Warszawa 09.08.2016

Prof . zw. dr hab. n. med. Krzysztof Paśnik
Klinika Chirurgii Ogólnej Onkologicznej,
Metabolicznej i Torakochirurgii CSK MON WIM
ul. Szaserów 128
04-109 Warszawa
tel. **261817270**

Recenzja

Pracy na stopień doktora nauk medycznych lek. stom. Katarzyny Fejfer pt. "Produkty oksydacji w ślinie pacjentów z otyłością olbrzymią poddanych leczeniu bariatrycznemu".

Chirurgiczne leczenie otyłości wprowadzono w latach 50-tych ubiegłego wieku. W 1998 roku WHO określiła otyłość jako chorobę i nakazała jej leczenie. Postęp w chirurgii małoinwazyjnej spowodował raptowny wzrost wykonywanych procedur chirurgicznych co wynika również ze wzrostu chorych z otyłością kwalifikujących się do tego typu operacji. Choroby wywołane przez otyłość stanowią istotne zagrożenie życia pacjentów. Jak każda metoda leczenia chirurgicznego również operacje bariatryczne obarczone są pewnym, niewysokim odsetkiem powikłań, ale również niewyjaśnionymi do końca procesami działania. Dlatego też każde badanie przynoszące nam nowe informacje o mechanizmach działania operacji bariatrycznych jest dla lekarzy zajmujących się tym problemem bardzo istotne. Dlatego też podjęcie tematu dotyczącego oceny produktów oksydacji w ślinie pacjentów z otyłością olbrzymią poddanych leczeniu bariatrycznemu uważam za trafny i nad wyraz interesujący dla lekarzy zajmujących się leczeniem otyłości ale nie tylko.

Przedstawiona do oceny praca napisana jest w układzie typowym i obejmuje 13 rozdziałów, w skład których wchodzą m.in.: wykaz skrótów, wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim oraz angielskim, spis rycin i tabel oraz wykaz piśmiennictwa i załączniki. Praca zawarta jest na 92 stronach. Całość jest dobrze zredagowana i napisana poprawnym językiem.

W pierwszej części dezyderatu Doktorantka w sposób zwięzły przybliża nam problem jakim jest obecnie otyłość i jakie niesie za sobą zagrożenia dla zdrowia. Zapoznaje nas z możliwościami oceny stopnia otyłości, przedstawia typy otyłości. Skrótowo przybliża operacje bariatryczne. *Z jednym zdaniem nie jestem w stanie się zgodzić, że coraz częściej wykonywane są coraz mniej inwazyjne zabiegi laparoskopowe lub wykorzystywane są techniki jednoportowe charakteryzujące się mniejszą ilością powikłań pooperacyjnych* raczej klasyczna laparoskopia jest podstawową techniką operacyjną.

Ciekawymi podrozdziałami są te dotyczące śliny oraz stresu oksydacyjnego pokazujące nam złożoność procesów związanych z produkcją i funkcją śliny jak i istotnymi zmianami zachodzącymi w następstwie stresu oksydacyjnego. Podsumowując tę część pracy doktorskiej uważam, że Doktorantka miała bardzo dobre przygotowanie teoretyczne do podjęcia tego ważnego problemu.

Cele pracy podjęte przez Doktorantkę przedstawiono w punktach:

1. Czy otyłość olbrzymia powoduje występowanie stresu oksydacyjnego w obrębie jamy ustnej?
2. Czy leczenie otyłości olbrzymiej za pomocą operacji bariatrycznej wpływa na poziom stresu oksydacyjnego występującego w jamie ustnej?
3. Czy leczenie otyłości olbrzymiej za pomocą operacji bariatrycznej wpływa na poziom bariery antyoksydacyjnej śliny?

4. Jak zmienia się wydzielanie śliny stymulowanej i niestymulowanej w przebiegu otyłości olbrzymiej i po leczeniu operacyjnym?
5. Czy otyłość olbrzymia wpływa na procesy oksydacji lipidów?
6. Czy otyłość olbrzymia wpływa na procesy oksydacji białek?
7. Czy otyłość olbrzymia wpływa na procesy oksydacji DNA?

Cele pracy zostały sformułowane w sposób właściwy i jasny.

