

Становище

от доц. д-р Бинна Ненчева, дм, вътрешен член на научното жури, назначена със Заповед на Ректора на МУ- Варна № Р-109-30/15.01.2021г.

относно

дисертационен труд на д-р Младена Николаева Радева, за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Офталмология“, шифър 03.01.36

на тема: **“ Възможности за микроструктурен анализ и оценка на уврежданията на предната очна повърхност от ултравиолетови лъчи с естествен и изкуствен произход“**

Кратки биографични данни

Д-р Младена Радева е възпитаник на IV ЕГ – Фредерик Жолио-Кюри, гр.Варна. Владее отлично английски и испански език. Завършва Медицински Университет – Проф. Д-р Параскев Стоянов", Варна през 2015г. с отличие и награди. Веднага след това е започва специализация по Очни болести в Специализирана болница по очни болести за активно лечение, гр. Варна. През 2017г работи като хоноруван асистент към МУ-Варна, а през 2018г. след успешно положен конкурсен изпит е избрана за асистент в Катедра „Очни болести и зрителни науки". През същата година, отново след конкурс, е зачислена като редовен докторант. Носител на награда „Студент на годината" за 2014г. в област „Здравеопазване и спорт" на Община Варна, връчена за заслуги в областта. През март 2019г. печели награда „Млад учен" на Българската Глаукомна Асоциация. По-късно същата година е удостоена с приз „Лекарите, на които вярваме" на вестник „24 часа". През декември 2019г. успешно полага изпит за специалност по Очни болести. Ноември 2020г. придобива магистратура по „Здравен мениджмънт и медико-социални грижи“. Посещава локални и европейски обучителни курсове като глаукомния специализантски курс на EGS в Майнц, Германия през м. февруари 2019г, а по-късно същата година преминава едномесечна специализация по ЕВО програма в университетска болница Ramon у Сајал, Мадрид, Испания.

Актуалност на проблема

Ултравioletовата радиация е само една малка част от широкия спектър слънчеви лъчи достигащи земната повърхност. В историята на своята еволюция, човешкият организъм е изградил своя защита срещу прекомерното действие на УВ лъчите, постигайки хармония в общуването с тези жизнено важни, но и опасни лъчи. Днес обаче, този въпрос придобива значение. Човешката дейност деформира заплашително околната среда, нанасяйки трайни изменения в нея. Озоновият слой, е онази невидима преграда, която задържа в себе си значително количество от слънчевите УВ лъчи. Неговото изтъняване автоматично води до увеличаване на количеството слънчева УВ радиация достигаща до земната повърхност. И докато за топлината, светлината и други фактори на заобикалящата го среда, човекът има сетива, помагащи му сам да намери съответния топлинен, светлинен и т.н. “комфорт”, това не се отнася за УВ лъчите, за които човешки сетива няма. Учените са дефинирали прост параметър, който да се използва като индикатор за възможностите и границите на полезно използване на УВ радиацията. Той е наречен Слънчев Ултравioletов Индекс (УВ индекс). Тъй като УВ лъчи предизвикват промени в окото, понякога незабележими с просто око е важно да са обективизират тези промени, които могат на по-късен етап да доведат до сериозни заболявания. Такава възможност предоставя *in vivo* конфокална микроскопия.

Структура на научния труд

Дисертационният труд съдържа 153 страници и е онагледен с 21 таблици и 38 фигури. След съдържание – 3 стр. и въведение – 2 стр., в него са включени следните основни раздели: Резюме – 2 стр., Abstract – 2 стр., Списък на фигури и таблици – 4 стр., Съкращения – 2 стр., Литературен обзор – 44 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 14 стр., Резултати – 32 стр., Дискусия – 15 стр., Заключение – 1 стр., Обобщение – 1 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Публикации, свързани с дисертационния труд – 1 стр. Библиография – 24 стр. Библиографията включва 400 източника, от които 2 източника на кирилица и 398 на латиница.

Литературен обзор

В литературният обзор е разгледана същността на УВ лъчите – видове, източници на естествена и изкуствена ултравиолетова светлина, фактори повлияващи нивото на УВ радиацията. Разгледано е и въздействието на ултравиолетовата радиация върху човека. Неракови ефекти върху здравето-ефект върху нормална кожа- слънчево изгаряне, епидермална хиперплазия, тен, производство на витамин D3, фотостареене и неопластичен ефект- немеланомен рак на кожата, меланом, лечебни и бактерицидни ефекти на ултравиолетовата светлина. Разгледани са обстойно солариумите –едни от най- разпространените изкуствени източници на УВ лъчи- техните спектри и интензитет на излъчване, сравнени със слънчевата светлина.

