

Warszawski Uniwersytet Medyczny
Zakład Stomatologii Dziecięcej
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Dorota Olczak-Kowalczyk
Tel (+22) 502 20 31, email: pedodoncja@wum.edu.pl
00-246 Warszawa, ul. Miodowa 18

Recenzja rozprawy doktorskiej pt.

„Ocena stanu jamy ustnej, z uwzględnieniem wybranych parametrów odporności nieswoistej oraz potrzeb leczniczych, dzieci dotkniętych *osteogenesis imperfecta*”

lek. dent. Agnieszki Kozubskiej

Promotor pracy: prof. dr hab. n. med. Joanna Szczepańska

Katedra i Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Istotą wrodzonej łamliwości kości są zaburzenia w budowie kolagenu typu I, które mogą być przyczyną uszkodzeń struktury i upośledzenia funkcji różnych narządów i układów. Oprócz kruchości i łamliwości kości, objawami tej choroby może być także niski wzrost, deformacje układu szkieletowego, niedosłuch, ścieńczenie skóry i wiotkość stawów a także nieprawidłowości w obrębie narządu żucia, w tym wady zgryzu i zaburzenia rozwoju zębiny. Przebieg kliniczny, rodzaj i nasilenie objawów oraz rokowanie są różne w poszczególnych typach *osteogenesis imperfecta*. Wszystkie jednak są przyczyną bólów stawowych i kostnych, oraz ograniczeń sprawności pacjentów. Niestety nie ma możliwości wyleczenia tej choroby. Brakuje także skutecznego leczenia przyczynowego. Głównym celem aktualnie stosowanych terapii jest dążenie do poprawy jakości życia pacjentów i jak najdłuższego utrzymania ich sprawności, nie tylko poprzez zapobieganie złamaniom i deformacjom szkieletowym, ale także poprzez zapewnienie prawidłowej funkcji narządu żucia i estetyki twarzy. Dlatego tematykę pracy lek. dent. **Agnieszki Kozubskiej** uważam za ważną zarówno punktu widzenia naukowego jak i klinicznego.

W skład pracy wchodzi 12 rozdziałów ujętych na 135 stronach, poprzedzonych spisem treści. Zasadniczą część pracy stanowią rozdziały „przegląd piśmiennictwa”, „cele badań”, „materiał i metody”, „wyniki badań” oraz „omówienie wyników i dyskusja”, „podsumowanie wyników” i „wnioski” zajmujące 80 stron. Spis piśmiennictwa został umieszczony na końcu pracy jako rozdział dwunasty. Zawiera 213 pozycji, w większości anglojęzycznych.

Piśmiennictwo jest właściwie dobrane do tematyki pracy. Rozdziały od IX do XI stanowią streszczenia w języku polskim i angielskim, załączniki (Uchwała Komisji Bioetycznej przy UM w Łodzi, wzory dokumentów i karty badań wykorzystywanych przez Kandydatkę) oraz spis tabel i rycin. Doktorantka nie stworzyła spisu skrótów używanych w pracy wyjaśniając jednak ich znaczenie w tekście.

Praca zawiera 22 ryciny i 31 tabel umieszczonych w rozdziałach „przegląd piśmiennictwa”, „materiał i metoda” oraz „wyniki”.

„Wstęp” stanowi krótkie wprowadzenie w tematykę pracy. Dokładne omówienie zagadnień związanych z tematem pracy zawiera rozdział pt. „Przegląd piśmiennictwa” obejmujący 23 strony. W pierwszej części rozdziału Doktorantka zawarła informacje dotyczące *osteogenesis imperfecta*, w tym jej etiopatogenezy, stosowanych klasyfikacji oraz objawów ogólnoustrojowych i występujących w narządzie zucia. Zwróciła uwagę na związek *osteogenesis imperfecta* z *dentinogenesis imperfecta*, charakteryzując także tę jednostkę chorobową, oraz na inne patologie w obrębie twarzoczaszki, np. częste występowanie wad zgryzu i wrodzonego braku zawiązków zębów, skłonność do ektopowego wyrzynania zębów, trójkątny kształt twarzy, wydatną kość czołową. Omówiła sposób diagnozowania i leczenia zarówno *osteogenesis imperfecta* jak i *dentinogenesis imperfecta*. Opisała obecnie stosowane terapie (m.in. leczenie bifosfonianami i hormonem wzrostu) oraz aktualne badania nad lekami, które być może będą mogły być stosowane w przyszłości. Drugą część rozdziału Doktorantka poświęciła na przedstawienie znaczenia śliny oraz czynników obrony nieswoistej (defensyny, katelicyny, lizozymu) oraz swoistej (wydzielniczej IgA) w utrzymaniu zdrowia jamy ustnej, zwłaszcza ich roli w mechanizmach obrony przeciwpróchnicowej. Zagadnienia omówione w rozdziale „przegląd piśmiennictwa” uzasadniają sformułowane przez Doktorantkę cele pracy i wybór zastosowanych przez nią metod badawczych.

