

Ocena pracy doktorskiej *lek. dent. Mirelli Stańdo-Reteckiej* pt.:
„Ocena wpływu wielonasyconych kwasów tłuszczowych omega-3
EPA i DHA na skuteczność niechirurgicznego leczenia
***zapalenia przyzębia*”**

W 2019 roku ciężkie zapalenie przyzębia występowało u ponad biliona osób na świecie, dotyczyło 19% osób powyżej 15 roku życia na świecie i było drugą co do częstości występowania, po próchnicy zębów stałych, chorobą jamy ustnej u Ziemi. Wobec postulowanych związków zapalenia przyzębia z chorobami ogólnymi o znaczącej zapadalności i śmiertelności, każde działanie zmierzające do poprawy skuteczności leczenia zapalenia przyzębia ma głęboki sens kliniczny i użyteczny dla ochrony zdrowia. Taki też sens ma podjęcie przez Doktorantkę tematu oceny klinicznej, odpowiedzi immunologicznej w ślinie, występowania wybranych periopatogenów w kieszonkach przyzębnych oraz zmian surowiczego profilu lipidowego po zastosowaniu nowego protokołu leczenia zapalenia przyzębia polegającego na połączeniu instrumentacji poddziąsłowej z suplementacją wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi (PUFA) omega-3. Jest to tym cenniejsze, że podstawą biologiczną dla takich działań jest najbardziej aktualna hipoteza etiologiczna Infalammation-Mediated Polymicrobial-Emergence and Dysbiotic-Exacerbation (IMPEDE) zapalenia przyzębia. W leczeniu takim będzie wykorzystywane połączenie złotego standardu periodontologicznego w postaci instrumentacji poddziąsłowej z wygaszającym przewlekły proces zapalny oddziaływaniem PUFA omega-3. Temat ten mieści się w głównym nurcie dyskursu periodontologicznego nad modulacją odpowiedzi gospodarza (HMT) w poszukiwaniu bardziej etiologicznego, a tym samym bardziej efektywnego leczenia periodontologicznego prowadzonego przez lekarzy dentystów ogólnie praktykujących. Pierwsza próba zastosowania HMT poprzez ogólne podawanie PUFA omega-3 była w 2009 roku i od tej pory przeprowadzono tylko kilka RCT nad skutecznością tego algorytmu leczenia zapalenia przyzębia. Badania Doktorantki są pierwszą taką próbą w naszym kraju. I między innymi dlatego podjęcie tego tematu przez Doktorantkę w przykładowy sposób wyczerpuje ustawowy wymóg oryginalnego rozwiązania problemu naukowego, w tym przypadku o bezsprzecznym znaczeniu klinicznym.

Praca liczy 82 strony i zawiera wszystkie formalnie niezbędne części pracy doktorskiej. Proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami całego opracowania są prawidłowe.

Wstęp pracy doktorskiej to syntetyczne, wprawne i niekontrowersyjne wprowadzenie w istotę podejmowanego zagadnienia obejmujące zarys etiopatologiczny zapalenia przyzębia i istotę HMT

oraz diety w leczeniu zapalenia przyzębia oraz charakterystykę przeciwzapalnego działania EPA i DHA a także ich dotychczasowe wykorzystanie w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia. Rozwijanie wstępu wprost modelowo ilustruję regułę ekranowania tematu „od ogółu do szczegółu”. We wstępie Doktorantka wykorzystala aż 73 aktualne pozycje wartościowego piśmiennictwa powiązanego z tematyką opracowania. Słusznie zwróciła uwagę na częste stosowanie niskich dawek EPA i DHA w dotychczasowo prowadzonych próbach łączenia PUFA omega 3 z instrumentacją poddżąsłową w leczeniu zapalenia przyzębia.

