

Poznań, 5 września 2018r.

Dr hab. med. Paweł Golusinski

Pracownia Biologii Nowotworów Głowy i Szyi
Katedra Biologii i Ochrony Środowiska
Katedra Chirurgii Głowy, Szyi i Onkologii Laryngologicznej
Uniwersytet Medyczny im Karola Marcinkowskiego

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Anny Mieszkowskiej pt. „Ocena *in vitro* właściwości przeciwzapalnych ramnogalakturonanu-I do zastosowania w modyfikacji powierzchni tytanowych implantów stomatologicznych”

Promotor: prof.dr hab.inż. Korneliusz Miksch, Politechnika Śląska

Kopromotor: dr n. Med. Katarzyna Gurzawska, University of Birmingham

Leczenie implantologiczne w stomatologii, stało się obecnie standardową procedurą wykonywaną rutynowo u chorych wymagających leczenia protetycznego.

Sukces leczenia zależy w dużej mierze od przebiegu osteointegracji. Jest to proces obejmujący bezpośrednie, strukturalne i funkcjonalne połączenie pomiędzy żywą kością a powierzchnią implantu. Jednym z istotnych czynników, negatywnie wpływających na osteointegrację jest zapalenie okołowszczepowe wywołane miejscową infekcją bakteryjną. Ryzyko wystąpienia reakcji zapalnej w obrębie tkanek okołowszczepowych jest szczególnie wysokie u pacjentów obciążonych chorobami ogólnoustrojowymi. Jednym z czynników pozwalających na minimalizację wystąpienia potencjalnej infekcji jest zastosowanie biomateriałów, zawierających bioaktywne związki organiczne o właściwościach przeciwzapalnych. Pokrycie powierzchni implantu biomateriałem pozwala potencjalnie, w istotny sposób zredukować ryzyko powikłań zapalnych w procesie osteointegracji. Wśród obiecujących materiałów, służących do modyfikacji wierzchniej warstwy implantów, na szczególną uwagę zasługują pektyny – roślinne polisacharydy. W przedłożonej do recenzji rozprawie, autorka podejmuje próbę oceny *in vitro* właściwości przeciwzapalnych frakcji pektyn zwanej ramnogalakturonanem-I (RG-I) w modyfikacji tytanowych implantów stomatologicznych.

Otrzymaany do recenzji egzemplarz zawiera 50 stron (bez przedruku przedstawionych artykułów) i stanowi cykl trzech spójnych tematycznie opublikowanych artykułów oryginalnych oraz dwóch artykułów uzupełniających, nie będących bezpośrednim przedmiotem dysertacji. Ponadto omówienie wyników uzyskanych w ramach opublikowanych prac przedstawiono w sposób typowy dla rozprawy doktorskiej i podzielony na sekcje przedmowa, wprowadzenie, tezy pracy, cel pracy, materiały i metody, omówienie i dyskusja wyników, oraz wnioski końcowe.

Spis treści sporządzony jest w sposób przejrzysty i pozwala czytelnikowi w prosty sposób zorientować się w poszczególnych elementach rozprawy.

W przedmowie, autorka prezentuje spis 3 artykułów wchodzących w skład cyklu, w których doktorantka jest pierwszym autorem oraz dwóch dodatkowych, gdzie doktorantka jest drugim autorem, stanowiących uzupełnienie cyklu.

Streszczenie pracy napisane jest spójnie i odpowiada treści pracy, prezentując jej najistotniejsze elementy. Streszczenie w języku angielskim napisane jest poprawnie pod względem językowym i odzwierciedla polską wersję.

Wprowadzenie

W sekcji wprowadzenie autorka zaznajamia czytelnika z charakterystyką biomateriałów stosowanych w protetyce stomatologicznej oraz prezentuje podstawy fizjologii procesu osteointegracji. Rycina umieszczona w tej części tekstu w sposób bardzo obrazowy pozwala zrozumieć czytelnikowi podstawy procesu, który stanowi podstawę do omówienia czynników wpływających na zaburzenia procesu osteointegracji implantów stomatologicznych. Przedstawiono patologiczną florę bakteryjną, odpowiedzialną za powstawanie biofilmów wpływających bezpośrednio na rozwój zakażeń okołimplantacyjnych z uwzględnieniem mechanizmów etiopatogenezy tego procesu, jak również zaburzenia metaboliczne kości. Należy wspomnieć, że pomimo złożoności opisywanych procesów oraz rozległości dostępnej wiedzy, autorka niezwykle przejrzystie i zwięźle prezentuje problem, umiejętnie dobierając referencje, co świadczy o głębokiej znajomości problemu.

Modyfikacja wierzchniej warstwy metalicznych implantów stomatologicznych z zastosowaniem związków organicznych mających na celu poprawę procesu integracji poprzez zwiększenie adhezji komórek oraz promowanie odbudowy tkanki kostnej stanowi obecnie

niezwykle interesujący kierunek badań zarówno *in vitro* jak i *in vivo* o dużym znaczeniu praktycznym. Ocena zastosowanie polisacharydu roślinnego, ramnogalakturonanu-I jako potencjalnego materiału do pokrywania implantów śródkostnych stanowiła główny przedmiot ocenianej rozprawy.

