

Dr hab. n. med. Elżbieta Pels  
Katedra i Zakład Stomatologii Wieków Rozwojowych  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
e-mail: elzbieta.pels@umlub.pl

Lublin, 29.04.2020r.

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. dent. Pauli Piekoszewskiej-Ziętek pt.: „Uwarunkowania genetyczne i środowiskowe zdrowia uzębienia stałego u dzieci i młodzieży”.

Choroba próchnicowa jest obecnym na całym świecie, szeroko rozpowszechnionym problemem zdrowotnym. Ma ona wyraźny wpływ na ekonomię jak i stan zdrowia wszystkich populacji, zalicza się ją do grona chorób społecznych. Niektórzy badacze przedstawiają próchnicę jako najszerzej rozpowszechnioną przewlekłą chorobę u dzieci. Wczesna ocena ryzyka rozwoju próchnicy polega na określeniu prawdopodobieństwa wystąpienia próchnicy w określonym czasie lub prawdopodobieństwa, że zmiany już istniejące się powiększą.

Do oceny ryzyka wystąpienia procesu próchnicowego stosuje się różnorodne narzędzia. Między innymi: badanie mikrobiologiczne szczepów bakterii kariogennych, określanie szybkości wydzielania śliny, ocenę pH śliny, ocenę stanu uzębienia oraz stanu higieny jamy ustnej. Testy mikrobiologiczne mają na celu wykrycie przede wszystkim szczepów kariogennych bakterii *Streptococcus mutans* oraz *Lactobacillus* spp. Testy ilościowe tych patogenów pomagają w ocenie stopnia zagrożenia próchnicą i wykryciu osób szczególnie narażonych na rozwój tej choroby. Natomiast niewiele jest dostępnych badań, szczególnie w piśmiennictwie polskojęzycznym, oceniających wpływ czynników genetycznych na stopień ryzyka rozwoju próchnicy zębów i wykryciu osób szczególnie narażonych na rozwój tej choroby.

Dlatego tematykę przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej uważam za trafną, ciekawą i aktualną. Podjęcie problemu wpływu uwarunkowań genetycznych

i środowiskowych na stan zdrowia uzębienia stałego, przez lekarza dentystę Paulę Piekoszewską-Ziętek, jest ważne z klinicznego punktu widzenia.

Praca doktorska lek. dent. Pauli Piekoszewskiej-Ziętek stanowi rozprawę napisaną na podstawie cyklu czterech oryginalnych publikacji w języku angielskim, w których Doktorantka była pierwszym Autorem z udziałem 70% w trzech pierwszych publikacjach i 60% w publikacji czwartej. Układ rozprawy doktorskiej jest następujący: Słowa kluczowe w języku polskim i angielskim; Informacja o wykonaniu pracy w ramach grantu przyznanego w Konkursie Projektów dla Młodych Naukowców w WUM w latach 2017-2018, przy czym nazwa projektu jest zgodna z tytułem rozprawy doktorskiej; Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską; Wykaz stosowanych skrótów; Streszczenie; Streszczenie w języku angielskim; Wstęp; Założenia i cel pracy; Kopie 4 publikacji składających się na rozprawę doktorską; Podsumowanie publikacji; Wnioski; Piśmiennictwo; skan Opini Komisji Bioetycznej przy WUM; Oświadczenia współautorów publikacji.

W Streszczeniu Doktorantka przedstawiła najistotniejsze zagadnienia, które są przedmiotem rozprawy doktorskiej. Wprowadzając w tematykę pracy podała, że dwie pierwsze publikacje są systematycznym przeglądem piśmiennictwa dostępnego w bazach danych Pubmed/Medline, Embase oraz Cochrane Library. Trzecia i czwarta publikacja to prace oryginalne obejmujące badania genetyczne oraz analizę śliny badanych pacjentów. Trzecia publikacja dotyczy badań polimorfizmu pojedynczego nukleotydu w genie dla anhidrazy węglanowej przeprowadzonych u 130 pacjentów w wieku 11-16 lat. W czwartej publikacji Doktorantka dokonała oceny klinicznej stanu uzębienia, higieny jamy ustnej oraz badań oksydacyjnych śliny u 87 pacjentów.

