mimo dużej wiedzy na ten temat, stale oczekuje nowych, ważnych informacji, które mogłyby usprawnić diagnostykę chorych z w/w schorzeniem, zastosowanie właściwego leczenia operacyjnego, a także prowadzić skuteczny monitoring chorych po przeprowadzonym leczeniu. Otomikroskopia, badania słuchu, czasem nawet badania obrazowe nie zawsze przekonują nas o tym, czy podjęliśmy właściwą decyzję leczniczą.

Chorzy po operacji z powodu przewlekłego zapalenia ucha środkowego z perlakiem zawsze już będą wymagali regularnej kontroli pooperacyjnej. Ten fakt pozostanie niezmienny. Zatem, poszukiwanie nowego, nieinwazyjnego narzędzia, które pozwoli również na bardziej precyzyjną ocenę ewentualnego nawrotu choroby jest w pełni uzasadnione.

Warto wspomnieć w tym miejscu, że rozprawa doktorska powstała w ośrodku, który w zakresie otocirurgii i badań nad istotą perlaka może poszczycić się wieloma osiągnięciami nie tylko w Polsce. Osoba promotora, Pani Profesor Ewa Olszewska jest gwarantem najwyższego poziomu merytorycznego pracy. Świadczy o tym droga zawodowa i naukowa, w szczególności zaś liczne wspólne publikacje Pani Profesor z europejskimi

liderami otologii i neurootologii oraz prace w ramach powołanego zespołu Europejskiej Akademii Otologii i Neurootologii (EAONO) w sprawie wypracowania obowiązujących wytycznych dotyczących istoty perlaka.

W obszernym rozdziale **WSTĘP** Doktorantka przedstawia rys historyczny badań nad perlakiem, następnie podaje definicje i klasyfikacje perlaka, wspominając o udziale Pani Profesor Ewy Olszewskiej w międzynarodowym Komitecie, który został powołany w 2011 roku. Wypracowano podział perlaka na wrodzony, nabyty i nieklasyfikowany oraz zaproponowano cztery stopnie zaawansowania tego schorzenia. W dalszej części rozdziału Autorka przedstawia szczegółowo budowę histologiczną perlaka, analizując nie tylko morfologię podścieliska i macierzy, ale także ich wzajemne oddziaływanie. W kolejnym podrozdziale Doktorantka zwraca uwagę na czynniki patogenetyczne w przewlekłym zapaleniu ucha środkowego z perlakiem, bowiem istotą tego schorzenia jest toczący się stan zapalny oraz resorpcja kości. Doktorantka opisuje związek pomiędzy rozwojem perlaka a odpowiedzią immunologiczną organizmu na stan zapalny. Interakcje pomiędzy keratynocytami macierzy, a fibroblastami podścieliska, co skutkuje uwalnianiem prozapalnych cytokin; IL-1, IL-6, IL-8, IL-1 α , IL-1 β oraz białko pokrewne hormonowi przytarczyc PTHrP. Wydzielane są też inne cytokiny KGF, EGF, TNF α , PDGF oraz TGF- α . Autorka opisuje dokładnie udział osteoklastów w procesie niszczenia kości. W jednym z etapów osteolizy znaczący udział biorą enzymy proteolityczne m. in. metaloproteinazy, wytwarzane przez osteoklasty. Autorka wspomina też o wpływie stanu zapalnego ucha środkowego na nasilenie własności osteolitycznych perlaka, co implikuje destrukcje kości i możliwość wystąpienia licznych powikłań. W kolejnym podrozdziale opisana jest szczegółowo charakterystyka, budowa i rola metaloproteinaz i inhibitorów metaloproteinaz. Poza działaniem fizjologicznym, metaloproteinazy, w tym MMP-9 powodują degradację składników macierzy zewnątrzkomórkowej i

przyczyniają się do destrukcji tkanek. Inhibitor metaloproteiny hamuje aktywność enzymatyczną MMP, tworząc z nimi kompleksy.

