

pt.: „**Rola naturalnych czynników przeciwdrobnoustrojowych w ślinie pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia**”

Etiopatogeneza zapalenia przyzębia jest bardzo złożona. Choroba rozwija się w wyniku zachwiania równowagi pomiędzy oddziaływującymi na tkanki przyzębia drobnoustrojami płytki nazębnej a mechanizmami obronnymi gospodarza, które mogą być modyfikowane przez czynniki ryzyka m.in. cukrzycę, czynniki miejscowe oraz czynniki środowiskowe tj. palenie tytoniu. Choroba doprowadza do utraty przyczepu łącznotkankowego oraz kości wyrostka zębodołowego, co w konsekwencji może doprowadzić do utraty zębów. Wciąż trwają poszukiwania metod umożliwiających wczesną identyfikację osób, którzy będą bardziej narażeni w przyszłości na wystąpienie zapalenia przyzębia. Wielu badaczy jako potencjalne biomarkery zapalenia przyzębia wskazuje naturalne czynniki przeciwdrobnoustrojowe (AMP), które należą do najstarszych mechanizmów obronnych wszystkich organizmów i jako cząsteczki efektorowe wrodzonego układu odpornościowego stanowią pierwszą linię obrony przed mikroorganizmami. AMP posiadają szerokie spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej, działają na bakterie Gram-dodatnie, Gram-ujemne, wirusy, a także grzyby oraz pasożyty wewnątrzkomórkowe. Jednym z płynów ustrojowych w którym występują peptydy przeciwdrobnoustrojowe jest ludzka ślina. Badanie poziomu wybranych czynników przeciwdrobnoustrojowych w ślinie może stanowić cenne narzędzie prognostyczne, ułatwiające planowanie leczenia chorób przyzębia.

Biorąc pod uwagę fakt braku opracowanych przesiewowych testów diagnostycznych ze śliny wykorzystujących czynniki przeciwdrobnoustrojowe, pozwalające na wczesne wykrycie choroby, jeszcze przed jej manifestacją w jamie ustnej. zdaniem recenzenta wybór tematu pracy doktorskiej przez Doktoranta jest w pełni uzasadniony nie tylko z naukowego ale również z klinicznego punktu widzenia.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska w formie monografii liczy 170 stron posiada typowy dla tego rodzaju dysertacji układ, zawiera wstęp, cel pracy, materiał i metodykę, wyniki badań, dyskusję, wnioski w liczbie 4, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz piśmiennictwo liczące 152 pozycje, a także 7 rycin i 110 tabel oraz aneks z 5 załącznikami dotyczącymi kart badań, informacji dla pacjenta i formularz świadomej zgody.

We wstępie Doktorant w bardzo dokładny sposób scharakteryzował zagadnienia, które były podstawą merytoryczną rozprawy. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa, Doktorant zaprezentował patogenezę, epidemiologię i diagnostykę zapaleń przyzębia. Omówił spektrum aktywności przeciwbakteryjnej i mechanizmy działania naturalnych czynników przeciwdrobnoustrojowych. Zaprezentował również funkcje i role śliny w odporności wrodzonej oraz ekspresję naturalnych czynników przeciwdrobnoustrojowych występujących w ślinie pacjentów periodontologicznych.

Dobrze sformułowane przez Doktoranta cele podzielono na dwie grupy: głównym celem badania było określenie stężenia ludzkiej katelicyny (LL-37) i ludzkiej β -defensyny 2 (hBD-2) u osób z zaawansowanym zapaleniem przyzębia w porównaniu do osób bez zapalenia przyzębia, powiązanie ich stężeń z przebiegiem leczenia zapalenia przyzębia oraz w zależności od zastosowanego protokołu terapeutycznego (FMD, QSRP). Dodatkowym celem pracy było porównanie skuteczności wybranych protokołów leczenia zapalenia przyzębia (FMD, QSRP), na podstawie oceny wybranych wskaźników klinicznych oraz laboratoryjnych stanu przyzębia (interleukiny 1α).

Badaniem objęto 24 pacjentów z zapaleniem przyzębia stanowiących grupę badaną oraz 10, pacjentów bez zapalenia przyzębia, stanowiących grupę kontrolną.

Metodyka pracy w odniesieniu do diagnostyki i zaplanowanego leczenia periodontologicznej jak również pobierania śliny od pacjentów do badań laboratoryjnych wykonana zgodnie ze współczesnymi standardami, została dokładnie opisana przez Doktoranta w rozdziale pt. Materiał i metody. Na uwagę w rozdziale tym zasługuje podrozdział dotyczący metody badania stężenia naturalnych czynników przeciwbakteryjnych oraz interleukiny 1α w ślinie, który uwzględnia również dokumentację fotograficzną procedury badawczej.

Oceniając metody statystyczne należy stwierdzić, że dobór metod był właściwy, podczas weryfikacji hipotez wykorzystano zarówno testy opisowe jak i testy nieparametryczne oceniając wcześniej normalność rozkładu zmiennych.

Uzyskane przez Doktoranta wyniki badań pozwoliły dokonać analizy badanych parametrów śliny wykorzystując dwa schematy postępowania terapeutycznego. Doktorant stwierdził, że średnie wartości stężenia katelicyny LL-37 i ludzkiej β -defensyny 2 (hBD-2) w grupie badanej przed leczeniem w porównaniu z grupą kontrolną nie były istotne statystycznie, natomiast średnie wartości stężenia IL- 1α w grupie badanej przed leczeniem w porównaniu z grupą kontrolną były istotne statystycznie.

