



Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt
Zakład Anatomii Zwierząt
ul. Koźuchowska 1, 51-631 Wrocław
tel./fax (071) 3205-741
NIP 896-000-53-54

Wrocław, 7 maja, 2015.

OCENA

rozprawy doktorskiej lek. dent. Łukasza Palki pt. "Ocena porównawcza obliteracji kanalików zębinowych po zastosowaniu własnej kompozycji farmaceutycznej- badania *in vitro*"

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska wykonana została w Zakładzie Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem dr hab. n. med. Zbigniewa Rybaka i dr n. med. Macieja Dobrzyńskiego z Katedry i Zakładu Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

W pracy autor przedstawił wyniki badań dotyczących obliteracji kanalików zębinowych w wyniku zastosowania autorsko opracowanej kompozycji farmaceutycznej opartej na monomerach endogennych, którą porównał do preparatów powszechnie stosowanych. Autor posiadał niezbędną do tego typu badań zgodę Komisji Bioetycznej (nr KB- 230/2014), aczkolwiek muszę stwierdzić, że w przedstawionej mi dokumentacji brakuje jej kopii.

Praca zawiera 87 stron tekstu (w tym 15 stron wstępu, cele pracy 2 strony, materiał i metody 16 stron, wyniki 20 stron, dyskusja 5 stron). W pracy zamieszczono 19 rycin i 3 tabele. Praca została opracowana według powszechnie przyjętego układu.

Rozprawa zaczyna się spisem treści, po czym autor we wstępie definiuje zjawisko nadwrażliwości zębiny, oraz stosunkowo szeroko uzasadnia celowość podjętych badań.



W tym samym rozdziale, w odpowiednio wydzielonych podrozdziałach, opisane zostały mechanizmy powstawania nadwrażliwości, metody jej leczenia, budowa histologiczna i fizjologia niektórych tkanek zęba tj. miazgi oraz zębiny.

W kolejnym rozdziale autor w sposób jasny i zwięzły określa cele przyświecające podjętym badaniom. Są nimi kolejno- opracowanie własnej kompozycji farmaceutycznej złożonej z biozgodnych i biodegradowalnych związków chemicznych, sprawdzenie czy zastosowanie własnej kompozycji na bazie hydroksyapatytu może skuteczne oraz trwale obliterować kanaliki zębinowe, porównanie własnej kompozycji farmaceutycznej z innymi dostępnymi powszechnie środkami desensytyzującymi, oraz w końcu ocena trwałości powłoki ochronnej wytworzonej na powierzchni zębiny po zastosowaniu własnej kompozycji podczas inkubacji w roztworze sztucznej śliny. Reasumując, celem badań było określenie potencjalnej przydatności nowego preparatu do zastosowania klinicznego. Zasluguje więc na podkreślenie fakt, że wyniki badań mają charakter jak najbardziej praktyczny.

W rozdziale „Materiał i metody” doktorant wyszczególnia i charakteryzuje preparaty komercyjne użyte w doświadczeniu, oraz opisuje proces wytworzenia kompozycji własnej. Na marginesie należy zauważyć, że formuła ta powinna zostać objęta ochroną patentową. W tym miejscu należy też stwierdzić, że ryciny przedstawiające widma oscylacyjne poszczególnych związków chemicznych powinny zostać wyodrębnione jako kolejne ryciny, a nie ujęte zbiorczo. W tym też rozdziale opisano także metodykę badania preparatów komercyjnych począwszy od naniesienia materiałów na powierzchnie zębowe aż po obserwacje mikroskopowe i analizę składu pierwiastkowego. W eksperymencie wykorzystano 40 ludzkich zębów, usuniętych ze wskazań ortodontycznych. Z zębów za pomocą separatora diamentowego wycięto dyski szkliwno-zębinowe o grubości 2 mm. Następnie dyski zostały wypolerowane, wypłukane i wreszcie wytrawione 40% kwasem cytrynowym w celu usunięcia warstwy mazistej oraz kompletnego otwarcia kanałków zębinowych. Każdy z dysków został nacięty wzdłuż dwóch prostopadłych do siebie osi przebiegających przez środek, a uzyskane fragmenty podzielone na cztery grupy w celu porównawczej oceny zdolności obliteracyjnych trzech komercyjnych preparatów desensytyzujących, powszechnie