Doktorantka wyznaczyła cztery cele dla prowadzonego badania polegające na ocenie przyjętego protokołu HMT przez pryzmat poprawy parametrów klinicznych stanu przyzębia, zmian liczebność wybranych periopatogenów w kieszonkach przyzębnych, zmian ślinowych stężeń cytokin, chemokin i czynników wzrostu oraz zmian frakcji lipidowej w surowicy krwi. Podjęte wyzwania oceniam bardzo wysoko, jest to moim zdaniem dojrzała próba komplementarnej oceny protokołu leczenia poprzez zmienne kliniczne, przesunięcia w spektrum ilościowym biofilmu poddżąsłowego, zmian wielu składników proteomu śliny związanych z regulacją odpowiedzi immunologiczno-zapalnej oraz przesunięć w surowicznych stężeniach PUFA pomiędzy omega-3 a omega-6. Pragmatycznie zdecydowano się również na zwiększenie dziennej dawki do 2600 mg EPA i 1800 mg DHA, co korespondowało z dawkowaniem stosowanym w leczeniu innych chorób przewlekłe zapalnych.

Do przyjętej metodologii badania nie mam zasadniczo uwag. Rozumiem skąd wynikał sześciomiesięczny okres leczenia, dlaczego kwalifikowano ogólnie zdrowych pacjentów w III lub IV stadium zapalenia przyzębia i na czym polegał konstrukt grupy badanej i kontrolnej. Zdecydowano się na randomizowane badanie kliniczne, pojedynczo zaślepione, w równoległym schemacie ciekawie zaproponowanej randomizacji (poprzez stronę internetową). Wybór metodologii badania klinicznego a także pewne uproszczenie „epidemiologiczne” w ocenie zmian klinicznego położenia przyczepu uważam za właściwe. Jestem pod wrażeniem zastosowania zestawu multiELISA pozwalającego ocenić w ślinie spoczynkowej jednocześnie stężenia 17 cytokin, 32 chemokin i 5 czynników wzrostu a także wykorzystania chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas w celu identyfikacji PUFA jako odsetka lipidów w surowicy krwi. Przyjętą metodologię opracowania statystycznego wyników badań uważam za poprawną. Wyjaśnienia wymagają dwa punkty czasowe prowadzenia określonych obserwacji:

- dlaczego badanie śliny prowadzono w połowie suplementacji PUFA omega-3, tym bardziej, że prowadzono w tym czasie dodatkowe zabiegi SRP i RSD mogące przecież wpływać na ślinowe stężenia cytokin, chemokin i czynników wzrostu?

- dlaczego badania końcowe wyznaczono na koniec stosowania EPA i DHA i nie uwzględniono chociażby oceny krótkoterminowej (6 tygodni lub 3 miesiące), a najlepiej średnioterminowej (6 miesięcy) po zakończonym leczeniu?

Wyniki badań opisano jednoznacznie i przedstawiono je przejrzysto w 6 tabelach na jednej rycinie. Zabrakło jedynie podania wartości p w tabeli 6 i 7 oraz na rycinie 3. Ciekawa mogłaby być również analiza współzmienności np. pomiędzy wykładnikami klinicznymi a oznaczanymi stężeniami białek w ślinie, czy pomiędzy liczebnością periopatogenów a zmianami udziału omega-3 w składzie lipidowym surowicy. Za najważniejsze obserwacje uważam: wykazanie istotnego wpływu suplementacji EPA i DHA na poprawę stanu klinicznego (w szczególności położenia klinicznego przyczepu oraz odsetka kieszonek zamkniętych i z brakiem stanu zapalnego) w miejscach z najbardziej zaawansowanym periodontitis (tabela 5), istotny spadek ślinowych mediatorów zapalnych (IL-8, IL-17, TNF- α , G-CSF) i wzrost mediatorów przeciwzapalnych i związanych z polaryzacją Th1 (IL-10, IL-12) a także wielu chemokin (tabela 6), istotny spadek liczebności bakterii kompleksu czerwonego (rycina 3) oraz istotnie wyższe proporcje występowania EPA i DHA i niższe PUFA omega-6 (kwas palmitynowy, oleinowy, linolowy, γ -linolenowy, arachidonowy) w składzie surowiczych lipidów (tabela 7).

