



Poznań, 31.01.2023

RECENZJA
rozprawy doktorskiej
lek. dent. Anny Han

pt. „Otrzymywanie i badanie nowych układów biokompozytowych dla stomatologii jako uzupełnień struktur tkankowych w medycynie spersonalizowanej na bazie resorbowalnych polimerów”

Kość stanowi jedną z najczęściej przeszczepianych tkanek u człowieka, między innymi podczas zabiegów z zakresu chirurgii stomatologicznej, chirurgii szczękowo-twarzowej, chirurgii plastycznej czy ortopedii. Pomimo dużych zdolności samoregeneracji tkanki kostnej, niestety przy znacznej utracie objętości struktury kostnej, np. po złamaniu, resekcji czy w przypadku rozległych torbieli, brakujące fragment nie ulegają regeneracji. Niezbędna wówczas staje się konieczność augmentacji kości. Procedurę tą stosuje się także w procesie kompleksowej rehabilitacji narządu żucia z wykorzystaniem implantów stomatologicznych, gdy utrata zębów oraz związana z tym resorpcja podłoża kostnego utrudnia bądź uniemożliwia proces terapeutyczny. Należy podkreślić, iż rozległe zaniki kostne oraz stale zwiększające się oczekiwania pacjentów w zakresie estetyki stanowią ogromne wyzwanie dla lekarzy dentystów.

Aktualnie w medycynie dostępny jest stosunkowo duży zasób materiałów do rekonstrukcji kości, przy czym niejednokrotnie odbudowa tkanki kostnej nadal może stanowić spore wyzwanie. Dostępne na rynku materiały jak i metody leczenia ubytków kostnych wydają się nie do końca spełniać oczekiwania zarówno pacjentów jak i lekarzy. Stąd też przy połączeniu wiedzy z zakresu inżynierii tkankowej oraz osiągnięć terapii celowanej tworzone są możliwości pozyskania nowych tzw. „inteligentnych” kościozastępczych rusztowań z kontrolowaną funkcją miejscowego uwalniania leku.

Janeta

Przedstawiona do recenzji praca doktorska lek. dent. Anny Han powstała w ramach programu doktorat wdrożeniowy, edycja I (7/DW/2017/01/1). Dysertacja opracowana została, pod kierunkiem Promotora prof. dr hab. Rafała J. Wiglusza oraz Promotora pomocniczego profesora uczelni dr hab. n. med. Macieja Dobrzyńskiego, w postaci wydrukowanej monografii pt. „Otrzymywanie i badanie nowych układów biokompozytowych dla stomatologii jako uzupełnień struktur tkankowych w medycynie spersonalizowanej na bazie resorbowalnych polimerów”. Praca jest zgodna z ogólnie przyjętymi wymogami dla tego rodzaju opracowań i łącznie liczy 175 stron druku i obejmuje kolejno wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski, przypisy, skróty, streszczenie zarówno w języku polskim jak i angielskim oraz suplement. Ponadto zawarto w niej 17 tabel oraz 57 rycin w głównej części pracy oraz 35 w suplemencie. Piśmiennictwo obejmuje 240 pozycji, w tym 229 (95%) publikacji napisanych w języku angielskim oraz 11 (5%) opracowań naukowych w języku polskim.

W 31-stronnicowym wstępie Autorka zapoznała czytelnika z tematem projektu badawczego bardzo dokładnie opisując zagadnienia dotyczące ubytków kostnych w obrębie twarzoczaszki i metod ich regeneracji, wymagania stawiane substytutom kości, charakterystykę wybranych materiałów do produkcji biokompozytów hybrydowych, nanohydroksyapatyt i jego właściwości, komórki macierzyste, tkankę kostną oraz dostarczanie leków.

