



ZWS/ /2020

Zabrze, dnia 12.05.2020 r.

Katedra i Zakład Stomatologii
Wieków Rozwojowego

41-800 Zabrze,
Plac Traugutta 2
www.swr.sum.edu.pl

Kierownik Katedry
dr hab.n.med. Lidia Postek-Stefańska
tel.: (+48 32) 271-36-12,
(+48 32) 37-05-230, (+48 32) 37-05-231

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 271-36-12,
(+48 32) 37-05-230
(+48 32) 37-05-231

swrzab@sum.edu.pl

Szanowny Pan

Prof.dr hab.n.med. Marcin Ufnal

Wiceprzewodniczący Rady

Dyscypliny Nauk Medycznych

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

W załączeniu pozwalam sobie przesać 3 egzemplarze recenzji na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lek.dent. Pauli Piekoszewskiej-Ziętek pt. „Uwarunkowania genetyczne i środowiskowe zdrowia uzębienia stałego u dzieci i młodzieży”.

Równocześnie przesałam skan recenzji.

Z poważaniem

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Stomatologii Wieków Rozwojowego
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
L. Postek - Stefańska
dr hab. n. med. Lidia Postek-Stefańska





**Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
lek. dent. Pauli Piekoszewskiej-Ziętek
pt. „Uwarunkowania genetyczne i środowiskowe zdrowia uzębienia stałego
dzieci i młodzieży”**

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska przygotowana pod kierunkiem promotora prof. dr hab. n. med. Doroty Olczak-Kowalczyk i promotora pomocniczego dr hab. n. med. Anny Turskiej-Szybki zrealizowana została w Zakładzie Stomatologii Dziecięcej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w ramach grantu Młodego Naukowca „Uwarunkowania genetyczne i środowiskowe zdrowia uzębienia stałego dzieci i młodzieży” (nr grantu 1S17/PM1.17; realizacja w latach 2017-2018).

Rozprawę doktorską stanowi cykl powiązanych tematycznie 4 prac anglojęzycznych, z których 3 ukazały się w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, a jedna w czasopiśmie spoza tej listy. Publikacje te ukazały się w latach 2017-2019; ich łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 6,378; pkt MNiSW=230. Dwie prace stanowią systematyczny przegląd piśmiennictwa, dwie kolejne to prace oryginalne opisujące wyniki własnych badań z zakresu podjętego tematu. Są to:

1. Piekoszewska-Ziętek P, Turska-Szybka A, Olczak-Kowalczyk D. Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review. *Caries Res.* 2017;51(4):425-435. [IF: 2,188, MNiSW: 40]
2. Piekoszewska-Ziętek P, Turska-Szybka A, Olczak-Kowalczyk D. Salivary proteins and peptides in the aetiology of caries in children: Systematic literature review. *Oral Dis.* 2019;25(4):1048-1056. [IF: 2,625, MNiSW: 100]

3. Piekoszewska-Ziętek P, Szymański K, Olczak-Kowalczyk D. Polymorphism in the CAVI gene, salivary properties and dental caries. *Acta Odontol Scand.* 2020;78(4):250-255. [IF: 1,565, MNiSW: 70]
4. Piekoszewska-Ziętek P, Raćkowska E, Korytowska N, Olczak Kowalczyk D. Salivary antioxidant status and oral cavity conditions in children and adolescents. *New Med.* 2019;23(4):145-151. [MNiSW: 20]

We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, a Jej udział w realizacji prac określa na 70% (publikacje 1, 2, 3) i 60% (publikacja 4). We wszystkich też pracach udział Doktorantki był znaczący i polegał na: przygotowaniu projektu badania, przeprowadzeniu badań, zebraniu materiału, syntezie danych i sporządzeniu manuskryptu.

Na realizację badań Kandydatka uzyskała pozytywną opinię Komisji Bioetycznej WUM (nr KB/194/2015).