Na przeprowadzenie eksperymentu uzyskano zgodę nr R-I-002/175/2012z dnia 31.05.2012 roku wydaną przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Każdy chory został poinformowany o celu badań i podpisał pisemną zgodę na uczestnictwo w projekcie, praca finansowana była z projektów prac statutowych UMB nr 153-09676L oraz 153-09-675L.

Do badań zakwalifikowano 40 osób z otyłością olbrzymią (11 mężczyzn i 29 kobiet) z I Kliniki Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej UMB, których wskaźnik masy ciała BMI wynosił >40. Były to osoby w wieku pomiędzy 35 a 55 rokiem życia. Pacjenci, u których stwierdzono m.in cukrzycę typu 2, choroby układu sercowo-naczyniowego, reumatoidalne zapalenie stawów. Osoby palące tytoń oraz przyjmujący leki, produkty medyczne i suplementy diety wpływające na wydzielanie śliny i jej status oksydacyjny zostali wykluczeni z badania.

U chorych wykonywano w technice laparoskopowej rękawkową resekcje żołądka. Zarówno przed zabiegiem, jak i 6 miesięcy po , pacjenci poddani byli rutynowemu badaniu medycznemu, w tym badaniu krwi, które obejmowało: stężenie glukozy na czczo, stężenie insuliny, całkowitą zawartość cholesterolu, triglicerydów, lipoproteiny niskiej gęstości(LDL) oraz lipoproteiny wysokiej gęstości (HDL). Wykonany był również pomiar wzrostu i masy ciała. Wyliczono wartości wskaźników BMI oraz HOMA-IR.

Grupą kontrolną dopasowaną pod względem płci i wieku stanowiło 40 chorych z Zakładu Stomatologii Zachowawczej UMB poddanych leczeniu stomatologicznemu. Były to osoby z BMI w przedziale wiekowym od 18 do 25 lat, niepalące, ogólnie zdrowe, które w ciągu miesiąca przed badaniem i pobraniem próbki śliny miały wykonane badanie krwi, w którym nie wykryto żadnych odchyleń od normy.

Badanie stomatologiczne wykonywane było w sztucznym świetle z użyciem sondy periodontologicznej, zgłębnika i lusterka. Obliczone zostały wskaźniki PUWZ (jest to suma zębów z próchnicą, usuniętych i wypełnionych z powodu próchnicy), SBI- wskaźnik krwawienia z brodawek po sondowaniu, CAL określa utratę przyczepu łącznotkankowego czyli odległość od połączenia szkliwno-cementowego do dna szczeliny dziąsłowej, i PPD który mówi o głębokości kieszonek przy zębnych i jest to odległość od brzegu dziąsła do dna kieszonki. Pacjenci z PPD >4 i/lub CAL>3 zostali wykluczeni z grupy badanej i kontrolnej. W uzyskanej ślinie oznaczono w podwójnych próbach: całkowitą zdolność antyoksydacyjną (TAS)- Randox, Crumlin, UK, całkowity status oksydacyjny (TOS) - PerOx, TOS/TOC, Immune Diagnostic, Bensheim, Germany, wskaźnik stresu oksydacyjnego (OSI) - TOS/TAS x 100, stężenie produktów peroksydacji lipidów, stężenie produktów oksydacji DNA, całkowitą zawartość białka (BCA) - metoda bicynchoninowa.

Stężenie AOPP oznaczano spektrofotometrycznie według metody Witko-Sarsat i wsp oraz Kalousova, grupy karbonylowe były oznaczane zgodnie z metodą Reznick'a i Packer'a a Całkowitą zawartość białka (BC) oznaczono używając zestawu BCA TM Protein Assay Kit (Pierce, No.23225, Rockfold, IL, USA).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu Statistica 10.0. Podawany poziom p reprezentuje prawdopodobieństwo błędu związanego z przyjęciem hipotezy o istnieniu różnic między średnimi i za

poziom istotności statystycznej przyjęto p<0,05. Do oceny zależności pomiędzy dwoma zmiennymi ilościowymi użyto współczynników korelacji parametrycznej Pearsona.

Uzyskane wyniki Doktorantka przedstawiła w 17 tabelach wykonanych starannie i czytelnie z dobrze dobranym komentarzem.

Doktorantka w swojej pracy wykazała, że średni wskaźnik masy ciała był istotnie wyższy u pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (p=0,0001). Po operacji bariatrycznej BMI istotnie statystycznie obniżało się w porównaniu do pacjentów z otyłością olbrzymią (O)(p=0,0001).