Cel badań został klarownie sformułowany przez Doktorantkę i dotyczył opracowania hybrydowych układów kompozytowych do regeneracji tkanki kostnej z funkcją modyfikowanego uwalniania leku oraz oceny właściwości fizykochemicznych, biologicznych i kinetyki uwalniania *in vitro* poprzez opracowanie metodyki badania dostępności farmaceutycznej. W pracy połączono dwie metody wytwarzania biomateriałów (metodę wytwarzania monolitów i metodę druku 3D - techniką FDM ang. Fused Deposition Modeling, czyli osadzanie stopionego materiału). Dzięki zastosowaniu metody druku 3D wytworzone materiały posiadały przestrzenną, porowatą mikrostrukturę naśladującą budowę i funkcje kości, na którą naniesione zostały komórki macierzyste z tkanki tłuszczowej. Dlatego też w opinii recenzenta wybór tematu pracy doktorskiej jest w pełni uzasadniony zarówno w aspekcie naukowym jak i klinicznym.

Materiał do badań stanowiły kompozyty, których osnowę tworzył polimer, tj. polilaktyd oraz polikaprolakton, a fazami modyfikującymi były różnej wielkości cząsteczki hydroksyapatytu pochodzenia syntetycznego. Poddany analizie materiał wytworzono w formie monolitu. Na kolejnych etapach badań, dzięki tzw. metodzie „hot melt extrusion”

czyli ekstruzji na gorąco, wytworzono filament zawierający cząsteczki leku. Przy pomocy druku 3D stworzono konstrukty przestrzenne, tzw. scaffoldy, a uzyskany materiał służył jako rusztowanie dla komórek macierzystych.

Wyniki badań Doktorantki przedstawione zostały w formie opisu, tabel oraz rycin. Graficzna prezentacja danych w znacznym stopniu ułatwia czytelnikowi odbiór treści opracowania.

Rozważania w rozdziale „Dyskusja” lek. dent. Anna Han przeprowadziła z bardzo dobrą znajomością tematu. Omawiając wyniki badań własnych Doktorantka zwróciła uwagę na najciekawsze i najważniejsze informacje. Dyskusja dowodzi, iż Autorka dobrze opanowała materiał badawczy i umiejętnie dokonała właściwej oceny wyników badań własnych w odniesieniu do danych uzyskanych przez innych naukowców.

Ponadto analiza uzyskanych przez Doktorantkę bardzo ciekawych wyników skłoniła Ją do wysunięcia interesujących wniosków. Na szczególną uwagę zasługują stwierdzenia, iż wielofunkcyjne materiały hybrydowe otrzymywane za pomocą technologii druku 3D wykazują przewagę nad materiałami z pojedynczą odpowiedzią i mają duży potencjał do zastosowania w inżynierii wyrostka zębodołowego; kontrolowanie uwalniania leku za pomocą nośnika polimerowego o znanym profilu uwalniania pozwala na analityczne dostosowanie mechanizmu dyfuzji, zapewniając bezpieczniejsze terapie; dzięki bezpośredniemu transportowi leku do tkanki kostnej ukierunkowane systemy dostarczania leków dają możliwość ulepszonej terapii.

Ponadto ciekawe jest, iż dodanie meloksykamu spowodowało, że uzyskany scaffold nie był zasiedlany przez drobnoustroje; otrzymany za pomocą druku 3D hybrydowy biokompozyt posiada działanie osteoindukcyjne, a zawarty w nim lek powoduje utrudnione zasiedlanie przez bakterie oraz działa przeciwzapalnie. Dodatkowo wykazano, że hamuje on wzrost komórek THP1 (monocytów wyizolowanych z krwi obwodowej od pacjenta z ostrą białaczką monocytową), które są modelem monocytów i stanu zapalnego. Natomiast otrzymany materiał stał się rusztowaniem dla multipotencjalnych komórek zrębu z tkanki tłuszczowej i wykazał różnicowanie w kierunku osteoblastów. Badania *in vitro* wykazały duży potencjał otrzymanych materiałów do regeneracji tkanki kostnej.