Dyskusja jest dojrzała. Doktorantka udowadnia to szczególnie przy interpretowaniu zmian stężeń cytokin, chemokin i czynników wzrostu w ślinie w następstwie prowadzonego leczenia w grupie badanej. Cenny jest Jej krytycyzm wobec obserwacji własnych wyrażający się kończącym dyskusję *passusem* dotyczącym ograniczeń przeprowadzonego badania a także wobec protokołu innych autorów łączących w grupie interwencyjnej SRP i PUFA omega-3 z wielomiesięcznym podawaniem kwasu acetylosalicylowego. Do ograniczeń tego badania dodałbym brak obserwacji średnioterminowej (6 miesięcy po zakończeniu leczenia) skuteczności przynajmniej klinicznej tej postaci HMT. Brak pozytywnej rekomendacji Europejskiego Towarzystwa Periodontologicznego dla tego protokołu niechirurgicznego leczenia zapalenia przyzębia opierał się na trzech badaniach RCT z oceną właśnie 6-miesiący po zakończonym leczeniu (uwzględniono poz. 68 i 72 z piśmiennictwa oraz badanie Elgandy i Kazem *Oral Health Prev Dent.* 2018, 4, 327-332). Bardzo dobrze odbieram dołączoną do dyskusji tabelę 8 prezentującą badania kliniczne nad zastosowaniem PUFA omega-3 jako uzupełnienia SRP w leczeniu zapalenia przyzębia. Szkoda, że nie uwzględniono w niej przynajmniej jeszcze kilku obserwacji innych autorów najbardziej zbliżonych do badań własnych Doktorantki np. Umrana et al. *J Indian Soc Periodontol.* 2017, 21, 386-390, Kujur et al. *Indian J Dent Res.* 2020, 31, 229-235.

Doktorantka sformułowała 4 poprawne wnioski odnoszące się do założonych celów i wyników badania. Wniosek ostatni dotyczy bezpieczeństwa 6-miesięcznej suplementacji PUFA omega-3.

Piśmiennictwo składa się ze 122 pozycji (nie zacytowano poz. 73-75) i pochodzi z lat 1976-2022, z czego aż 90% z XXI wieku (aż 33 pozycje są z lat 2018-2022). Jest ono zatem bardzo aktualne. Składają się na nie wyłącznie anglojęzyczne pozycje oryginalne lub pogładowe. Niestety zostało ono przygotowane mało starannie (brak pełnych danych bibliometrycznych, brak konsekwencji w stosowaniu skrótów czasopism i pisania tytułów prac).

Praca napisana jest poprawnie. Na pozytywne podkreślenie zasługuje syntetyczny styl, poprawność nomenklaturowa i brak określeń beletrystycznych.

Oba streszczenia są obszerne i prawidłowe.

Pracę doktorską oceniam bardzo wysoko. Na podstawie tych badań w 2020 roku opublikowano pracę oryginalną w prestiżowym *Nutrition* (12, 2614), która była już uwzględniana w dwóch metaanalizach dotyczących tego tematu (Van Ravensteijn et al. *J Clin Periodontol.* 2022, 49, 1024-1037 oraz Chatterjee et al. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2022, 12, 55-62). Do największych walorów tego opracowania zaliczam: aktualność doboru tematu względem ogólnoswiatowego poszukiwania optymalnego klinicznie, niedrogiego i pozbawionego działań niepożądanych protokołu HMT; komplementarność metodologiczną oceny klinicznej dziąsła, mikrobiologicznej kieszonki przyzębnej, immunologiczno-zapalnej śliny niestymulowanej i profilu lipidowego w surowicy krwi, wykorzystanie technik multiELISA i chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas i uzyskanie 50% zamknięcia kieszonek w III lub IV stadium zapalenia przyzębia, co powinno być podstawą kontynuacji badań nad tym algorytmem leczenia. Podniesione uwagi zawarte w tej recenzji mają na celu tylko ożywienie dyskusji nad tą bardzo dojrzałą pracą doktorską.

Doceniając praktyczno-poznawczy wymiar badań przeprowadzonych przez *lek. dent. Mirellę Stańdo-Retecką* w pracy pt.: „**Ocena wpływu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 EPA i DHA na skuteczność niechirurgicznego leczenia zapalenia przyzębia**” z całym przekonaniem uważam, że spełnia ona warunki pracy doktorskiej jako oryginalne rozwiązanie problemu naukowego określone w artykule 13.1 Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki z 27 września 2017 roku. Dlatego przedstawiam Radzie Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie *lek. dent. Mirellę Stańdo-Retecką* do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie mam przyjemność rekomendować Radzie uznanie tej rozprawy za wyróżniającą.

Wrocław, 26 marca 2023 roku

Prof. dr hab. Tomasz Konopka