В литературния обзор за въздействието на ултравиолетовата светлина от изкуствен произход върху организма показва, че тези устройства могат да предизвикат неоплазми, което е свързано с по- големите количества на УВЛ -10-15 пъти. Представени са рисковите групи индивиди:

- са склонни към образуване лунички
- притежават кожа, която лесно изгаря
- съобщават история на слънчево изгаряне от детството
- притежават голям брой невуси
- приемат лекарства, които могат да повишат фоточувствителността
- употребяват ексцесивно количество козметика
- притежават отслабена имунна система
- притежават фамилна анамнеза за рак на кожата
- някога са били лекувани от актинична кератоза или рак на кожата
- страдат от премалигнени или малигнени кожни лезии
- са били изложени на слънце или слънчеви лъчи през последните 48 часа.

Описани са въздействието на УВЛ върху зрителния анализатор

Остър ефект – фотокератит и хронични ефекти, които включват базалноклетъчен и плоскоклетъчен карцином на клепача, птериgium, пингвекула, плоскоклетъчна неоплазия на очната повърхност, катаракта, сфероидална кератопатия, макулна дегенерация, свързана с възрастта, и увеален меланом. Разгледана е епидемиологията, рискови фактори, биохимични основи

Ефектите на УВЛ върху роговичния епител са описани в четири категории:

- инхибиране на митозата
- ядрена фрагментация
- образуване на вакуоли
- разхлабване на епителния слой

Цел: Да се анализират в динамика микроструктурните промени на очната повърхност, предизвикани от УВ лъчи с естествен и изкуствен произход чрез *in vivo* конфокална микроскопия. Да се оценят навиците за защита и тяхната корелация с установените изменения на микроструктурно ниво.

За постигането на посочената цел са поставени следните задачи:

1. Да се направи оценка на здравните и слънцезащитни навици на целевите и контролните групи чрез въпросници.
2. Да се извърши *in vivo* конфокална микроскопия на клинично здрави субекти (доброволци, които по време на летния сезон пребивават изключително във Варненския регион) преди началото на летния сезон, след края му и една година по-късно.
3. Да се извърши *in vivo* конфокална микроскопия на клинично здрави субекти (доброволци, които се излагат на УВ светлина от изкуствен източник преди и след стандартизирани соларни сесии) като получените резултати се съпоставят с такива на контролна група.
4. Да се анализират получените резултати като се извърши качествен и количествен микроструктурен анализ.
5. Получените микроструктурни резултати да се анализират в контекста на известната очна патология и да се направи предвиждане на кумулативния ефект в перспектива.

Материали и методи

Клиничните изследвания, чрез *in vivo* конфокална микроскопия, са проведени на 200 субекта, който са изложени на въздействието на УВ лъчи в района на Черноморското крайбрежие. Едната част са изложени на естествен източник на УВ лъчение, а другата на изкуствен източник ,в

продължение на 10 сесии с продължителност 10 мин. Всички участници попълват въпросник за използваната от тях УВ защита.

Създаден е въпросник“ УВ навици за слънцезащита“ включващ 20 въпроса
Въпросник „Здравни навици“ -17 въпроса

Методологията включва:

In vivo конфокална микроскопия

Клиничен преглед и клинична фотография с помощта на биомикроскоп
Събраните данни са кодирани и изведени в таблица, използвайки статистически пакет за социални науки (IBM SPSS за Windows v.23).

Участниците в контролната група са подложени на *in vivo* конфокално микроскопско изследване на изходно ниво и отново 8 седмици по-късно.

В хода на проучването са изследвани общо 350 човека. Изследването е извършено в две части:

В първата част за период от минимум 4 месеца 200 субекти (400 очи), на възраст $28 \pm 7,3$ години, са включени в проучването с уточнение, че ще прекарват лятото си изключително в района на Черноморското крайбрежие на 43° северна ширина и ще бъдат изследвани преди началото и след края на лятото. Всички участници попълват въпросник относно обичайната им УВ защита и бяха изследвани клинично и чрез *in vivo* конфокална микроскопия.

