



prof. dr hab. Jacek Wysocki
Kierownik Katedry i Zakładu Profilaktyki Zdrowotnej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

KZPZ/19/23

Poznań, dn. 9 sierpnia 2023 roku

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. dent. Agnieszka Kukawczyńska-Chwałek

pt.: „Wpływ leczenia ortodontycznego na występowanie reaktywacji zakażeń wirusami HSV-1 i HSV-2 w jamie ustnej u młodzieży i młodych dorosłych”

Wirusy *Herpes simplex-1* (HSV-1) i *Herpes simplex-2* (HSV-2) należące do rodziny *Herpesviridae* są bardzo rozpowszechnione w populacji ludzkiej. Badania epidemiologiczne wykazały, że częstość zakażenia wśród ludzi zależy od wieku, regionu geograficznego, wpływu czynników socjoekonomicznych, a nawet wielkości gospodarstwa domowego i może w niektórych subpopulacjach sięgać nawet 70-90%. Dodatkowym czynnikiem wzmagającym zainteresowanie tymi wirusami jest ich zdolność nie tylko do wywoływania zakażenia pierwotnego, ale także do przechodzenia w stan latentny, który pod wpływem różnych czynników może przejść w stan reaktywacji, czyli ponownej aktywnej replikacji wirusa. Wśród różnych wymienianych w piśmiennictwie czynników, które mogą prowadzić do reaktywacji wirusów HSV-1 i HSV-2 należą między innymi urazy mechaniczne śluzówki. Należy podkreślić, że objawy zakażenia pierwotnego i reaktywacji zakażenia HSV-1 dotyczą przede wszystkim śluzówki jamy ustnej i skóry okolicy warg i nosa. Badania epidemiologiczne zakażenia wirusami HSV-1 i HSV-2 utrudnia fakt, że podobne objawy na śluzówce jamy ustnej mogą być nie tylko wynikiem zakażenia/reaktywacji wirusów opryszczki, ale mogą być także objawem aftowości rodzinnej, gorączek nawrotowych i chorób systemowych przebiegających z obecnością aft. Ponadto możliwa jest także reaktywacja zakażenia HSV-1/HSV-2 bez objawów klinicznych. Powyższe fakty wskazują, że zakażenie tymi wirusami jest

częste i istotne klinicznie, a z drugiej strony wskazuje na potencjalne trudności badań epidemiologicznych w tym zakresie.

Podjęcie przez lek. dent. Agnieszkę Kukawczyńską-Chwałek badań nad wpływem leczeniem ortodontycznym na występowanie reaktywacji zakażeń wirusami HSV-1 i HSV-2 w jamie ustnej u młodzieży i młodych dorosłych jest na pewno uzasadnione i wartościowe, zwłaszcza, że przegląd literatury wskazuje na bardzo niewielką liczbę publikacji w tym zakresie. Leczenie ortodontyczne od kilkunastu lat stało się coraz bardziej popularne w krajach rozwiniętych, a aparaty używane w leczeniu mogą uszkadzać śluzówkę jamy ustnej, a ponadto utrudniać utrzymanie prawidłowej higieny jamy ustnej, co może potencjalnie sprzyjać reaktywacji wirusów opryszczki pospolitej.

Do recenzji przedłożono pracę doktorską liczącą 103 strony oraz załączniki. W pracy umieszczono 32 tabele, 1 rysunek, 15 zdjęć oraz 3 wykresy. Układ pracy jest typowy. We wstępie do pracy Autorka przedstawiła najważniejsze zagadnienia dotyczące wirusów HSV-1 i HSV-2 wraz ich biologią i epidemiologią, a także metody wykrywania wirusów opryszczki, leczenia i profilaktyki tych zakażeń, a także podstawowe wiadomości o aparatach stosowanych w leczeniu ortodontycznym. Wstęp napisany jest bardzo dobrze, w sposób zrozumiały przedstawia najważniejsze wiadomości, które mają znaczenie dla zaplanowania prowadzonych badań i ich realizacji. Wartościowym rozwiązaniem zastosowanym przez Doktorantkę jest rozdział *III Założenia*, w którym przedstawiono podstawowe fakty i hipotezy, na których oparto projekt badań i konstrukcję doktoratu. Najważniejszym z nich jest założenie, że leczenie ortodontyczne może być powodem wzrostu częstości reaktywacji i wydzielania wirusa. W oparciu o te założenia sformułowano trzy cele pracy, którymi były:

1. Prospektywna ocena wpływu ingerencji ortodontycznej na częstość reaktywacji objawowych i bezobjawowych zakażeń HSV-1 i HSV-2 w jamie ustnej.
2. Analiza występowania objawowych epizodów opryszczki nawrotowej, jak i wydzielania bezobjawowego wirusa u pacjentów leczonych ortodontycznie w porównaniu z grupą kontrolną.
3. Ocena ryzyka pierwotnego zakażenia HSV-1 podczas leczenia aparatami ortodontycznymi.