Szczególnie należy podkreślić wskazaną przez Autorkę możliwość wykorzystania uzyskanego materiału do terapii pacjentów. Doktorantka podała, że uzyskane wyniki zezwolą na przygotowanie wniosku dotyczącego zakwalifikowania otrzymanego prototypu produktu leczniczego jako produkt leczniczy terapii zaawansowanej - produkt inżynierii tkankowej, gdyż spełnia on wymagania zapisane w Rozporządzeniu (WE) nr 1394/2007 Parlamentu

Europejskiego i Rady z dnia 13 listopada 2007 r. w sprawie produktów leczniczych terapii zaawansowanej. Dodatkowo lek. dent. Anna Han zaznaczyła, iż w przypadku pozytywnego przejścia procedury rejestracyjnej zaprojektowany produkt zostanie pierwszym w Unii Europejskiej przeznaczonym do zastosowania w stomatologii, co niewątpliwie zezwoli na otwarcie nowych perspektyw dla rozwoju medycyny regeneracyjnej. Ponadto wskazano, iż zaprezentowane badania stały się już przedmiotem zgłoszenia patentowego o numerze P.442989.

W opinii recenzenta poruszony przez Doktorantkę problem jest bardzo ważny, a podjęty projekt posiada duże walory poznawcze zarówno w aspekcie naukowym jak i klinicznym. Natomiast przedstawione badania można uznać za nowatorskie, gdyż przeprowadzone zostały z wykorzystaniem nowoczesnego warsztatu naukowego.

Zaprezentowana do oceny praca doktorska stanowi logiczną całość oraz świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia badań naukowych, a także ich prezentacji. Uzyskane wyniki lek. dent. Anna Han przedstawiła w sposób czytelny, uporządkowany i syntetyczny, a także dobrze je udokumentowała, prezentując liczne ryciny. Ponadto uzyskała odpowiedzi na założone cele badania, które podsumowała w niezwykle interesujących wnioskach. Dodatkowo należy podkreślić umiejętność współpracy Doktorantki z innymi badaczami, czego dowodem są zaprezentowane wyniki wielodyscyplinarnych badań prowadzonych w kilku jednostkach naukowych, w tym w Centrum Badawczo-Rozwojowym NOVASOME, Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Katedrze i Zakładzie Technologii Postaci Leku Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

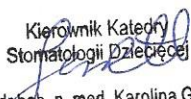
Jednak z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę, iż niestety Doktorantka nie ustrzegła się w dysertacji licznych uchybień językowych. Ponadto w spisie piśmiennictwa przedstawiła dwukrotnie niektóre z publikacji (np. na stronie 138 pozycje 6 i 7 - Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. J Clin Periodontol. 2005;32(2):212-8, na stronie 143 pozycje 65 i 66 - Gunatillake PA, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. Eur Cell Mater. 2003 20;5:1-16 oraz pozycje 68 i 69, czy na stronie 147 pozycje 126 i 127), bądź nie podała tytułów prac (pozycja 51, 63, 75, 126 i 179), czy też danych dotyczących czasopism, w których opracowania zostały zamieszczone (pozycja 111, 126). Należy przy tym podkreślić, iż wszystkie zaprezentowane spostrzeżenia nie umniejszają jednak wartości



merytorycznej rozprawy doktorskiej, która wnosi wiele cennych informacji. Tematyka przedstawionej do oceny pracy stanowi niezwykle istotny wkład w poszerzaniu wiedzy, która może zostać wykorzystana dla dobra pacjentów.

Podsumowując niniejszą recenzję uważam, iż przedłożona mi do oceny praca 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.). Stąd też zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z wnioskiem o przyjęcie pracy i dopuszczenie lek. dent. Anny Han do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w tym o dopuszczenie do publicznej obrony oraz jej wyróżnienie.

Z wyrazami szacunku


Kierownik Katedry
Stomatologii Dziecięcej
Prof. dr hab. n. med. Karolina Gerreth