Obwód w talii był istotnie wyższy u pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (p=0,0001). Po operacji bariatrycznej obwód w talii istotnie statystycznie obniżał się w porównaniu do pacjentów z otyłością olbrzymią (p=0,0001) .Wskaźnik WHR był istotnie wyższy u pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (p=0,01).Stężenie glukozy na czczo było istotnie wyższy u pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (p=0,005). Po operacji bariatrycznej średnie stężenie glukozy na czczo obniżyło się w porównaniu do pacjentów z otyłością olbrzymią (p=0,007).

Średnie stężenie insuliny było istotnie niższe u pacjentów po operacji bariatrycznej w porównaniu do pacjentów z otyłością olbrzymią (p=0,022).

Średni wskaźnik insulinooporności był istotnie wyższy u pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (p=0,0001). Po operacji bariatrycznej średni wskaźnik insulinooporności obniżył się w porównaniu do pacjentów z otyłością olbrzymią (p=0,0001).

W przypadku gospodarki tłuszczowej Doktorantka wykazała, że średnia całkowita zawartość cholesterolu, triacyloglicerolі, lipoproteiny niskiej gęstości oraz lipoproteiny wysokiej gęstości istotnie wzrastały u

pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (odpowiednio, p=0,0032,p=0,041,p=0,002,p=0,029). Natomiast średnie całkowite stężenie bilirubiny, całkowite stężenie kreatyniny, białko C-reaktywne CRP, mocznik, kwas moczowy, fosfataza zasadowa, aminotransferaza alaninowa, aminotransferaza asparaginowa były istotnie wyższe w grupie pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej oraz, że średnie całkowite stężenie bilirubiny, całkowite stężenie kreatyniny, białko C-reaktywne , kwas moczowy, aminotransferaza alaninowa, aminotransferaza asparaginowa były istotnie wyższe w grupie pacjentów po operacji w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Doktorantka w swoich badaniach wykazała, że białko C-reaktywne i aminotransferaza alaninowa były istotnie niższe w grupie pacjentów po operacji POB w porównaniu do grupy pacjentów z otyłością olbrzymią a także, że średnia leukocytoza była istotnie wyższa u pacjentów z otyłością olbrzymią w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Ilość hemoglobiny w grupach O i POB była niższa niż w grupie kontrolnej.

Tę część wyników badań należy potraktować jako dodatkowe w stosunku do tematu pracy. Oczywiście nasuwa się pytanie o grupę kontrolną czy nie powinna ona składać się z grupy osób z otyłością w podobnym wieku, ale nie leczonych operacyjnie?

Średnia wartość TAS w ślinie niestymulowanej u pacjentów otyłych była znacznie niższa w porównaniu do kontroli i grupy badanej 6 miesięcy po chirurgii bariatryczne. Średnia wartości TAS w ślinie stymulowanej u pacjentów z otyłością olbrzymią i po operacji bariatrycznej były znacznie niższe w porównaniu z grupą kontrolną. U pacjentów po zabiegu chirurgicznym średnią wartość TAS w ślinie stymulowanej była znacznie niższa niż w ślinie niestymulowanej.

Średnia wartość TOS w ślinie niestymulowanej i stymulowanej u pacjentów z otyłością olbrzymią były istotnie wyższe w stosunku do grupy

kontrolnej (odpowiednio p=0,0002 i p=0,0002) i do grupy 6 miesięcy po operacji bariatrycznej (odpowiednio p=0,03 i p=0,02). Średnia wartość TOS w ślinie niestymulowanej i stymulowanej u pacjentów z otyłością olbrzymią po operacji bariatrycznej były wciąż znacznie podwyższone w stosunku do grupy kontrolnej (odpowiednio p=0,002 i p=0,0025).U pacjentów po zabiegu chirurgicznym średnia wartość TOS w ślinie stymulowanej była znacznie wyższa niż w ślinie niestymulowanej we wszystkich trzech grupach (odpowiednio p=0,007, p=0,003, p=0,024).

