

Warszawa, dnia 30.07.2020

Dr hab. n. med. Ewa Jankowska-Steifer
Katedra i Zakład Histologii i Embriologii
Centrum Biostruktury
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Chałubińskiego 5,02-004 Warszawa
tel.: 22 629 52 82
ewa.jankowska-steifer@wum.edu.pl

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Natalii Domian

pt „OCENA KOMÓREK BŁONY ŚLUZOWEJ JAMY USTNEJ U PACJENTÓW Z
UZUPEŁNIENIAMI PROTETYCZNYMI”

Promotor: prof. dr hab. Irena Kasacka

Podstawę formalną opracowania niniejszej recenzji stanowi uchwała Rady Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 25 czerwca 2020 roku w sprawie powołania recenzentów rozprawy doktorskiej mgr Natalii Domian.

W obecnych czasach dużą wagę przywiązuje się do uzupełniania braków w uzębieniu, co czyni się nie tylko z powodów estetycznych, ale także między innymi w celu zabezpieczenia przed zaburzeniami zgryzu lub nieprawidłowym funkcjonowaniem stawów żuchwowych. Mimo, stosunkowo szerokiej oferty protez zębowych najczęściej wybierane są ruchome protezy akrylowe, ze względu na ich niewysoką cenę i możliwość uzyskania refundacji z NFZ. Powszechnie wiadomo, że kilka czynników związanych z protezami ruchomymi, takich jak złe przygotowanie protezy, zła higiena jamy ustnej i niedostosowanie spowodowane długim użytkowaniem mogą wywoływać zmiany w błonie śluzowej jamy ustnej. Najczęstszymi zmianami towarzyszącymi stosowaniu protez ruchomych są protetyczne zapalenie jamy ustnej, owrzodzenia pourazowe, przerost włóknisty i kandydoza. Uszkodzenia spowodowane przez protezę zwykle przebiegają drogą powolnej i bezobjawowej ewolucji, niezauważone przez pacjentów. Dopiero pogorszenie stanu błony śluzowej jamy ustnej podlega ocenie klinicznej, co powszechnie opisywane jest w literaturze. Interesującym, nie znajdującym odzwierciedlenia w literaturze, zagadnieniem jest wpływ uzupełnień

protetycznych na komórki nabłonka jamy ustnej u pacjentów nie wykazujących zmian klinicznych w jamie ustnej.

Doktorantka podjęła się oceny stanu takiego nabłonka u pacjentów użytkujących ruchome częściowe i całkowite uzupełnienia protetyczne, ale niewykazujących żadnych klinicznie zauważalnych zmian w obrębie jamy ustnej. Wpływ uzupełnień protetycznych na błonę śluzową jamy ustnej badany był w zależności od rodzaju protezy i czasu jej użytkowania. **Cel pracy** był realizowany poprzez ocenę morfologiczną komórek nabłonkowych błony śluzowej jamy ustnej pacjentów użytkujących ruchome uzupełnienia protetyczne oraz ocenę reakcji immunohistochemicznych w komórkach błony śluzowej jamy ustnej z zastosowaniem swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko kaspazie 3, kaspazie 8, kaspazie 9, NF- κ B, i białku p53. Ponadto, metodą Western Blot Doktorantka oceniała ekspresję wymienionych białek oraz COX-2 w ślinie badanych pacjentów.

Zaprezentowana do oceny praca została przygotowana w postaci monografii liczącej 116 stron i układzie typowym dla rozpraw doktorskich. Obszerny wstęp poprzedzony jest spisem treści oraz wykazem używanych skrótów. W kolejności dysertacja zawiera założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski i streszczenia w języku polskim oraz angielskim. Całość dopełnia piśmiennictwo, spis tabel, rycin i fotografii oraz wzór ankiety wypełnianej przez pacjentów przed przystąpieniem do badań.

Poszczególne części rozprawy doktorskiej napisane są proporcjonalnie do całości pracy.

We **Wstępie** Doktorantka zawarła szczegółowe informacje dotyczące budowy błony śluzowej, składu śliny i jej wykorzystania w diagnostyce, ponadto przedstawiła w sposób wyczerpujący informacje na temat uzupełnień protetycznych, wzbogacając tę część odpowiednimi ilustracjami. Ponieważ, jednym z elementów badanych była immunohistochemiczna ocena białek związanych z apoptozą, także informacje dotyczące tego zagadnienia zostały ujęte we Wstępie.

Rozdział **Materiał i Metody** zawiera dokładne informacje na temat doboru pacjentów, sposobu pobierania i utrwalania materiału do badań histologicznych oraz procedury barwienia immunohistochemicznego i techniki Western Blot. Spis odczynników wykorzystywanych w wymienionych technikach został przedstawiony w formie przejrzystych tabeli. Do oceny wyników Doktorantka zastosowała prawidłowo dobrane testy statystyczne.

Wyniki zostały przedstawione w formie krótkiego opisu, morfologia komórek nabłonka oraz immunoreaktywność komórek została zobrazowana 33. dobrej jakości mikrofotografiami. Wyniki Western Blot Doktorantka zobrazowała 6. niebudzącymi zastrzeżeń histogramami.