Wymienione publikacje zostały przygotowane zgodnie z wymogami redakcyjnymi czasopism naukowych, w których się ukazały, pozytywne recenzje, które uzyskały świadczą o wysokiej wartości pracy i są też bardzo dobrą rekomendacją przedstawionej mi do oceny Rozprawy.

Przedłożona mi Rozprawa ma układ typowy, zgodny z zalecanym dla prac doktorskich, zawiera *Wstęp*, *Założenia i cel pracy*, kopie 4 publikacji składających się na rozprawę doktorską, *Podsumowanie publikacji*, *Wnioski*, *Piśmiennictwo*, ponadto *Opinię Komisji Bioetycznej* oraz *Oświadczenia współautorów publikacji*. Na początku monografii Autorka zamieściła *Wykaz* stosowanych skrótów oraz *Streszczenie* w języku polskim i *Streszczenie* w języku angielskim.

W krótkim *Wstępie* Doktorantka w sposób zwięzły wprowadza czytelnika w problematykę rozprawy, którą stanowi próchnica jako powszechnie występująca nabyta choroba zębów w aspekcie jej złożonej etiopatogenezy, w której ważną rolę odgrywają zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Znaczenie czynników genetycznych w patogenezie próchnicy zębów dotyczy przede wszystkim czterech grup genów: odpowiedzialnych za rozwój szkliwa, tworzenie i skład śliny, odpowiedź immunologiczną i metabolizm węglowodanów. Zainteresowania Doktorantki skupiły się na badaniach genetycznych polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*), a w szczególności genu kodującego ślinową anhidrazę węglanową VI (CAVI) regulującą takie właściwości, jak pH i pojemność buforową.

W patogenezie chorób jamy ustnej, w tym próchnicy, znaczącą rolę odgrywa również stres oksydacyjny (OS, *oxidative stress*), definiowany jako zachwianie równowagi

między aktywnością reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*), takich jak rodnik nadtlenkowy, hydroksyloxy czy nadtlenek wodoru – produktami metabolizmu bakterii, w tym próchnicotwórczych, a mechanizmami antyoksydacyjnymi w ślinie.

Projekt badawczy Doktorantki dotyczy zagadnień związanych z czynnikami genetycznymi i środowiskowymi w etiopatogenezie choroby próchnicowej w ujęciu badań śliny pacjentów w wieku rozwojowym.

Tematykę podjętych badań uważam za bardzo istotną z praktycznego punktu widzenia, gdyż pomimo postępu w stomatologii, w tym w kariologii, choroba próchnicowa nadal występuje powszechnie na świecie z mniejszym, a najczęściej (jak w Polsce) dużym nasileniem pomimo ponoszonych wysokich nakładów na profilaktykę i leczenie skutków tej choroby.

Celem nadrzędnym pracy było określenie znaczenia czynników genetycznych i środowiskowych w etiologii nabytych chorób uzębienia (choroba próchnicowa) u dzieci i młodzieży.

Doktorantka nakreśliła pięć celów szczegółowych, którymi były:

1. ocena kliniczna stanu uzębienia oraz czynników ryzyka próchnicy zębów u dzieci i młodzieży;
2. ocena liczebności bakterii kariogennych oraz właściwości fizykochemicznych śliny;
3. ocena polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w trzech lokalizacjach genu dla anhidrazy węglanowej VI (rs 2274327; rs 2274328; rs 2274333) oraz ocena stężenia ślinowego anhidrazy węglanowej VI w ślinie;
4. analiza śliny pacjentów pod kątem całkowitego potencjału antyoksydacyjnego TAC (*total antioxidant capacity*) oraz zdolności redukcyjnej FRAP (*ferric reducing antioxidant power*);
5. analiza porównawcza stanu uzębienia oraz występowania ww. czynników etiologicznych próchnicy zębów u dzieci i młodzieży.

Cele badań zostały określone w sposób jasny i czytelny, odpowiedzi na postawione cele znajdują odzwierciedlenie we wnioskach wynikających z przeprowadzonych badań.