stosowanych w stomatologii oraz preparatu autorskiego. Uzyskane próby poddano skaningowej mikroskopii elektronowej. Badanie SEM zostało wykonane przed i po zastosowaniu badanych preparatów. Po badaniu, z każdej grupy losowo wybrane 4 dyski zostały zanurzone w roztworze sztucznej śliny na okres czterech tygodni, a następnie poddane badaniu pod mikroskopem skaningowym. Doktorant posłużył się nowoczesną aparaturą badawczą korzystając z usług kilku renomowanych laboratoriów i pracowni, dysponujących wysokiej klasy sprzętem, ale także doświadczeniem w prowadzeniu tego typu badań. Nadaje to pracy charakter interdyscyplinarny, który jest absolutnie niezbędny przy prowadzeniu badań na wysokim, światowym poziomie. Ponieważ analiza pierwiastkowa EDS służy do oceny powierzchniowego rozkładu pierwiastków w tym akurat wypadku wydaje się metodą najwłaściwszą i zupełności wystarczającą. Zastosowaną metodykę należy uznać za odpowiednią, nowoczesną i optymalną dla tego typu badań.

W rozdziale „Wyniki” autor zaprezentował rezultaty swoich badań. Wykazał zdolność opracowanego przez siebie preparatu do obliteracji kanalików zębinowych i porównał go z wybranymi materiałami desensytyzującymi dostępnymi na rynku. Oceniał także trwałość powłoki ochronnej wytworzonej na powierzchni zębiny po zastosowaniu własnej kompozycji oraz wybranych preparatów desensytyzujących podczas inkubacji w roztworze sztucznej śliny w różnych przedziałach czasowych. Wykazano, że autorska kompozycja farmaceutyczna tworzy na powierzchni zębiny warstwę zbudowaną z kryształów hydroksyapatytowych wielkości 10-20µm, a także mniejszych kryształów o wielkości 0,5-1µm skutecznie obliterujących światło kanalików zębinowych. Należy zauważyć, że kryształy te mogą stanowić potencjalny rezerwuuar jonów fosforanowych oraz wapniowych. Trwałość uzyskanej powłoki ochronnej po zastosowaniu własnej kompozycji określono na podstawie obecności zarówno większych jak i mniejszych kryształów po zanurzeniu na okres 24 godz., 48 godz. oraz 7 dni w roztworze sztucznej śliny. Inne testowane preparaty nie wykazały się podobną trwałością działania. Na szczególne uznanie zasługują zamieszczone w tym rozdziale zdjęcia wykonane z pod elektronowego mikroskopu skaningowego.

W rozdziale zatytułowanym „Dyskusja” dokonano konfrontacji wyników własnych z piśmiennictwem międzynarodowym. Ponieważ w obecnej chwili prowadzonych jest w



różnych ośrodkach naukowych wiele badań nad zastosowaniem poliestrów endogennych monomerów takich jak glicerol, ksylitol, kwasy mlekowy, cytrynowy, sebacynowy czy bursztynowy dyskusja oparta jest w znacznej mierze na piśmiennictwie aktualnym, pochodzącym z lat po roku dwutysięcznym.

Jako wynik przeprowadzonych badań doktorant formułuje cztery wnioski. Są one jasne i zwięzłe. Szczególnie istotny jest wniosek czwarty, ponieważ skoro uzyskana kompozycja własna cechuje się, w świetle przeprowadzonych badań, lepszymi właściwościami niż preparaty będące na rynku to wydaje się celowym podjęcie kolejnych badań, których efektem końcowym powinna być komercjalizacja.

