

Recenzja

rozprawy doktorskiej *na stopień naukowy doktora nauk medycznych*

mgr Justyny Żaworonek

„Ocena EKSPRESJI WYBRANYCH INTEGRYN NA KOMÓRKACH SPOJÓWKI U PACJENTÓW Z ZESPOŁEM SUCHEGO OKA”

Zespół suchego oka jest w chwili obecnej jednym z najczęstszych schorzeń narządu wzroku u człowieka. Częstość jego występowania w populacji szacuje się na 5-34%. Jest to związane z masowym wykorzystywaniem w pracy i w domu komputerów, częstym przebywaniem w pomieszczeniach klimatyzowanych oraz zanieczyszczeniem naszego środowiska naturalnego. Zespół suchego oka jest schorzeniem wieloczynnikowym, ale w rozwoju bardziej zaawansowanych jego postaci duże znaczenie mają procesy zapalne toczące się na powierzchni oka związane (pośrednio lub bezpośrednio) z niestabilnością filmu łzowego, jego hiperosmolarnością oraz czynnikami mechanicznymi (ruchy powiek). Powodują one przewlekły stan zapalny komórek nabłonka rogówki i spojówki.

Integryny to cząsteczki adhezyjne, które odgrywają istotną rolę w procesach fizjologicznych, procesach nowotworzenia, a także w reakcjach zapalnych i alergicznych. Ich budowa warunkuje zdolność do rozpoznawania i łączenia z różnymi ligandami, w tym cząsteczkami macierzy zewnątrzkomórkowej i receptorami nadrodziny

immunoglobulin. Odgrywają one istotną rolę (szczególnie integryny CD11a i CD11b) w procesach zapalnych, w tym w alergicznych stanach zapalnych spojówek.

Celem niniejszej pracy doktorskiej była ocena ekspresji integryn $\beta 2$: CD11a, CD11b, CD11c na komórkach nabłonka spojówki u pacjentów z zespołem suchego oka.

Główny cel pracy był realizowany przez cele szczegółowe:

1. Ocenę testów diagnostycznych zespołu suchego oka (test Schirmera, ocena stabilności filmu łzowego (TBUT) barwienie powierzchni fluoresceiną) w celu określenia zaawansowania ZSO.
2. Wykazanie związku pomiędzy ekspresją integryn $\beta 2$ a kliniczną ciężkością zespołu suchego oka.
3. Wykazanie udziału integryn $\beta 2$ w procesach immunologicznych powierzchni oka.

Badania wykonano u 40 pacjentów (20 kobiet i 20 mężczyzn) z rozpoznaniem zespołem suchego oka w wieku od 30 do 65 lat. u których nie stwierdzono chorób ogólnych oraz innych schorzeń narządu wzroku. Natomiast grupę porównawczą stanowiło 40 osób zdrowych (21 kobiet i 19 mężczyzn) w podobnym przedziale wiekowym bez współistniejących schorzeń. U wszystkich badanych zbierano wywiad, wykonywano badanie przedniego odcinka oczu w lampie szczelinowej oraz wykonywano testy diagnostyczne w kierunku zespołu suchego oka (test Schirmera I, test stabilności filmu łzowego, oraz barwienie powierzchni oka fluoresceiną).

Materiałem badanym były komórki nabłonka spojówki pobrane metodą cytologii impresyjnej, w których oceniano metodą cytometrii przepływowej (cytometr przepływowy FC500 firmy Beckman Coulter) odsetek komórek CD11a, CD11b i CD11c.

Wykonane badania wykazały wysoko istotną statystycznie różnicę w wynikach testów diagnostycznych między pacjentami z zespołem suchego oka, a grupą porównawczą. Badania cytometryczne wykazały wyższy odsetek komórek CD11a w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. Wartość odsetka komórek CD11b u pacjentów z ZSO był zbliżony do wartości jaką uzyskano w grupie kontrolnej. Odsetek komórek CD11c w grupie badanej i w grupie kontrolnej nie różnił się znamienne statystycznie.

Na podstawie uzyskanych badań można przypuszczać, że obserwowany wyższy odsetek komórek CD11a w komórkach nabłonka spojówki może być spowodowany zwiększoną ekspresją ICAM. Wzrost ICAM sprzyja aktywacji i migracji limfocytów na powierzchni oka. Interakcja LFA-1: ICAM-1 odgrywa istotną rolę w procesie zapalnym i w odpowiedzi immunologicznej. Oddziaływanie to ułatwia tworzenie synapsy immunologicznej, prowadzi do różnicowania limfocytów T oraz wspomaga migrację aktywowanych komórek z naczyń do miejsca zapalenia.

Kliniczna ciężkość ZSO koreluje z ekspresją integryn CD11a i CD11b. Pacjenci z umiarkowanym ZSO wykazują zwiększoną ekspresję CD 11a, natomiast u chorych z ciężkim ZSO występuje wzrost ekspresji CD11a oraz CD11b.