Celami pracy były „ocena stanu uzębienia i potrzeb leczniczych dzieci z wrodzoną łamliwością kości” oraz „analiza stężeń defensyn hBD1 i hBD2, katelicyny LL-37, lizozymu oraz sIgA w surowicy krwi i w ślinie dzieci z *osteogenesis imperfecta* oraz w grupie porównawczej u dzieci zdrowych”.

W rozdziale „Materiał i metody”, w części dotyczącej badań klinicznych, Doktorantka podała miejsca realizacji badań, sposób pozyskiwania zgód rodziców/opiekunów prawnych pacjentów, liczebność badanej grupy i zakres wieku badanych (od 6. miesiąca do 18. roku życia) oraz strukturę badanej grupy w zależności od płci (32 chłopców i 30 dziewcząt), rodzaju uzębienia (21 osób z uzębieniem mlecznym, 35 z mieszanym i 6 ze stałym) i typu *osteogenesis imperfecta* (28 z typem I, 2 z typem II, 20 z typem III i 12 z typem IV).

Niezręcznie jest użyte określenie „struktura badanego materiału” (opis tabeli 5), które powinno być zmienione na „struktura badanej grupy pacjentów”. Korzystne byłoby także podanie średniej wieku pacjentów i odchylenia standardowego oraz liczb dzieci z uzębieniem mlecznym, mieszanym i stałym w poszczególnych typach *osteogenesis imperfecta*. W opisie metodyki badania klinicznego Doktorantka przedstawiła

- zakres badania podmiotowego, który uwzględniał zarówno pytania dotyczące przebiegu ciąży i parametrów okołoporodowych dziecka, jego ogólnego stanu zdrowia, w tym objawów *osteogenesis imperfecta*, oraz pytania o zachowania zdrowotne w zakresie zdrowia jamy ustnej, termin wyrzynania zębów, obecność parafunkcji i dysfunkcji, przebyte urazy zębów;
- elementy badania przedmiotowego, w tym zewnątrzustną ocenę obecności cech *osteogenesis imperfecta*, i wewnątrzustną, która uwzględniała ocenę funkcji narządu żucia, warunków zgryzowo-zwarciovych oraz stanu uzębienia dotyczącą liczby zębów, próchnicy (obliczano wskaźnik puw/PUW), starć zębów z zastosowaniem wskaźnika Broca i *dentinogenesis imperfecta*.

W metodyce badań nie uwzględniła diagnostyki radiologicznej co uzasadniła brakiem wskazań lub niewyrażeniem zgody przez rodziców. Brak diagnostyki radiologicznej uniemożliwia jednak potwierdzenie wstępnego, klinicznego rozpoznania wielu wad rozwojowych, zwłaszcza braku zawiązków zębów. Doktorantka nie omówiła także metodyki diagnozowania wad zgryzu oraz nie podała źródeł literaturowych wykorzystanych wskaźników. W części rozdziału dotyczącej metodyki badań laboratoryjnych przedstawiła dane dotyczące liczebności grup pacjentów w grupie z *osteogenesis imperfecta* i w grupie porównawczej (po 30 pacjentów) oraz sposób podziału w celu analizy statystycznej, tj. w zależności od płci, obecności *dentinogenesis imperfecta*, stopnia ciężkości *osteogenesis imperfecta* oraz obecności tej choroby. Od grupy tej pobierano ślinę. Próbkę krwi pobrano w grupie *osteogenesis imperfecta* i od mniejszej liczby pacjentów (n=20). Doktorantka nie podała wieku pacjentów biorących udział w badaniach laboratoryjnych. Bardzo dokładnie opisała sposób pobierania materiału do badań, jego przechowywania i przygotowania do testów immunoenzymatycznych Elisa umożliwiających określenie poziomu badanych czynników odporności nieswoistej oraz wydzielniczej IgA. Łącznie wykonała 400 oznaczeń, stężenie czynników obliczała na podstawie krzywych kalibracyjnych. Przedstawiła także dobór metod statycznych do analiz uzyskiwanych wyników.

Wyniki badań przedstawiła w formie opisu, 23 zestawień tabelarycznych i 14 rycin (wykresów i fotografii). Prezentację wyników badań klinicznych rozpoczęła od powtórzenia