Във втората част на проучването участниците са включени или в изследователска група ($n = 75$) с анамнеза за излагане на въздействието на УВ светлина от изкуствен източник с цел придобиване на тен, в контролна група ($n = 75$) без анамнеза за посещение на соларно студио. Изследователската група доброволно посещава соларни процедури, извършвани със стандартно оборудване, и поддържа обичайната си рутинна защита на очите. Биомикроскопия и *in vivo* конфокална микроскопия са извършени на изходно ниво, преди да се предприемат серии соларни сесии (10 сесии с продължителност от 10 минути за период от 15 дни), в рамките на три дни след последната сесия и четири седмици след последната сесия. Участниците в контролната група са изследвани на изходно ниво и 8 седмици по-късно и не участват в сесии за придобиване на тен.

Резултати

Лазер-сканираща *in vivo* конфокална микроскопия се извършва с HRT II Rostock роговичен модул, използвайки леща с увеличение 63x (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Германия). Процедурата отнема до 60 минути на участник. Изследвани са 5 области в роговицата и 4 в конюнктивата и една в горен клепач

Клиничният преглед включи максимално коригираната зрителна острота (BCVA) (по десетична скала) и стандартизирана фотография с биомикроскоп (SL9900 и софтуер Phoenix, CSO - Италия) в напълно тъмна стая

За период от 4 месеца са изследвани 225 субекти

Всички субекти в изследваната група са подложени на *in vivo* конфокално микроскопско изследване 3 пъти, а именно:

1. Преди планираните соларни сесии, но минимум 8 седмици след последното им обичайно излагане на слънце/ изкуствен източник на УВ лъчи;
2. В рамките на 3 дни след завършване на цикъла соларни процедури (общо 10 сесии)
3. Четири седмици след последната соларна процедура.

Участниците в контролната група са подложени на *in vivo* конфокално микроскопско изследване на изходно ниво и отново 8 седмици по-късно.

Резултатите от въпросника показват, че 83,5% (167 участници) от субектите смятат, че слънцето е опасно за очите им, но 78% (156 субекта) вярват, че съществува опасност изключително през летния период. Въпреки, че не са открити клинични промени, микроструктурният анализ на роговицата демонстрира статистически значимо ($p = 0,021$) редуциране на гъстотата на базалните епителни клетки - от 6167 ± 151 клетки / mm^2 преди до 5829 ± 168 клетки / mm^2 след летния период. Микроструктурната оценка на конюнктивата демонстрира характерни кистични лезии с тъмни центрове и ярки граници само в 25 очи (6%) преди и при 118 очи (29,5%) след края на лятото. Общата площ на кистите след края на лятото демонстрира петкратно увеличение. Анализът на Spearman доказва отрицателна връзка между слънцезащитните навици и броя на кистите.

Във втората част на изследването всички участници са жени със средна възраст съответно $25 \pm 4,3$ години и $24 \pm 3,7$ години в изследваната и контролна групи. Не са отчетени клинично значими промени в нито една група при биомикроскопия (всички $p \geq 0,05$), но са наблюдавани статистически значими разлики между изследваната и контролната група за всички слоеве на роговицата, изобразени с помощта на конфокална микроскопия (всички $p \leq 0,03$). Отново характерни кистични конюнктивални лезии с тъмни центрове и ярки граници са наблюдавани при 95% от изследваната група преди и в 100% от очите след сеансите за придобиване на тен.

Обсъждане

На база на получените находки от конфокална микроскопия на конюнктива и роговица, д-р Радева стига до заключение ,че кумулативният ефект на тези промени допринася за "слънчевото стареене на очната повърхност".С оглед предпазване от вредното въздействие на УВ лъчите, се анализират различните варианти за очна УВ протекция слънчеви очила, контактни лещи, шапки и УВ протектори под формата на очни колири.

В своите разсъждения д-р Радева прави следният извод ,че съобразяването на формата на слънчевите очила спрямо индивидуалната анатомия, условията на околната среда и характера на дейностите на открито трябва да бъде следващото предизвикателство за подобряване на УВ защитата на очите

По отношение на УВ блокиращите контактни лещи тя уснавява,че могат да осигурят допълнително, но важно средство за предпазване на очите от хронично излагане на високи нива на УВ светлина.

Данните за ефективността на приложението на капки за очи с цел УВ защита на очната повърхност са спорни. Множество проучвания изследват УВ блокиращата способност на различни съединения.

Ефективността на слънцезащитните шапки се различава силно от условията на околната среда и е ограничена главно от приноса на дифузно УВ лъчение, независимо от стила на шапката.