Średnia wartość OSI w ślinie niestymulowanej i stymulowanej u pacjentów z otyłością olbrzymią były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną oraz 6 miesięcy po operacji bariatryczne. Średnie wartości OSI u pacjentów z otyłością olbrzymią w ślinie niestymulowanej i stymulowanej po operacji bariatrycznej były jeszcze istotnie większe w porównaniu do grupy kontrolnej . U pacjentów po zabiegu chirurgicznym średnia wartość OSI w ślinie stymulowanej była znacznie wyższe niż w ślinie niestymulowanej we wszystkich trzech grupach .

Średnie stężenie AOPP w ślinie niestymulowanej i stymulowanej u pacjentów z otyłością olbrzymią były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną oraz obniżały się 6 miesięcy po operacji bariatrycznej .

Średnie stężenia8-OHdG w ślinie niestymulowanej i stymulowanej u pacjentów z otyłością olbrzymią były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną oraz obniżały się 6 miesięcy po operacji bariatrycznej .

U pacjentów po zabiegu chirurgicznym średnie stężenie 8-OHdG w ślinie stymulowanej było istotnie wyższe niż w ślinie niestymulowanej we wszystkich trzech grupach.

W dyskusji Doktorantka systematycznie omawia wyniki swoich badań wykazując umiejętność wyważonej, opartej na wysokiej wiedzy interpretacji własnych obserwacji w konfrontacji z wynikami badań innych autorów.

Dyskusja prowadzona jest ciekawie z właściwymi odniesieniami do aktualnego piśmiennictwa rangi światowej.

Na podstawie uzyskanych wyników Autorka wysnuła wnioski końcowe:

1.W przebiegu otyłości olbrzymiej w jamie ustnej dochodzi do występowania stresu oksydacyjnego o czym świadczą zwiększone wartości TOS i wskaźnika OSI, które mówią o przewadze procesów oksydacyjnych.

2. Po operacji bariatrycznej zmniejsza się nasilenie procesów oksydacyjnych o czym wnioskujemy na podstawie zmniejszonego wskaźnika OSI i poziomu TOS co świadczy o sukcesie terapeutycznym, jednak wartości te nie osiągają odpowiadających grupie kontrolnej.

3. Leczenie za pomocą operacji bariatrycznej zwiększa barierę antyoksydacyjną organizmu o czym świadczą zwiększone wartości TAS u pacjentów po 6 miesiącach od zabiegu.

4. Pacjenci otyli przed operacją charakteryzują się zmniejszonym wydzielaniem śliny, które wraca do normy po operacji bariatrycznej.

5. W przebiegu otyłości olbrzymiej zwiększa się peroksydacja lipidów o czym świadczą zwiększone ilości 8-isoP i 4-HNE u pacjentów przez zabiegiem w porównaniu do wyników po zabiegu i pacjentów z grupy kontrolnej.

6. Otyłość zwiększa oksydację białek co wskazuje zwiększony poziom AOPP i PC u pacjentów przez zabiegiem w porównaniu do wyników po zabiegu i pacjentów z grupy kontrolnej.

7. Otyłość powoduje wzrost oksydacji DNA co objawia się zwiększonym poziomem 8-OHdG u pacjentów przez zabiegiem w porównaniu do wyników po zabiegu i pacjentów z grupy kontrolnej.

Wnioski są uzasadnione i prawidłowo sformułowane i w pełni odpowiadają na postawione cele przedstawionej mi do recenzji pracy doktorskiej.

Pozycje piśmiennictwa są właściwie dobrane i przypisane w tekście pracy.

Według mojej oceny praca doktorska lek. stom. Katarzyny Fejfer stanowi wartościowy materiał naukowy. Ciekawie dobrany temat rozprawy koreluje z wzrastającą rangą problemu otyłości, która obecnie staje cię powszechnym problemem w skali globalnej. Bardzo szczegółowo opracowane badanie poziomu określonych czynników oksydacji będzie z pewnością wielokrotnie powielane i analizowane w przyszłości w celu poprawy jakości i długości życia osób otyłych. Podstawy teoretyczne zostały omówiony w sposób przystępny, aczkolwiek znacznie uproszczony. Sądzę, że ramy pracy nie pozwoliły na wystarczające opisanie głównych zagadnień związanych z otyłością. Według mnie problem współistniejących schorzeń – NT, insulinooporność, dyslipidemia oraz korelacja ich współwystępowania wymaga dodatkowego komentarza. Natomiast część statystyczna ma solidne podstawy i została starannie i w sposób przystępny opracowana.