Stwierdził również, że na kolejnych wizytach po leczeniu następowało systematyczne zmniejszanie się średniej wartości stężenia katelicyny LL-37. Stwierdził również dodatnią korelację pomiędzy liczbą zębów z PD>5 oraz całkowitą liczbą zębów przed leczeniem choroby przyzębia a stężeniem katelicyny LL-37 oraz istotną statystycznie zależność pomiędzy stężeniem katelicyny LL-37 (LL-37) głębokością kieszonek badanych na wizycie kontrolnej 3 miesiące od zakończenia leczenia niechirurgicznego oraz liczbą zębów z PD>5 badanymi na wizycie kontrolnej miesiąc i 3 miesiące od zakończenia leczenia niechirurgicznego.

Po przeprowadzonym leczeniu (tydzień, miesiąc i trzy miesiące po aktywnej fazie leczenia) nie stwierdzono także istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupami FMD i QSRP w zakresie wartości BoP, PD, liczby zębów z PD>5, CAL, ruchomości zębów oraz zmian w ogólnej liczbie zębów w toku leczenia. Doktorant nie stwierdził istotności porównując stężenia katelicyny LL-37 (LL-37) i ludzkiej β - defensyny 2 (hBD-2) w obu grupach przed leczeniem w stosunku do ich stężenia trzy miesiące po leczeniu. Nie stwierdził również istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupami badanymi, gdzie zastosowano poszczególne protokoły terapeutyczne FMD i QSRP w odniesieniu do średnich wartości stężeń IL-1 α (tydzień, miesiąc i trzy miesiące po leczeniu),

W syntetycznej dyskusji Doktorant przedstawił dokonania naukowe innych autorów zajmujących się podobnymi zagadnieniami odnosząc je do wyników badań własnych. Cały rozdział ten podzielono na 4 podrozdziały odnoszące się do poszczególnych badanych parametrów oraz podrozdział podsumowujący, które świadczą o logicznym uporządkowaniu otrzymanych wyników i zdolności wyciągania właściwych wniosków.

Wyniki zaprezentowane przez Doktoranta umożliwiły sformułowanie szczegółowych wniosków, które odpowiadają na cele zawarte w pracy. Doktorant prezentując wnioski stwierdził, że stężenia katelicyny LL-37 były zdecydowanie wyższe u osób z zapaleniem przyzębia niż w grupie kontrolnej. Jednak opublikowane w pracach naukowych i rozprawie znaczne różnice w stężeniach ślinowej LL-37 i hBD-2 u osób periodontologicznie zdrowych i z chorobą przyzębia, wskazują na złożony model udziału tych czynników w progresji i leczeniu choroby.

Doktorant ponadto wskazał na trudność w jednoznacznym powiązaniu określonych stężeń ślinowych katelicyny LL-37 (LL-37) i ludzkiej β - defensyny 2 (hBD-2) ze stanem przyzębia i przebiegiem leczenia zapalenia przyzębia, chociaż widoczne w badaniach tendencje do korelacji wyższych stężeń tych czynników z niektórymi parametrami stanu zapalnego przyzębia, jak i ich zmiana podczas interwencji leczniczej, mogą stanowić

przesłankę do rozważenia ich, zwłaszcza katelicydyny LL-37, jako potencjalnych markerów leczenia.

Jednocześnie Doktorant stwierdził, że żaden z zastosowanych protokołów leczniczych (FMD i QSRP) nie miał wpływu na ujawnienie się różnic w zmianach stężeń LL-37 i hBD-2 czy markera kontrolnego IL-1 alfa. Ostatni wniosek, który uważam za ważny szczególnie z klinicznego punktu widzenia dotyczący porównania skuteczności dwóch protokołów leczenia niechirurgicznego zapaleń przyzębia (FMD i QSRP) na podstawie wybranych parametrów klinicznych (API, BoP, PD, CAL, ruchomość zębów), gdzie Doktorant nie potwierdził, wyższości protokołu FMD nad metodą kwadrantową (QSRP). Obie metody były równoważne w klinicznych efektach leczenia.

Moja uwaga jako recenzenta dotyczy określenia przewlekłe zapalenie przyzębia, które obecnie wg klasyfikacji z 2017 roku określamy jako zapalenie przyzębia, która w żadnym stopniu nie umniejsza wartości poznawczych jak również praktycznych recenzowanej rozprawy doktorskiej.

W opinii recenzenta cała rozprawa tworzy logiczną całość, świadczy o świadczym o dobrym przygotowaniu Doktoranta do pracy badawczej.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że rozprawa doktorska lek. dent. Marcina Adamieckiego wpisuje się w nurt wciąż aktualnych badań dotyczących biomarkerów zapalenia przyzębia, potwierdzając jednocześnie możliwości zastosowania różnych protokołów leczniczych z podobnym efektem terapeutycznym.

Przedstawioną do oceny rozprawę doktorską lek. dent. Marcina Adamieckiego oceniam pozytywnie. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.). W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. dent. Marcina Adamieckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Gdańsk, dn. 04.07. 2020

dr hab. Aida Kusiak, prof. GUMed

Katedry i Zakładu Periodontologii
i Chorób Płomy Słuzowej Jamy Ustnej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Aida Kusiak
dr hab. n. med. Aida Kusiak, prof. nadzw. GUMed