Кампаниите за повишаване на информираността на обществото относно здравни проблеми са най-ефективни, когато са насочени към групи, които са най-засегнати от въпросната зловредност.

Употребата на солариуми е особено опасна за определени категории хора, които са изложени на по-висок риск от развитие на кожни неоплазми или други неблагоприятни ефекти, причинени от УВЛ. повишаване нивото на обществена информираност, ограничаване на достъпа до солариуми и контрол, дори и директна забрана на използването на такива устройства за козметични цели.

УВ увреждането, е почти универсално за всички хора, независимо от възрастта, пола и други демографски и социални фактори и затова повишаването на обществената информираност относно рисковете, произтичащи от употребата на апаратура за придобиване на изкуствен тен, ограничаване и дори забрана на достъпа до такива устройства е от съществено значение. Въвеждането на стандарти за слънцезащита, включващи УВ защитните очила като задължително условие и обучаването на персонал и мениджъри на соларни студия относно съблюдаването на употребата на средствата за протекция могат да редуцират значително очното увреждане.

Изводи

1. Субектите с афинитет към слънцеизлагане и придобиване на тен от изкуствени източници имат доказано вредни навици.
2. Излагането на естествени слънчеви лъчи за един сезон води до клинично неоткриваеми, микроструктурни промени, засягащи роговицата, булбарната и палпебрална конюнктива с преходен, но вероятно кумулативен характер.
3. Придобиването на изкуствен тен води до клинично неоткриваеми, микроструктурни промени, засягащи роговицата и булбарната конюнктива.
4. Дългосрочният (кумулятивен) ефект на промените, причинени от въздействие на УВ лъчи би довел до „УВ стареене на предната очна повърхност“, което изглежда подобно на увреждането на кожата.

5. Наблюдава се отрицателна статистическа връзка между здравните навици и такива за очна слънцезащита, и микроструктурните промени, което доказва, че добрите навици се асоциират с по-малко промени на клетъчно ниво.

Приноси

Приноси с научно-приложен характер

Дефинираха се качествени и количествени промени в предната очна повърхност, причинено от въздействието на ултравиолетови лъчи с естествен и изкуствен произход.

Потвърди се хипотезата относно ултравиолетовата светлина като потенциален етиологичен фактор за „стареене“ и възникване на различни патологии на очната повърхност.

Доказа се нуждата от оптималната защита на очната повърхност от въздействието на ултравиолетовите лъчи.

Приноси с научно-теоретичен характер

За пръв път в световната литература се публикува микроструктурен анализ на промените на очната повърхност под въздействие на ултравиолетови лъчи с естествен произход.

За пръв път в световната литература се публикува микроструктурен анализ на промените на очната повърхност под въздействие на ултравиолетови лъчи с изкуствен произход.

Доказа се връзка между здравните навици и такива за очна слънцезащита, и микроструктурните промени на очната повърхност, предизвикани от действие на УВ лъчи.

Приноси с потвърдителен характер

Потвърди се връзката между вредните навици и танорексията за българската популация.

Потвърди се увреждащият ефект на УВ лъчите върху предната очна повърхност.

Утвърди се конфокалната микроскопия като метод за детекция на промените на клетъчно ниво при липса на биомикроскопска находка.

В дисертацията много подробно и онагледено са представени промените на микроструктурно ниво в булбална ,палпебрална конюнктива и роговица повлияни от въздействието на УВ лъчите. Проследени във времето тези промени , макар и да демонстрират обратна еволюция, не достигат да пълно възстановяване, което насложено във времето може да доведе до проблеми на предната очна повърхност. Резултатите от проведените анкети показват, че е необходимо по- добра осведоменост на хората за ефекта на УВ лъчите върху очите, средствата за защита и ползата от тях. Лошата информираност и неползването на предпазни средства, увеличава риска от патология свързана с УВ радиацията. Дисертацията може да помогне в профилактиката на заболявания развиващи на фона на УВ лъчение. Смятам ,че дисертацията има голяма практическо приложение.

Дисертацията е завършена научна разработка и отговаря на научните критерии обозначени в Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в МУ-Варна

Обемът на дисертацията, актуалността на проблема, както и задълбочения анализ ми дава основание да предложа на Научното жури да гласува положително за присъждане на д-р Младена Радева на научната степен „ДОКТОР“.

Доц д-р Б.Ненчева дм