Cele pracy w postaci celu głównego (wskazanego powyżej), oraz trzech celów szczegółowych, zostały precyzyjnie wskazane.

Materiał i Metodyka

Na uwagę zasługuje niezwykła złożoność metodologiczna pracy i prawidłowa sekwencja zastosowanych metod z wykorzystaniem uprzednio uzyskanych wyników. Metodyka obejmowała izolację RG-I z ziemniaka, pokrycie materiałów polistarynowych oraz tytanowych PG-I oraz następnie weryfikację właściwości wspomnianego polisacharydu *in vitro* w modelu zwierzęcym (pierwotna linia komórkowa mysich osteoblastów) oraz na pierwotnych liniach ludzkich fibroblastów oraz makrofagów. Określenie funkcjonalnych właściwości PG-I nastąpiło w wyniku określenia poziomu ekspresji genów związanych z inicjacją i regulacją procesu zapalnego za pomocą technik biologii molekularnej (RT-PCR).

W mojej ocenie, Rys. 4.1 przedstawiający plan zastosowanej metodyki, pozwala czytelnikowi w sposób bardzo prosty zorientować się w złożonej metodologii pracy.

Omówienie i dyskusja wyników

Wyniki zostały omówione w oparciu o artykuły wchodzące w skład cyklu.

Artykuł I

Celem artykułu była ocena proliferacji, odpowiedzi metabolicznej, mineralizacji oraz ekspresji genów regulujących osteogenezę i odpowiedź zapalną, zainfekowanych mysich osteoblastów na podłożu pokrytym PG-I.

Uzyskane wyniki wskazują na obniżenie aktywności *in vitro* komórek mysich, spowodowanych infekcją.

Artykuł II

Celem pracy była ocena wpływu infekcji bakteryjnej na hodowlę ludzkich fibroblastów na płytkach pokrytych RG-I. Wyniki wykazały istotny wpływ PG-I na proliferację fibroblastów, a także na zmniejszoną ekspresję genów związanych z zapaleniem.

Artykuł III

Celem pracy była ocena wpływu RG-I na odpowiedź zapalną *in vitro* w ludzkich makrofagach, wyrażona ekspresją pro i przeciwzapalnych interleukin.

Wykazano zmniejszoną ekspresję interleukin prozapalnych przy braku istotnych zmian ekspresji interleukin przeciwzapalnych.

Artykuł IV i V

Celem obu prac była ocena *in vitro* wpływu RG-I na aktywność osteoblastów oraz fibroblastów, które nie były stymulowane czynnikiem infekcyjnym.

Dyskusja przeprowadzona została również w oparciu o artykuły wchodzące w skład cyklu. Wyniki przedyskutowano niezwykle rzetelnie, z uwzględnieniem wszystkich istotnych, współcześnie dostępnych pozycji literaturowych.

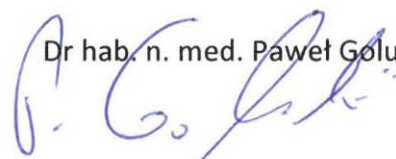
Wnioski końcowe

Uzyskane wyniki badań, opublikowane w przedstawionym cyklu artykułów, pozwoliły na sformułowanie wniosku ogólnego, pozwalającego stwierdzić, że pokrywanie powierzchni metalicznych niemodyfikowanym oraz modyfikowanym RG-I, hamuje odpowiedź prozapalną indukowaną czynnikiem infekcyjnym oraz stymuluje procesy komórkowe związane z odbudową tkanki kostnej w warunkach *in vitro*. Ponadto sformułowano 4 wnioski szczegółowe, co wymaga podkreślenia, wynikających bezpośrednio z uzyskanych wyników. Należy zauważyć, że autorce udało się uniknąć często spotykanej w pracach doktorskich nadinterpretacji wyników w celu sformułowania wniosków odpowiadających wcześniejszym celom i założeniom.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji praca reprezentuje wysoki poziom naukowy. Sformułowanie hipotezy badawczej, zastosowana złożona metodyka, interpretacja uzyskanych wyników oraz sposób sformułowania wniosków, dowodzą wysokiej dojrzałości naukowej autorki. Na uwagę zasługuje również fakt, że badania zostały przeprowadzone we

współpracy międzynarodowej, a przedstawione w cyklu artykuły, opublikowane zostały w renomowanych czasopismach z IF.

W związku z powyższym, wnioskuję do Wysokiej Rady Wydziału Inżynierii Środowiska i Energetyki Politechniki Śląskiej, o dopuszczenie mgr. inż. Anny Mieszkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie pracy, zgodnie z zasadami obowiązującymi w uczelni.


Dr hab. n. med. Paweł Gólskiński