CEL I HIPOTEZY

Doktorantka stawia hipotezę, że metaloproteiny należą do białek stanu zapalnego, który towarzyszy perlakowi i przyczyniają się do wzrostu torbieli perlaka i rozwoju choroby. W tekście tego krótkiego rozdziału znajduję zdanie, że identyfikacja potencjalnych biomarkerów ułatwiłaby rozpoznanie choroby, bądź jej nawrót. To jest życzenie, o którego spełnieniu myśli wielu badaczy, ale także lekarzy uprawiających laryngologię jako swój zawód.

Autorka nakreśliła cztery cele badawcze:

1. Określenie lokalizacji i intensywności stanu zapalnego w tkankach perlaka.
2. Określenie ekspresji MMP-9 i TIMP-1 w perlaku i wycinkach skóry (podścielisko i macierz).
3. Ocena stężenia MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu z krwi chorych w porównaniu do grupy kontrolnej.
4. Ocena zależności pomiędzy stężeniami MMP-1 i TIMP-1 w surowicy i osoczu w badanych grupach.

MATERIAŁ I METODY BADAWCZE

Badaniem objęto 50 chorych, leczonych w Klinice Otolaryngologii UM w Białymstoku. Grupę badaną stanowiło 25 chorych operowanych z powodu przewlekłego perlakowego zapalenia ucha, a grupę kontrolną 25 chorych, u których wykonano septoplastykę. Po pobraniu krwi uzyskiwano surowicę krwi i osocze. Stężenia MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu oznaczano za pomocą zestawów enzymatycznego testu immunoenzymatycznego. Oznaczano ekspresję MMP-9 i TIMP-1 w preparatach histologicznych po odpowiedniej obróbce. Do dalszej oceny były akceptowane wyłącznie próbki

zawierające wszystkie warstwy perlaka i skóry. Stan zapalny oceniano w skali czterostopniowej.

W analizie statystycznej zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya dla porównania stężenia MMP-9, TIMP-1, MMP-9 i TIMP-1 między grupami oraz współczynników korelacji rang Spearmana do oceny siły współzależności między tymi parametrami. Istotność współczynników korelacji oceniono testem T-studenta. Istotność współzależności między ekspresją odpowiednich białek w tkance perlaka i wycinkach skóry okolicy zausznej obliczono przy użyciu testu χ^2 . Analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA PL 13.

WYNIKI

Uzyskane wyniki pokazują, że ekspresja białka MMP-9 w podścielisku perlaka jest silna, w macierzy znacznie słabsza ($p < 0,013$). Nie zaobserwowano istotnej różnicy statystycznej w ekspresji MMP-9 w wycinkach zdrowej skóry pomiędzy macierzą i podścieliskiem. Ekspresja TIMP-1 w macierzy perlaka jest istotnie wyższa niż w podścielisku ($p < 0,043$). Nie wykazano istotnej różnicy statystycznej pomiędzy stężeniem MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu uzyskanym z krwi pacjentów z perlakiem w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano natomiast korelację dodatnią między stężeniem MMP-9 w surowicy i osoczu oraz istotną korelację dodatnią między TIMP-1 w surowicy i osoczu w grupie badanej. Wyniki przedstawione są w sposób graficzny i opisowy, ale nie odnosi się wrażenia powtarzania informacji. Przekaz jest bardzo czytelny, mimo dużej zawartości informacji.

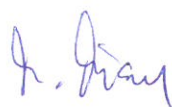
DYSKUSJA

Rozdział napisany jest umiejętnie. Doktorantka polemizuje z innymi autorami. Sama przyznaje, że mechanizmy leżące u podstaw etiopatogenezy perlaka nie są do końca rozpoznane. Zwraca uwagę na uzyskiwanie

krańcowo różnych wyników przez autorów i konkluduje, że czeka nas jeszcze wiele pracy, by móc ostatecznie uznać pewne mechanizmy za obowiązujące. Bez wątplenia pozostaje faktem, że czynnikami indukującymi powstanie perlaka są zaburzenia na poziomie molekularnym – uwalnianie prozapalnych cytokin, czynników wzrostu, toksyn bakteryjnych. W konsekwencji dochodzi do nieprawidłowego różnicowania i dojrzewania keratynocytów, przedłużonej apoptozy, aktywacji osteoklastów, erozji kostnej i postępu choroby. Istotnym zdaniem w rozdziale jest potwierdzenie, że uzyskane wyniki są podobne do wielu innych autorów i wskazują, że MMP-9 i TIMP-1 mogą mieć wpływ na rozwój perlaka i pobudzać destrukcję kości. O tym świadczą wyniki uzyskane przez Doktorantkę w zakresie ekspresji MMP-9, zwłaszcza w podścielisku perlaka. Prezentowane wyniki wskazują, że proces zapalny towarzyszący perlakowi ma charakter lokalny, ograniczony do kości skroniowej, zatem przydatność kliniczna stężeń MMP-9 i ITMP-1 jest nieco ograniczona.