We Wstępie lek. dent. Paula Piekoszewska-Ziętek obszernie omawia czynniki, które wpływają na rozwój choroby próchnicowej zębów. Zwraca szczególną uwagę na znaczenie czynników genetycznych, w tym polimorfizmu pojedynczego nukleotydu, w rozwoju próchnicy zębów. W dalszej części Wstępu Doktorantka omawia właściwości i składniki śliny w aspekcie wpływu na zdrowie i ochronę jamy ustnej. Zwraca uwagę na zdolności buforowe anhidraz węglanowych i ich roli w neutralizowaniu kwasów w środowisku śliny, co ma istotne znaczenie w ocenie ryzyka występowania próchnicy zębów. Kolejnym tematem poruszonym przez Doktorantkę jest stres oksydacyjny śliny, który może doprowadzić do zaburzenia równowagi pomiędzy aktywnością ROS a układem antyoksydacyjnym w środowisku jamy ustnej, co może zapoczątkować proces próchnicowy zębów.

Wstęp jest napisany wnikliwie, z dużą znajomością problemów dotyczących rozwoju próchnicy zębów stałych. Jest to bardzo pracownie przygotowany rozdział pracy doktorskiej, w której Autorka prezentuje bardzo dobrą znajomość zagadnień będących przedmiotem jej badań. Na koniec wstępu Doktorantka podkreśla, że zagadnienia omawiane w rozprawie doktorskiej w cyklu czterech publikacji pozostają w kręgu Jej szczególnych zainteresowań naukowych.

Autorka w pracy założyła cel nadrzędny pracy:

Określenie znaczenia czynników genetycznych i środowiskowych w etiologii nabytych chorób uzębienia (choroba próchnicowa) u dzieci i młodzieży.

Cele szczegółowe:

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.
4. Analiza śliny pacjentów pod kątem całkowitego potencjału antyoksydacyjnego TAC (ang. *total antioxidant capacity*) oraz zdolności redukcyjnej FRAP (ang. *ferric reducing antioxidant power*).
5. Analiza porównawcza stanu uzębienia oraz występowania ww. czynników etiologicznych próchnicy zębów u dzieci i młodzieży.

W kolejnej części pracy Doktorantka prezentuje kopie publikacji składających się na rozprawę doktorską:

#### Publikacja 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. doi: 10.1159/000476075.

#### Publikacja 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. doi: 10.1111/odi.12953.

### Publikacja 3

Paula Piekoszewska-Ziętek, Konrad Szymański & Dorota Olczak-Kowalczyk (2020): Polymorphism in the CAVI gene, salivary properties and dental caries, *Acta Odontologica Scandinavica*, DOI: 10.1080/00016357.2019.1694977.

### Publikacja 4

Piekoszewska-Ziętek Paula, Raćkowska Emilia, Korytowska Natalia, Olczak-Kowalczyk Dorota. Salivary antioxidant status and oral cavity conditions in children and adolescents. *New Med* 2019; 23(4): 145-151 doi. <https://doi.org/10.25121/NewMed.2019.23.4.145>.

Po czterech publikacjach Doktorantka w rozdziale Podsumowanie przedstawia treści zawarte w nich zawarte, co ułatwia czytelnikowi całościowe spojrzenie na analizowany problem badawczy.

W pierwszej publikacji została przedstawiona wiedza na temat zjawiska polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism* – SNP) w etiologii próchnicy zębów. Spośród 30 zakwalifikowanych do przeglądu badań 21 publikacji są doniesieniami o istotnym statystycznie wpływie SNP na występowanie próchnicy zębów. Autorka podkreśla, że w badaniach tych należy uwzględniać takie parametry jak: wiek pacjentów, rodzaj uzębienia, częstotliwość występowania rzadszego allelu. Doktorantka zwraca uwagę na trudności w interpretacji wyników badań, które są rzadko prowadzone i trudno porównać wyniki badań.