W pracy doktorant zamieścił 206 pozycji piśmiennictwa, co należy uznać za ilość dużą, jeśli nieimponującą. Świadczy to bez wątpienia o dogłębnej analizie problemu podjętej przez doktoranta. Są to w zdecydowanej większości prace oryginalne pochodzące z ostatnich lat, a zatem dające odpowiedni obraz współczesnych badań przedmiotu. Piśmiennictwo cytowane jest w sposób właściwy.

Praca nie zawiera poważnych błędów, tym nie mniej nie ustrzegł się jednak doktorant pewnych niedociągnięć, które nie mają jednak, w mojej opinii, wpływu na wartość merytoryczną pracy. Błędy te powinny zostać oczywiście poprawione przed rozpoczęciem procesu publikacyjnego. Odnoszę wrażenie, że podrozdział 3.7.3. „Metody statystyczne” został potraktowany niejako po macoszemu. Nie sprecyzowano, jakie sekwencje i jakie zdjęcia są poddawane analizie. Można, co prawda domniemywać, że chodzi tu o obrazy uzyskane spod mikroskopu skaningowego, jednak powinno to zostać precyzyjnie stwierdzone. Pewna niedokładność dotyczy także wielkości badanych cząsteczek. Mianowicie w rozdziale 2. „Cel” na stronie 22-giej doktorant stwierdza, że obiektem badania będą cząsteczki hydroksyapatytu o kryształach $\leq 200\text{nm}$ i podobnie w rozdziale 4 „Wyniki” obserwowane są kryształy o wielkości około 200nm znajdujące się w kanalikach zębinowych. Tymczasem we wniosku nr 2 (str. 68) stwierdza się, że stosowano kryształy o wielkości 300nm i podobnie w rozdziale 7. „Streszczenie” na stronie 69 mowa jest o cząsteczkach wielkości 300nm . Oczywiście cząstki o wielkości zbliżonej bądź równej 200nm są mniejsze od cząsteczek 300nm , warto jednak było by doprecyzować, jaka była istotnie



wielkość kryształów w opracowanej formule. Z kolei na str. 14 zamiast „...Leczenie nadwrażliwości mających na celu...” powinno być „...Leczenie nadwrażliwości mające na celu...”. Na stronie 15 autor określa układ włókien kolagenowych jako bezwładny, gdy tymczasem nie używa się takiego sformułowania do opisywania układu formacji histologicznych i stąd też układ ten należy nazwać np. nieregularnym z uwagi na brak możliwości wyodrębnienia grup włókien kolagenowych układających się podobnie. Opisujać zaopatrzenie nerwowe miazgi doktorant czasem używa nazw łacińskich, a czasem nie, przy czym nie można wyróżnić kryterium jakim się kieruje. Uważam, że skoro używa się nazwy łacińskiej np. dla zwoju skrzydłowo-podniebiennego i zwoju usznego to należy też jej użyć także dla nerwu trójdzielnego i zwoju trójdzielnego.

Jak już wspomniałem powyższe uwagi nie mają większego znaczenia dla samej wartości pracy, którą oceniam bardzo wysoko między innymi ze względu na jej aplikacyjne możliwości. Pozostaje mieć nadzieję, że jak największa ilość badań związanych z przewodami doktorskimi będzie miała taki potencjał rozwojowy jak zaprezentowana przez doktoranta praca. W związku z powyższym stwierdzam, że praca zatytułowana ” *Ocena porównawcza obliteracji kanalików zębinowych po zastosowaniu własnej kompozycji farmaceutycznej- badania in vitro* ” stanowi wartościowy i twórczy wkład w nauki medyczne i spełnia warunki określone art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. dent. Łukasza Pałkę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Zakładu Anatomii Zwierząt
dr hab. Maciej Janeczek
specjalista chirurg