WNIOSKI

Zaprezentowane wnioski są wartościową konkluzją płynącą z przeprowadzonych badań. Być może, Doktorantka oczekiwała nieco innych, ale badania naukowe rządzą się swoimi prawami i raczej rzadko jesteśmy w stanie antycypować w sprawie wyników na etapie wstępnych badań. Wniosek pierwszy należy uznać za istotny, bowiem Doktorantka wskazuje na miejsce w perlaku (podścielisko), które jest najbardziej odpowiedzialne za jego rozwój. Wniosek drugi potwierdza wcześniej założoną hipotezę, że ekspresja MMP-9 i TIMP-1 może służyć jako wskaźnik stopnia nasilenia stanu zapalnego w tkankach perlaka. Wnioski trzeci i czwarty mają charakter negatywny, tj. nie potwierdzają przydatności stężeń MMP-9 i TIMP-1 w surowicy i osoczu i definiują proces zapalny w uchu środkowym jako miejscowy, a nie ogólnoustrojowy.



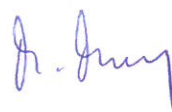
STRESZCZENIE

W języku polskim i angielskim Doktorantka zawarła informacje, które oddają w sposób zwięzły i czytelny problem, którym się zajęła, poszczególne etapy projektu oraz konkluzje płynące z przeprowadzonych badań.

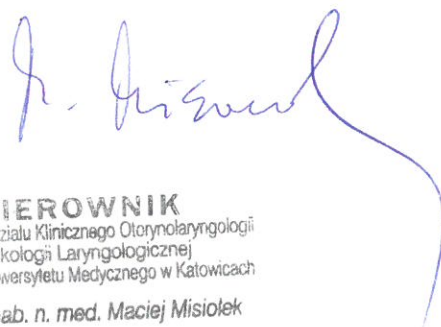
PIŚMIENICTWO

Liczba cytowanych publikacji to 148 prac. W większości to pozycje zagraniczne, ale nie brakuje też prac rodzimych. W zdecydowanej większości to prace z ostatniej dekady, zatem należy je uznać za bardzo aktualne. Sposób ich cytowania uznają za właściwy.

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska jest cenną pozycją, wzbogacającą piśmiennictwo w tym zakresie. Śmiało można uznać, że wnioski płynące z przeprowadzonych badań są rzeczowe i mimo, że dotyczą oddziaływania tylko dwóch parametrów, stanowią cenną wartość dla naukowców i klinicystów zajmujących się perlakiem. W oparciu o zaprezentowane w rozprawie doktorskiej badania powstanie, jak sądzę wartościowa publikacja, która powinna być źródłem cytowań wielu autorów. Badania zostały przeprowadzone w sposób zaplanowany, bardzo rzetelnie i drobiazgowo, a ich właściwa prezentacja w pracy jest dowodem dużej już samodzielności Doktorantki. Rozprawa doktorska lek. Marleny Malutki „*Metaloproteinaza 9 (MMP-9) i tkankowy inhibitor metaloproteinazy-1 (TIMP-1) w przewlekłym zapaleniu ucha środkowego z perlakiem u dorosłych*” **spełnia wymogi ustawowe** – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U z 2018 r. (art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. 2017 R. poz.1789) oraz art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. z



Z pełnym przekonaniem wnioskuję zatem do Wysokiego SENATU Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. Marleny Matulki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



KIEROWNIK
Katedry i Oddziału Klinicznego Otolaryngologii
i Onkologii Laryngologicznej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
prof. dr hab. n. med. Maciej Misiolek