Czytając pracę Pani Katarzyny nasuwa się wiele pytań towarzyszących omawianemu zagadnieniu. Jednym z nich jest wpływ innych substancji obecnych w ślinie. Dla przykładu udowodniono, że u chorych po SG znacznie spada poziom greliny. Nasuwa się więc pytanie, czy spadek tego poziomu jest również zauważalny w materiale śliny oraz czy poziom stężenia produktów oksydacji może mieć związek z tym spadkiem. Dodatkowo opisywano wpływ greliny na procesy gojenia i regeneracji błony śluzowej jamy ustnej u zwierząt doświadczalnych - korelacja i współwystępowanie w.w. procesów nadal wymagają badań.

Najciekawszym zagadnieniem, które w mojej ocenie będzie kolejnym krokiem prowadzonych badań stanowi problem modyfikacji dotychczasowego leczenia chorych po operacjach bariatrycznych, biorąc pod uwagę pozyskane informacje. Jak wiadomo istnieją witaminy antyoksydacyjne, które mają korzystny wpływ na procesy metaboliczne u wszystkich ludzi. Interesujące jest w jaki sposób podaż witamin mogłaby wpływać na redukcję poziomu produktów oksydacji w ślinie. I

kolejne pytanie - czy taka suplementacja mogłaby mieć dalsze implikacje kliniczne?

Czytając pracę doktorską pojawia się stwierdzenie, że u osób otyłych wydzielanie śliny jest zmniejszone. Nasuwa się pytanie o mechanizm tego zjawiska. Czy może mieć to związek z perfuzją przez ślinianki? A może nieadekwatna rekcja układu wegetatywnego na bodźce smakowe skutkuje wydzielaniem mniejszej ilości śliny? Być może dalsze badania unaczynienia i reakcji współczulnej w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne pomogą w udzieleniu odpowiedzi.

Ciekawym pozostaje zagadnienie karcinogenezy i jej etiologii u osób otyłych. Wiadomo, że otyłość zwiększa ryzyko zachorowania na nowotwory jelita grubego, narządu rodnego, nerek, przełyku oraz żołądka. W pracy doktorskiej jednoznacznie ustalono wpływ wolnych rodników na uszkodzenie materiału genetycznego. Czy wobec tego spadek poziomu produktów oksydacji w ślinie pacjentów będzie miał przełożenie kliniczne na częstość występowania nowotworów? A może jednak wahania poziomu produktów oksydacji mają znaczenie tylko miejscowe i dotyczą regionalnych procesów metabolicznych zachodzących wyłącznie w śluzówce jamy ustnej?

Aby badanie kliniczne posiadało wysoka jakość, ujednolicono grupę chorych do osób poddanych SG. Pytanie - czy u osób poddanych GB również spada poziom produktów oksydacji. Operacja GB wiąże się z większym ryzykiem niedoborów - w tym również niedoborów białek o właściwościach antyoksydacyjnych. Do nich należą ferrytyna, albumina, transferryna, ceruloplazmina. Może się wobec tego okazać, że podobne badanie przeprowadzone na grupie otyłych poddanych GB przyniesie odmienne wyniki.

Podsumowując praca Pani Katarzyny Fejfer stanowi cenny materiał do dalszych badań i po wyeliminowaniu licznych błędów korektorskich może być dalej wykorzystywana do celów naukowych. Być może na podstawie dalszych

badań w przyszłości uda się ustalić pewne schematy postępowania i suplementacji wielowitaminowej u chorych operowanych z powodu otyłości i tak zmodyfikować leczenie pacjentów, aby zminimalizować występowanie niedoborów i powikłań pooperacyjnych u tych chorych.

Uwagi zawarte w recenzji nie umniejszają wartości naukowej dysertacji. Wykazuje ona niewątpliwie, że Doktorantka dobrze opanowała „warsztat naukowy".

Uważam, że lek. stom. Katarzyna Fejfer uzyskała interesujące wyniki mające oprócz znaczenia poznawczego także potencjalne znaczenie praktyczne. Przedstawioną mi do oceny pracę oceniam pozytywnie. Odpowiada ona w pełni wymogom stawianym tego rodzaju rozprawom. W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim o dopuszczenie lek. stom. Katarzyny Fajfer do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. n. med.
Krzysztof PAŚNIK
spec. chirurgii ogólnej i onkologicznej
8739447