Cele te zostały prawidłowo sformułowane i odpowiadają tytułowi rozprawy doktorskiej.

W rozdziale *Materiał i metody* przedstawiono dane dotyczące badanych pacjentów oraz zastosowanych metod badawczych. Badaniami objęto 138 osób w wieku od 13 do 30 lat, z których 60 osób stanowiło grupę badaną, a 78 osób grupę kontrolną. Autorka prawidłowo sformułowała kryteria włączenia do badania oraz kryteria wykluczenia z badania. Doktorantka wydzieliła podgrupę dzieci i młodzieży w wieku 13-18 lat, która była wyraźnie liczniejsza w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. W tym miejscu należy zwrócić uwagę, że tabela 9 jest mało przejrzysta i w przypadku publikacji powinna być poprawiona (opis trzeciego wiersza danych - %). Autorka opisała także, jakie aparaty ortodontyczne używali pacjenci w grupie badanej. Średni czas leczenia w grupie badanej wynosił około 2 lat, a średni czas obserwacji pojedynczego pacjenta 9,5 miesiąca. Z całkowitej liczby pacjentów, którzy zostali uwzględnieni w doktoracie (138), przez okres co najmniej 6 miesięcy udało się utrzymać 94 osoby, co wynikało z obciążeń, jakie wiązały się z udziałem w badaniu.

W pracy wykorzystano różnorodne metody badawcze: przeprowadzono wywiad osobisty oraz z udziałem ankiety, wykorzystywano dzienniczek prowadzony przez pacjenta, przeprowadzono badanie stomatologiczne stanu zdrowotnego jamy ustnej, wykonywano badania serologiczne służące do oceny przebytego zakażenia wirusami HSV-1 i HSV-2, a także pobierano ślinę i wymaz z jamy ustnej na badania w kierunku obecności DNA wirusów HSV metodą PCR. W rozdziale *Metody* opisano także wykorzystane metody statystyczne. Należy uznać, że dobór grupy badanej i kontrolnej były prawidłowe, a ich liczebność była nieco ograniczona obciążeniem dla pacjenta wynikającym z udziału w badaniach. Za wiarygodnością uzyskanych wyników przemawia fakt, że zakażenia wywołane HSV, a zwłaszcza HSV-1 są częste i z tego względu wielkość grupy badanej powinna pozwolić na uzyskanie rzetelnych wyników. W opinii recenzenta w części rozprawy dotyczącej metod badawczych nie było konieczne wymienienie analizy publikacji, co jest podstawowym działaniem w każdym badaniu naukowym.

W rozdziale *VI Wyniki* Autorka przedstawiła szczegółowe rezultaty swoich badań. Ich prezentacja jest przejrzysta i logiczna, a ocena została poparta wynikami

analizy statystycznej. Doktorantka zastosowała także podsumowanie podrozdziału dotyczącego analizy danych zebranych przy włączenia do badania, co bardzo ułatwia ocenę tej części doktoratu. Bardzo wartościową częścią rozdziału *Wyniki* jest pogłębiona analiza pacjentów posiadających przeciwciała przeciwko wirusom opryszczki pospolitej. Recenzent stwierdza, że wyniki pracy zostały przedstawione dokładnie i przejrzysto, a doktorantka poddała je rzetelnej ocenie.