W drugiej publikacji systematyczny przegląd piśmiennictwa dotyczył związku wybranych peptydów i białek ślinowych z występowaniem próchnicy zębów u dzieci i młodzieży. W przeglądzie Doktorantka uwzględniła 15 prac dotyczących glikoprotein śliny, głównie IgA, IgM i IgG, 6 prac dotyczyło peptydów antybakteryjnych oraz 3 prace dotyczyły enzymów ślinowych. W wyniku analizy powyższych prac Doktorantka podaje, że monitorowanie stężeń peptydów i białek ślinowych może być wykorzystane w diagnostyce, kontroli progresji oraz monitorowania ryzyka choroby próchnicowej zębów. Natomiast w obecnym stanie wiedzy pomiar konkretnego peptydu czy białka ślinowego nie może być uznane za marker choroby próchnicowej zębów.

W trzeciej publikacji Doktorantka przedstawia wyniki badań przeprowadzone wśród 130 pacjentów, u których odnotowała wartość wskaźnika PUWZ>0 u 93% pacjentów biorących udział w badaniu, natomiast aktywne ubytki próchnicowe obecne były u ponad 69% pacjentów. W badaniu określiła stężenie ślinowej anhidrazy węglanowej VI (ang. *carbonic anhydrase VI* – CAVI) oraz SNP w trzech lokalizacjach kodującego ją genu oraz ich odniesienie do występowania próchnicy zębów i właściwości śliny. Wyniki trzeciego artykułu

wykazały dodatnią korelację konsystencji śliny oraz obecności bakterii kariogennych (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.*) oraz negatywną korelację ślinowego pH i pojemności buforowej z występowaniem próchnicy zębów. Doktorantka zaobserwowała związki stężenia ślinowego CAVI z aktywną próchnicą.

W czwartym artykule zostały przeprowadzone przez Doktorantkę badania właściwości śliny, tj. wydzielanie śliny spoczynkowej (niestymulowanej), całkowitego potencjału antyoksydacyjnego oraz aktywności antyoksydacyjnej u 87 pacjentów. Doktorantka oceniła wskaźniki PUWZ oraz PUWP, białe plamy próchnicowe, stan higieny jamy ustnej oraz stan dziąseł. Podjęła próbę określenia relacji pomiędzy statusem antyoksydacyjnym, określonym za pomocą dwóch parametrów – TAC oraz FRAP a stanem jamy ustnej (poziomem higieny, stanem dziąseł oraz uzębienia). Uzyskane w badaniu wyniki, wraz z ich porównaniem do literatury wskazują, że zależności te nie są do końca wyjaśnione. Obniżony poziom TAC, odnotowała w przeprowadzonym badaniu u pacjentów z wysoką intensywnością próchnicy zębów. Stwierdzona została istotna zależność TAC/FRAP z przepływem śliny niestymulowanej. Doktorantka uzyskała wyższe wartości powyższych parametrów przy niskim przepływie śliny. Wykazała, że potencjał antyoksydacyjny śliny jest skorelowany z wiekiem pacjenta.

Rozdział Podsumowanie świadczy o umiejętności Doktorantki do przeprowadzenia naukowej analizy w oparciu o badania własne i ich weryfikacji z doniesieniami innych autorów.