Dwie pierwsze publikacje (poz. 1 i 2) są systematycznym przeglądem piśmiennictwa i stanowią bardzo dobre wprowadzenie do podjętych przez Doktorantkę badań. W pierwszej publikacji pt. „Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review” Doktorantka przedstawiła aktualną wiedzę na temat zjawiska polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP) w etiologii próchnicy

zębów. W przeglądzie zostały uwzględnione cztery główne grupy genów mogących mieć istotne znaczenie w etiologii tej choroby: biorące udział w amelogenezie, tworzeniu i modyfikacji składu śliny, odpowiedzi immunologicznej organizmu oraz metabolizmie węglowodanów. Spośród 30 ostatecznie zakwalifikowanych do przeglądu prac w większości (21 prac) autorzy wykazali statystycznie istotny wpływ SNP na rozwój próchnicy zębów.

W drugiej publikacji, również o charakterze przeglądowym, pt. „Salivary proteins and peptides in the aetiology of caries in children: Systematic literature review” Doktorantka przeanalizowała wyniki badań dotyczących związków wybranych peptydów i białek ślinowych z występowaniem próchnicy zębów u pacjentów w wieku rozwojowym. Przedmiotem badań były glikoproteiny (immunoglobuliny IgA, IgM, IgG), peptydy antydrobnoustrojowe (AMPs) i enzymy ślinowe. Wyniki tych badań są niejednoznaczne, zatem obecnie nie można stwierdzić, że pomiar stężenia konkretnego białka czy peptydu ślinowego można uznać za marker choroby próchnicowej, wymaga to dalszych badań, być może w przyszłości na ich podstawie będzie można określać ryzyko rozwoju próchnicy.

Dwie kolejne publikacje (3 i 4) to prace oryginalne, w których Autorka (wraz ze współautorami) przedstawiła wyniki badań własnych stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej.

W publikacji trzeciej pt. „Polymorphism in the CAVI Gene, Salivary Properties and Dental Caries” Doktorantka przedstawiła wyniki badań własnych dotyczących związku pomiędzy polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (SNP) w genie dla anhidrazy węglanowej VI (CAVI), właściwościami fizykochemicznymi śliny a występowaniem próchnicy zębów.

W grupie 130 pacjentów w wieku 11-16 lat oznaczono wskaźniki nasilenia próchnicy, jednostkowy DMFT i powierzchniowy DMFS, wyznaczono wartość całego wskaźnika oraz składową DT (DS.) określającą aktywne ubytki próchnicowe, ponadto uwzględniono ogniska próchnicy początkowej – białe plamy (*white spot lesions*, WSL). W zebranych próbkach śliny stymulowanej oznaczono pH, pojemność buforową, szybkość wydzielania, konsystencję oraz liczbę bakterii kariogennych *Streptococcus mutans* (SM) i *Lactobacillus spp.* (LB) (CFU/mL). W próbkach śliny niestymulowanej oznaczono stężenie enzymu anhidrazy węglanowej (CAVI), ponadto obliczono szybkość wydzielania śliny. Pobrano też wymaz z błony śluzowej policzka stanowiący materiał do izolacji DNA. Wybrano 3 lokalizacje SNP (rs 2274327; rs 2274328; rs 2274333) i przeprowadzono genotypowanie. Doktorantka potwierdziła (podobnie jak inni autorzy) dodatnią korelację

konsystencji śliny i obecności bakterii SM i LB, a także negatywną korelację pH śliny i pojemności buforowej z występowaniem próchnicy. Stężenie anhydryzy węglanowej (CAVI) w ślinie było istotnie niższe u osób z aktywnymi ubytkami próchnicowymi