Rozdział VII zawiera *Dyskusję*. W jej początkowej części Autorka przedstawiła wyniki przeszukiwania bibliografii dotyczącej zakażenia wirusami opryszczki u pacjentów leczonych ortodontycznie, która wykazała, że badania będące podstawą doktoratu były dotychczas słabo opisane w literaturze fachowej i mają nowatorski charakter. Być może, że przed okresem szerszego wprowadzenia do diagnostyki wirusologicznej metod opartych na polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR), podjęcie takich badań było trudne i nie dawało wiarygodnych wyników. W dyskusji Autorka wyjaśniła także, że ofertę udziału w badaniu złożono 280 pacjentom, z których udało się skutecznie zrekrutować 138 osób, głównie młodych dorosłych, dlatego ta podgrupa była liczniejsza. Dalszą część dyskusji Autorka podzieliła na podrozdziały, co bardzo uporządkowało analizę wyników. W podrozdziale *Rozpowszechnienie zakażeń HSV* Doktorantka szczegółowo porównała wyniki badań własnych z publikacjami innych Autorów starając się wytłumaczyć różnice uzyskanych danych. Interesującą obserwacją jest brak zgodności pomiędzy deklarowanym przez pacjenta wystąpieniem zmian opryszczkowych w jamie ustnej w przeszłości a wynikami badań serologicznych, co dodatkowo potwierdza, że przyjęta przez Doktorantkę metodologia badań była uzasadniona. Dużą część Dyskusji Autorka poświęciła bezobjawowej reaktywacji wirusów opryszczki, co ma duże znaczenie w analizie epidemiologicznej tych zakażeń. Przekonywująco wyjaśniła znaczenie wykonywania wymazów z powierzchni błony śluzowej. Największa część dyskusji dotyczy wpływu leczenia ortodontycznego na zakażenie i reaktywację wirusa HSV, co wynika z tytułu pracy. W tej części rozprawy przedstawiono wiele odniesień do danych z piśmiennictwa i na tym tle przedstawiono ciekawą analizę wyników badań własnych. Zaprezentowana dyskusja doprowadziła do sformułowania trzech wniosków:

1. Wirus opryszczki jest szeroko rozpowszechnionym patogenem, nie wykazuje predylekcji do płci. Zakażenie HSV-2 występuje z mniejszą częstotliwością niż HSV-1 i istnieje możliwość koinfekcji obydwoma typami wirusa.
2. Objawowa i bezobjawowa reaktywacja wirusami opryszczki jest częsta w populacji anty-HSV IgG dodatnich pacjentów w stomatologii.
3. Leczenie ortodontyczne nie wpływa na wzrost zakażeń pierwotnych wirusem HSV i nie jest czynnikiem reaktywacyjnym dla HSV zarówno objawowego, jak i bezobjawowego, a reaktywacja HSV nie zależy od typu zastosowanego aparatu ortodontycznego.

Wnioski odpowiadają na zaplanowane cele rozprawy doktorskiej, są wartościowe merytorycznie i mają znaczenie dla praktyki klinicznej.

Rozdział IX zawiera 3-stronicowe streszczenie rozprawy doktorskiej opisujące najważniejsze elementy w języku polskim i angielskim.

Piśmiennictwo obejmuje 139 pozycji oryginalnych i poglądowych głównie z lat 2000-2020, przy czym uwzględniono także pojedyncze pozycje z roku 1953, 1975 i następnych lat XX wieku o podstawowym znaczeniu dla rozwoju wiedzy o wirusach opryszczki. Dobór piśmiennictwa jest prawidłowy, a jego wykorzystanie nie budzi zastrzeżeń.

Recenzent zauważył drobne potknięcia językowe i literówki pozostające bez znaczenia na wartość pracy. Koniecznie trzeba poprawić na str. 7 w wierszu 5 od dołu „trzy i pół biliona” na „trzy i pół miliarda” co zapewne było wynikiem nieprawidłowego tłumaczenia z języka angielskiego.

Podsumowując recenzję stwierdzam, że rozprawa doktorska lek. dent. Agnieszki Kukawczyńskiej-Chwałek pt.: „Wpływ leczenia ortodontycznego na występowanie reaktywacji zakażeń wirusami HSV-1 i HSV-2 w jamie ustnej u młodzieży i młodych dorosłych” jest oryginalnym i wartościowym opracowaniem naukowym. Autorka dowiodła we wstępie, że wybrany temat badań naukowych jest istotny klinicznie, a dotychczasowa wiedza na ten temat co najmniej niepełna. Prawidłowo sformułowała cele pracy i dobrała grupy pacjentów oraz metody badawcze. W sposób przekonujący przedstawiła wyniki badań i poddała je

wartościowej, a jednocześnie krytycznej analizie, na podstawie której wyciągnęła prawidłowe i uzasadnione wnioski. Strona formalna praca nie budzi zastrzeżeń.

Na podstawie dokonanej recenzji stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.) i dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie lek. dent. Agnieszki Kukawczyńskiej-Chwałek do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora nauk medycznych. Jednocześnie ze względu na oryginalny charakter projektu i jego dużą przydatność kliniczną wnoszę o wyróżnienie powyższej pracy doktorskiej.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Profilaktyki Zdrowotnej

prof. dr hab. med. Jacek Wysocki