danych charakteryzujących grupę. Następnie przedstawiła wyniki dotyczące częstości porodu przedwczesnego i niskiej masy urodzeniowej, chorób ogólnych oraz objawów *osteogenesis imperfecta*, sposobów leczenia i nawyków higieniczno-dietetycznych, podkreślając dużą częstość zachowań antyzdrowotnych. Przedstawiła stan uzębienia 13 dzieci/młodzieży? urodzonych przedwcześnie i 13 z niską masą urodzeniową, nie porównując go ze stanem uzębienia osób urodzonych o czasie i z wyższą niż 2500 g masą urodzeniową. Nie podała także liczby badanych którzy posiadają zęby stałe co utrudnia interpretację informacji o wystąpieniu u 2 pacjentów przedwczesnego wyrzynania zębów stałych. Zgodnie z przyjętą metodyką przedstawiła wyniki badań klinicznych. Wykazała częste występowanie niebieskich twardówek, rzadsze trójkątnego kształtu twarzy i wad zgryzu, bez określenie ich rodzaju. Cenne są dane dotyczące występowania *dentinogenesis imperfecta* i starć zębów w poszczególnych typach *osteogenesis imperfecta* i w zależności od rodzaju uzębienia jednak ich wartość podniosłaby wiedza o liczbach pacjentów posiadających zęby stałe i mleczne w każdej z podgrup. Doktorantka wykazała także mniejszą podatność na próchnicę zębów z niecałkowitym rozwojem zębiny. Jednocześnie nie odnotowała istotnych statystycznie zależności między ocenianymi parametrami obrony nieswoistej i swoistej w ślinie i surowicy krwi a *osteogenesis imperfecta*, jej nasileniem, występowaniem *dentinogenesis imperfecta* i płcią. Zauważyła tylko wzrost poziomu IgA w ślinie z wiekiem pacjentów.

W rozdziale „Omówienie wyników badań i dyskusja”, liczącym 15 stron, Doktorantka omówiła kolejno wyniki badań własnych zestawiając je z danymi z piśmiennictwa. Szczególne znaczenie dla lekarzy dentystów ma część rozdziału poświęcona objawom w układzie stomatognatycznym. Autorka zwróciła w niej uwagę na związek między nieprawidłowościami budowy zębiny skłonnością do starć zębów i mniejszą ich podatnością na czynnik kariogenne oraz większe nasilenie choroby w uzębieniu mlecznym. Zobrazowała także duże zróżnicowanie wyników badań własnych i innych autorów dotyczących częstości występowania innych patologii układu stomatognatycznego, w tym zaburzeń czasu wyrzynania zębów, wad zgryzu, parafunkcji i dysfunkcji.

Doktorantka sformułowała 3 wnioski, świadczące o realizacji postawionych celów pracy:

1. Pomimo złych nawyków żywieniowych i higienicznych oraz patologicznej budowy uzębienia (nieprawidłowa budowa zębiny, szkliwo ulegające odkruszeniu, co prowadzi do szybkiego starcia korony) pacjentów z wrodzoną łamliwością kości, wskaźniki próchnicy u tych dzieci kształtowały się na niskim poziomie w porównaniu z badaniami populacyjnymi odpowiednich grup wiekowych.

2. Wyniki badań laboratoryjnych śliny i surowicy krwi pod kątem stężeń defensyn hBD1 i hBD2, katelicydyny LL-37, lizozymu oraz sIgA wskazują, że istnieje potrzeba dalszych badań laboratoryjnych, które mogłyby wyjaśnić niskie poziomy próchnicy u dzieci z *ostogenesis imperfecta*, a tym samym przełożyć te spostrzeżenia na ograniczenie wysokich wskaźników próchnicy u dzieci niedotkniętych tą patologią.
3. Wzrost stężenia sIgA w ślinie wraz z wiekiem pacjentów (z *ostogenesis imperfecta* i zdrowych) może świadczyć o dojrzewaniu układu odporności swoistej w miarę upływu lat lub może odzwierciedlać wpływ środowiska zewnętrznego, m.in. kontakt z takimi patogenami jak np. drobnoustroje próchnicotwórcze.

W podsumowaniu stwierdzam, że Doktorantka zgłębiła wiedzę dotyczącą *ostogenesis imperfecta* i zrealizowała postawione przed sobą cele badań. Wartość merytoryczną pracy podniosłoby jednak dokładniejsze scharakteryzowanie grupy badanej, zwłaszcza podanie liczby badanych w wyodrębnianych podgrupach w zależności od rodzaju uzębienia, uzyskiwanie danych dotyczących typu *ostogenesis imperfecta* z dokumentacji medycznej pacjentów a nie od rodziców/opiekunów prawnych, co jak sama przyznaje jest ograniczeniem pracy i przyczyną „nieścistości”, a także porównywanie danych dotyczących poziomu i frekwencji próchnicy, najlepiej do równoległe badanej grupy kontrolnej, lub ewentualnie do aktualnych danych epidemiologicznych, nie tych sprzed lat.

Przedstawione uwagi nie umniejszają wartości badań przeprowadzonych przez Doktorantkę. Wyniki badań przedstawione w pracy „Ocena stanu jamy ustnej, z uwzględnieniem wybranych parametrów odporności nieswoistej oraz potrzeb leczniczych, dzieci dotkniętych *osteogenesis imperfecta*” uważam za cenne, wnoszące wiele informacji naukowych jak i praktycznych. Dlatego zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lek. dent. Agnieszki Kozubskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku,

KIEROWNIK
ZAKŁADU STOMATOLOGII DZIECIĘCEJ

Prof. dr hab. n. med. Dorela Okczak-Kowalczyk