Warto podkreślić, że Autorka w przeciwieństwie do innych badaczy, przyjęła słuszne założenie, że w analizie powyższych związków należy brać pod uwagę tylko ubytki z aktywną próchnicą (DT/DS.), bez składowych MT/MS (zęby usunięte) i FT/FS (ubytki wypełnione). Analizując polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP) w genie dla CAVI nie ujawniono istotnych związków z występowaniem próchnicy. Stwierdzono natomiast istotną korelację SNP (rs 2274327 i rs 2274328) w genie dla CAVI z właściwościami fizykochemicznymi śliny, takimi jak pojemność buforowa i szybkość przepływu śliny, co nie było wcześniej opisywane w piśmiennictwie. Wyniki powyższe wskazują, że zjawisko polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP) może wpływać na ekspresję genu, co może być jednym z mechanizmów determinujących zróżnicowanie cech fizykochemicznych śliny, jak szybkość przepływu i pojemność buforowa. Te cechy śliny z kolei wpływają na osobniczą podatność na próchnicę.

W ostatniej, czwartej publikacji pt. „Salivary antioxidant status and oral cavity conditions in children and adolescents” Doktorantka przedstawiła wyniki własnych badań, których celem była analiza związku między stanem zdrowia jamy ustnej, wiekiem i płcią a parametrami potencjału antyoksydacyjnego u pacjentów w wieku rozwojowym z uzębieniem stałym. W grupie 87 pacjentów (11-16 lat) oceniono stan uzębienia stałego (PUWZ/PUWP), ogniska próchnicy początkowej (białe plamy), stan higieny jamy ustnej i stan dziąseł. W próbkach śliny niestymulowanej oznaczono całkowity potencjał antyoksydacyjny (*total antioxidant capacity*, TAC) oraz aktywność antyoksydacyjną (*ferric reducing antioxidant power*, FRAP). Ponadto określono szybkość wydzielania śliny. Parametry pojemności antyoksydacyjnej były niższe u pacjentów z wysoką intensywnością próchnicy, niedostateczną higieną jamy ustnej i zapaleniem dziąseł, chociaż różnice były statystycznie nieistotne. Wykazano natomiast istotną zależność statusu oksydacyjnego (TAC i FRAP) z przepływem śliny niestymulowanej, tzn. przy niższym przepływie śliny towarzyszyły wyższe wartości TAC i FRAP (co nie było do tej pory raportowane w piśmiennictwie). Autorka tłumaczy to faktem większego rozcieńczenia reaktywnych form tlenu (ROS) w dużej objętości śliny i mniejszej potrzeby neutralizowania ich przez systemy antyoksydacyjne.

Rozprawę kończy syntetyczne podsumowanie wyników oraz wnioski (5), które w pełni odpowiadają celom pracy.

Zamieszczony spis piśmiennictwa wykorzystanego we *Wstępie* jest aktualny i merytorycznie odpowiada problematyce zawartej w dysertacji. Zgodnie z wymogami dołączone są oświadczenia wszystkich współautorów prac.

Z pozycji recenzenta chciałabym przedstawić jedną uwagę – proponowałabym, aby zarówno w tytule, jak i celu głównym pracy zawęzić określenia „zdrowie uzębienia stałego” (tytuł), „nabytych chorób uzębienia” do próchnicy zębów, gdyż *de facto* tylko ta jednostka chorobowa dotycząca zębów jest przedmiotem badań.

Podsumowując, przedstawiony w rozprawie doktorskiej cykl czterech publikacji stanowi oryginalny dorobek Autorki, który oceniam bardzo pozytywnie.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 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.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.).

Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie lek. dent. Pauli Piekoszewskiej-Ziętek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, ze względu na nowatorski charakter prowadzonych badań, ważność podjętego tematu dla klinicznej praktyki stomatologicznej, duży nakład pracy związanej z przeprowadzeniem badań i przygotowaniem rozprawy doktorskiej, wysoką wartością naukową publikacji przedstawionych w dysertacji, zamieszczonych w renomowanych czasopismach o zasięgu światowym, wnioskuję o wyróżnienie pracy.

Zabrze, dnia 08.05.2020 r.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Stomatologii Wieloletniego
Sigmundego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
N. Postek-Stepaniak
dr hab. n. med. Lidia Postek-Stepaniak