Na podstawie przeprowadzonych badań oraz ich analizy Doktorantka wyciąga pięć wniosków, które odpowiadają na postawione w celu pracy założenia badawcze. Lek. dent. Paula Piekoszewska-Ziętek stwierdziła, że zarówno czynniki genetyczne i środowiskowe mają znaczenie w etiologii choroby próchnicowej u dzieci i młodzieży, a ich wzajemne oddziaływanie sugeruje wspólne ich rozpatrywanie w określaniu ryzyka próchnicy u pacjenta. Wysoka intensywność próchnicy wiąże się u pacjentów z wysokim mianem bakterii kariogennych (*S. mutans* i *Lactobacillus spp.*) oraz z nieprawidłowymi właściwościami śliny, takimi jak pH, pojemność buforowa, konsystencja i przepływ. Polimorfizm pojedynczego nukleotydu w genie dla anhidrazy węglanowej VI może wpływać na ekspresję genu, przyczyniając się do zróżnicowania właściwości śliny, takich jak jej przepływ czy pojemność buforowa. Te parametry wiążą się z ryzykiem choroby próchnicowej. Jakkolwiek nie ma bezpośredniego związku SNP z intensywnością próchnicy zębów. Stężenie ślinowe anhidrazy węglanowej VI jest istotnie niższe u pacjentów z aktywną chorobą próchnicową.

Poszczególne stany w jamie ustnej (próchnica zębów, zapalenie dziąseł, zły stan higieny) mogą powodować stres oksydacyjny i wpływać na status antyoksydacyjny pacjentów a na status antyoksydacyjny ma wpływ wiek pacjentów.

Piśmiennictwo wykorzystane we wstępie obejmuje 23 pozycje w przeważającej liczbie anglojęzyczne, piśmiennictwo wykorzystane w podsumowaniu obejmie 52 pozycje również w przeważającej liczbie anglojęzyczne. Tematyka cytowanych publikacji jest ściśle związana z zagadnieniami omawianymi w rozprawie doktorskiej.

Na przeprowadzenie badań Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym nr KB/194/2015.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę na zdanie na str. 12 – wersy 21-24, w którym to zdaniu sugerowałam bym poprawę stylu lub uzupełnienie treści w celu lepszego przekazu informacji. Na stronach: 54 – wers 7, 56 – wers 1, 57 – wers 8 należy skorygować błędy literowe. Na stronie 60 skorygowałabym treść podtytułu. Uwagi te nie wpływają na wartość merytoryczną pracy.

Rozprawa stanowi logiczną całość, świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań naukowych, szczegółowej prezentacji wyników badań oraz dużej zdolności ich interpretacji a także ostrożnego, popartego dowodami naukowymi wyciągania wniosków. Potwierdzają to 3 publikacje w czasopismach o zasięgu międzynarodowym indeksowanych w bazie PubMed oraz 1 publikacja w Wydawnictwie <sup>©</sup>Borgis, o łącznym współczynniku IF=6,378; MNISW=230, gdzie Doktorantka jest pierwszym Autorem, jak również o umiejętności współpracy z naukowcami z innych dyscyplin naukowych – badania genetyczne oraz laboratoryjne.

Podsumowując stwierdzam, że praca ma nowatorskie ujęcie zagadnień związanych z chorobą próchnicową zębów. Podjęty przez Doktorantkę temat jest ciekawy a w piśmiennictwie polskim stosunkowo mało zbadany. Doktorantka wykazała się dobrą znajomością zagadnień zawartych w rozprawie doktorskiej i umiejętnością prowadzenia analiz naukowych.

Rozprawa doktorska lek. dent. Pauli Piekoszewskiej-Ziętek spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. 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 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie

wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r poz.1669 z późn. zm.). Na tej podstawie składam do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego **wniosek o dopuszczenie** lek. dent. Paulę Piekoszewską-Ziętek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej ze względu na podjęcie się przez Doktorantkę określenia czynników genetycznych mających wpływ na rozwój choroby próchnicowej zębów, co jest szczególnie cennym badaniem naukowym. Zestawienie przeglądu systematycznego, uzyskane wyniki badań oraz ich interpretacja wnoszą istotny wkład do poszerzania wiedzy, która może być wykorzystana dla dobra pacjentów i pozwoli na określenie wiodących czynników ryzyka próchnicy zębów w populacji dzieci i młodzieży.

*Dr hab. n. med. Elżbieta Pels*

*Dr hab. n. med. Elżbieta Pels*  
lek. stomatologii ogólnej  
specjalista stomatologii zachowawczej,  
5479847  
*Elżbieta Pels*