W **Dyskusji** Doktorantka odnosi się do wielu danych literaturowych. Na uwagę zasługuje fakt wywarzenia informacji zawartych we Wstępie, jako tych podstawowych i informacji szczegółowych odnoszących się do konkretnych wyników uzyskanych w następstwie badania. Stwierdzone w badaniu zmiany w nabłonku błony śluzowej pacjentów z uzupełnieniami protetycznymi szczególnie nasilone były u pacjentów użytkujących protezy przez okres krótszy niż dwa lata. Doktorantka sugeruje, że może to być spowodowane uszkodzającym działaniem substancji uwalnianych z protez i/lub mechanicznym drażnieniem podłoża protetycznego. Znanym z literatury elementem uwalnianym z protez jest nieprzereagowany resztkowy monomer, lecz jego uwalnianie jest krótkotrwałe i dotyczy głównie źle spolimeryzowanego akrylu, zatem trudno wiązać bezpośrednio tę substancję ze zmianami obserwowanymi w nabłonku, choć jednoznacznie, co zostało zawarte we **Wnioskach**, badania wykazały, że uzupełnienia protetyczne mogą mieć wpływ na metabolizm komórek nabłonka jamy ustnej, czego konsekwencją są zaobserwowane zmiany w morfologii komórek. Ponadto wzrost immunoreaktywności kaspazy 3, kaspazy 8, NF- κ B i białka p53 w komórkach nabłonka jamy ustnej pacjentów użytkujących protezy sugeruje wzmożone procesy apoptotyczne, ze wskazaniem na szlak receptorowy tego procesu, nie zależny od stanu zapalnego. Badania wykazały, że nasilenie obserwowanych zmian zależy od czasu użytkowania protez.

Z obowiązku recenzenta pokrótce przedstawię nieliczne błędy, o zróżnicowanej ważkości, których nie ustrzegła się Doktorantka:

- w Wykazie Używanych Skrótów powinno się ujednoczyć sposób przedstawiania rozwinięcia skrótu, rozpoczęcie od wielkiej lub małej litery;
- cytowana we Wstępie literatura, mimo iż przeważnie trafnie dobrana, powinna zawierać także pozycje z ostatnich 5 lat. Niezręcznie brzmi zdanie rozpoczynające się stwierdzeniem "Coraz więcej jest doniesień....." z cytowaniem pochodzącym z 2000 roku. Ponadto, jest to też powodem kilku nieścisłości w treści Wstępu. Przykładem może być zdanie " W obu typach nabłonek występują melanocyty, które mają zahamowaną produkcję melaniny" [Head Face Med. 2014; 10: 8. doi: 10.1186/1746-160X-10-8] - produkcja melaniny może, ale nie musi być zahamowana. Kolejny przykład: "nieodwracalność procesu zaprogramowanej śmierci komórki" - [R Soc Open Sci. 2018 Sep; 5(9): 180442. doi: 10.1098/rsos.180442] - "apoptosis can be reversible at the cell execution stage";
- tabela we Wstępie "Główne cechy błony śluzowej poszczególnych okolic jamy ustnej" [za Knychalska-Karawan, 2002], zawiera nieścisłości dotyczące charakteru nabłonka powierzchni grzbietowej języka, Doktorantka mogłaby skomentować, że oprócz nabłonka zrogowaciałego znajduje się tam też nabłonek niezrogowaciały;

- we Wstępie pojawiają się pewne nieścisłości wynikające ze skrótów słownych, np.:
"wykazano, że transkrypcyjny czynnik NF-κB występuje we wszystkich typach komórek, od muszki owocowej do człowieka" - muszka i człowiek nie są typami komórek; czy "białko to [p53] chroni przed reprodukcją komórek poprzez zmiany genomu wynikające z uszkodzenia DNA - genom się nie zmienia, zmienić może się tylko jego ekspresja;
- wkradło się też kilka literówek, z których dwie wymienię: str. 17: jest pafrotyna, powinno być parotyna; str. 31: jest demon zamiast domen;
- w Materiałach i Metodach w części dotyczącej badań morfometrycznych powinna pojawić się informacja o liczbie komórek poddanych ocenie w każdej z grup; przy barwieniach immunohistochemicznych nie została zamieszczona informacja o kontroli negatywnej;
- w Wynikach dotyczących oceny immunohistochemicznej komórek nabłonka stopień nasilenia reakcji mógłby być przedstawiony jako stosunek komórek zabarwionych do negatywnych, ponadto dużym ułatwieniem byłoby przedstawienie wyników badań immunohistochemicznych w formie tabeli zbiorczej dla wszystkich grup.

Chciałabym podkreślić, że powyższe uwagi nie mają wpływu na moją pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej. Jak słusznie zauważyła Doktorantka wyniki przeprowadzonych badań dostarczają nowych, wcześniej niepublikowanych informacji na temat wpływu ruchomych protez zarówno częściowych jak i całkowitych na kondycję błony śluzowej jamy ustnej, co powinno skłaniać do przeprowadzenia dalszych badań w celu dokładnego wyjaśnienia patomechanizmu obserwowanych zmian.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Natalii Domian zatytułowana „Ocena komórek błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów z uzupełnieniami protetycznymi” spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14.03.2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65/03, poz. 595 z późno zm.). Składałam zatem wniosek o przyjęcie pracy oraz dopuszczenie Pani mgr Natalii Domian do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

Dr hab. n. med. Ewa Jankowska-Steifer



Recenzent rozprawy doktorskiej