Integryna CD11a i CD11b wpływa na wzrost migracji limfocytów T do ognisk zapalnych i może być czynnikiem sprzyjającym rozwojowi ZSO. Monitorowanie ekspresji tych integryn może stanowić dodatkowe badanie w ocenie rozwoju zmian ocznych, a także marker stanu zapalnego ZSO.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy pomocy testu parametrycznego U Manna-Whitneya dla prób nie powiązanych w pary. Opracowanie danych przeprowadzono przy pomocy oprogramowania TIBCO Software Inc. Statistica.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Wzrost ekspresji integryn $\beta 2$ CD11a i CD11b na komórkach nabłonka spojówki wskazuje na ich udział w procesach immunologicznych.
2. Kliniczna ciężkość zespołu suchego oka ma związek z ekspresją integryn CD11a i CD11b. Pacjenci z umiarkowanym ZSO wykazują zwiększoną ekspresję CD11a, natomiast u chorych z ciężkim ZSO występuje wzrost ekspresji CD11a oraz CD11b.
3. Integryna CD11a i CD11b wpływa na wzrost migracji limfocytów T do ognisk zapalnych i może być czynnikiem sprzyjającym rozwojowi ZSO. Monitorowanie lokalnej ekspresji tych integryn może stanowić badanie dodatkowe w ocenie rozwoju zmian ocznych i stanowić marker stanu zapalnego w tej jednostce chorobowej.
4. Poznanie funkcji i aktywności wybranych integryn $\beta 2$ w oku może przyczynić się do opracowania nowych strategii leczenia pacjentów z ZSO.

Praca doktorska mgr Justyny Żaworonek liczy 111 stron. Jest ona napisana przejrzysto, bardzo poprawnie językowo. We wstępie doktorantka omówiła aktualne dane dotyczące budowy, aktywacji, podziału i funkcji integryn oraz najważniejsze informacje o budowie i roli filmu łzowego oraz o zespole suchego oka. Wstęp został napisany bardzo zwięźle, ale równocześnie wyczerpująco, omawiając całe zagadnienie w oparciu o najnowsze dane z piśmiennictwa światowego. Ta część pracy świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnienia, któremu poświęcona jest praca doktorska, jak również piśmiennictwa w tym zakresie, także najnowszego. W pracy właściwie dobrano badane grupy pacjentów oraz metody badania. Otrzymane wyniki zostały przejrzysto przedstawione i poddane właściwej analizie statystycznej. Wyniki pracy zostały właściwie sformułowane we wnioskach wynikających z

otrzymanych wyników. Praca zakończona jest obszernym (173 pozycji) spisem piśmiennictwa, który przemawia za dobrą znajomością całości zagadnienia przez doktorantkę.

Praca doktorska mgr Justyny Żaworonek dotyczy zagadnienia, o którym jest jeszcze mało danych w piśmiennictwie. Monitorowanie lokalnej ekspresji integryn może stanowić badanie dodatkowe oceniające czy stan zapalny ma istotne znaczenie w przebiegu klinicznym zespołu suchego oka u danego pacjenta. W chwili obecnej istnieją możliwości leczenia stanu zapalnego w przebiegu zespołu suchego oka przy pomocy cyklosporyny w postaci kropli ocznych. Jest to silny lek o działaniu immunosupresyjnym, który modyfikuje również przewlekłe procesy zapalne. Wskazaniem do jego stosowania jest obecnie brak poprawy stanu klinicznego pomimo stosowania preparatów sztucznych łez. U pacjentów tych nie wiadomo jednak, czy stan zapalny ma rzeczywiście znaczenie w przebiegu zespołu suchego oka u danego pacjenta, a więc cyklosporyna stosowana jest na „ślepo”. Należy zaznaczyć, że cyklosporyna, nawet stosowana w postaci kropli, ma szereg działań niepożądanych które mogą nawet pogorszyć przebieg kliniczny zespołu suchego oka. A więc wprowadzenie do diagnostyki tego zespołu markerów stanu zapalnego pozwoli na zastosowanie cyklosporyny (lub innych leków przeciwzapalnych) tylko w tych przypadkach, w których jest to uzasadnione występowaniem stanu zapalnego. Oczywiście wymaga to opracowania klinicznych metod oceny stanu zapalnego w zespole suchego oka. Ich wprowadzenie mogłoby zmienić strategię leczenia tego zespołu co doktorantka ujęła w 4 punkcie wniosków. Dlatego też uważam, że praca doktorska mgr Justyna Żaworonek stanowi istotny przyczynek do rozwiązania tego problemu.

Praca doktorska mgr Justyny Żaworonek nie jest jej pierwszą pracą o integrynach w schorzeniach narządu wzroku i jest kontynuacją jej poprzednich publikacji na ten temat.

Praca doktorska mgr. Justyny Żaworonek pt. „Ocena ekspresji wybranych integryn na komórkach spojówki u pacjentów z zespołem suchego oka” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. W mojej ocenie rozprawa doktorska spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668). W związku z tym chciałbym przedstawić Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie mgr. Justyny Żaworonek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr n. med. Marek E. Prost

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Prost', written in a cursive style.

Klinika Okulistyczna

Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie