



Prof. dr hab. inż. Katarzyna Chojnacka

Zakład Zaawansowanych Technologii Materiałowych

Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska

ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław

tel. +4871-3204325, fax. +4871-3203469; e-mail: katarzyna.chojnacka@pwr.edu.pl

Wrocław, 12.10.2018

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. dent. Eweliny Bryły

**pt. „Zawartość metali toksycznych w zatrzymanych zębach mądrości
oraz przylegającej tkance kostnej u mieszkańców powiatu
wrocławskiego i miasta Wrocławia”**

Podstawa opracowania recenzji:

Pismo prof. Joanny Rosińczuk - Dziekana Wydziału Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

w sprawie wykonania oceny rozprawy doktorskiej w zakresie nauk medycznych

Pani lek. dent. Ewelina Bryła wykonała pracę doktorską pod opieką dr hab. Mariusza Korczyńskiego, prof. UPWr. Promotorem pomocniczym był dr n. med. Maciej Dobrzyński. Rozprawa poświęcona jest badaniom biomonitoringowym regionu wrocławskiego z wykorzystaniem analizy mineralnej zębów mądrości i przylegającej tkanki kostnej. Zęby mądrości i tkanka kostna są odizolowane od środowiska jamy ustnej (śliny, żywności, pasty do zębów), stąd wyeliminowano czynniki dodatkowe, mające wpływ na skład mineralny matrycy. Badania biomonitoringowe dotyczyły skażenia środowiska miasta i powiatu wrocławskiego w ostatnich dziesięcioleciach. Biomonitoring jest użytecznym narzędziem oceny narażenia człowieka na pierwiastki toksyczne, ponieważ pokazuje nie tylko obecność zanieczyszczeń w środowisku (monitoring), ale presję wywołaną przez te zanieczyszczenia na organizm człowieka. Literatura naukowa podaje zresztą wiele przykładów użyteczności takich badań, np. akumulacji pierwiastków toksycznych w narządach i tkankach, np. ołowiu w kościach.

Praca dotyczy obszaru rozwijającej się dyscypliny naukowej stomatologii środowiskowej, która identyfikuje powiązania stanu zdrowia jamy ustnej z czynnikami

środowiskowymi. Doktorantka, słusznie wykorzystwała tkankę zmineralizowaną, jaką są zęby i kości, które stanowią trwały zapis zanieczyszczeń, na które jest narażony człowiek w różnych etapach życia – w tym przypadku na etapie kształtowania się zębów mądrości. Kandydatka do stopnia naukowego doktora, wskazała na źródła zanieczyszczeń pierwiastkami toksycznymi, w rejonie miasta Wrocławia, wymieniając przemysł emitujący m.in. cynk, ołów, kadm i chrom. Przedstawiła również dane statystyczne dotyczące poziomu tych zanieczyszczeń w środowisku oraz wskazała m.in. na podmioty gospodarcze, których emisja była źródłem obecności metali toksycznych w środowisku.

Wyniki przedstawiono w rozprawie liczącej 118 stron. Praca ma klasyczny układ. Składa się z części teoretycznej i doświadczalnej. Prawidłowo, przegląd piśmiennictwa identyfikuje luki w wiedzy i pozwala sformułować cel pracy. Omówienie literatury stanowi 24 % objętości pracy. To wartościowy fragment dysertacji, dobrze wprowadzający czytelnika w aktualny stan wiedzy, uzasadnia cel i zakres podjętych badań. Podział pracy na poszczególne części jest przejrzysty. Przegląd literatury jest pełny i odpowiada aktualnemu stanowi wiedzy.

Hipotezą badawczą postawioną w rozprawie było to, że analiza mineralna zębów stanowi zapis narażenia środowiskowego na metale toksyczne. Hipotezę tę wyciągnięto na podstawie dostępnych wyników analizy zębów mlecznych. Zęby te są jednak narażone na różne czynniki w środowisku jamy ustnej, które mają wpływ na skład pierwiastkowy zębów. Z tego powodu wybrano zęby mądrości, które są odizolowane od środowiska jamy ustnej. Zęby te powstają między 10 a 17 rokiem życia. Ich skład mineralny stanowi zatem odzwierciedlenie narażenia w tym wieku.

Doktorantka dokonała oceny zawartości pierwiastków toksycznych Pb, Cd, Cr, Ni, Fe, Mn, Cu i Zn w zębach mądrości oraz przylegającej tkance kostnej, pobranych od 60 pacjentów mieszkańców miasta Wrocławia (30) i powiatu wrocławskiego (30), w 3 grupach wiekowych. Wyznaczyła korelację pomiędzy zawartością metali w zębach i tkance kostnej. Dokonała analizy wpływu takich czynników jak: miejsce zamieszkania, wiek, płeć, lokalizacja anatomiczna zęba na zawartość pierwiastków. Zawartość Cd i Pb w biomonitorach została skorelowana z danymi WIOŚ i GUS dotyczącymi zanieczyszczenia środowiska. Doktorantka dokonała również histochemicznej detekcji kompleksów jonów w obrębie tkanek zmineralizowanych zęba. Został opracowany model matematyczny, w którym powiązano wyniki badań biomonitoringowych z monitoringowymi.

W przedstawionych wynikach (Ryc. 16, 20) wyraźnie widać rosnącą medianę dla zawartości Cd i Pb w zębach wraz z wiekiem pacjentów. Świadczy to o większym zanieczyszczeniu środowiska tym pierwiastkiem w ubiegłych latach. Doktorantka odnotowała silną korelację pomiędzy stężeniem kadmu i ołowiu w powietrzu a zawartością w zębach. Ponadto, Doktorantka wykazała, że zawartość Pb i Cd w zębie i tkance kostnej była istotnie wyższa u mieszkańców Wrocławia niż powiatu. Są to wartościowe wyniki badań, które stanowią o elemencie nowości rozprawy.

Autorka nie ustrzegła się potknięć w pracy: w opisie, nieścisłości sformułowań, czy błędów edycyjnych. Te drobne mankamenty nie mają istotnego wpływu na moją pozytywną ocenę merytoryczną rozprawy.

Zasadnicze uwagi i komentarze dotyczące rozprawy doktorskiej lek. dent. Eweliny Bryły przedstawiono poniżej. ***Uwagi stanowią zbiór pewnych otwartych sugestii, które być może okażą się użyteczne przy publikowaniu wyników pracy. Praca ma charakter interdyscyplinarny: jest z pogranicza stomatologii, nauk środowiskowych i chemii. Doktorantka jest lekarzem stomatologii, stąd zrozumiałe, że są pewne dyskusyjne kwestie z obszaru chemii.***

Poniżej przedstawiono uwagi szczegółowe:

- Doktorantka nieprecyzyjnie opisała terminy bioindykacji i biomonitoringu. Podczas, gdy bioindykacja wykorzystuje organizmy wskaźnikowe (np. skala porostowa), gdzie na podstawie obserwacji wizualnych wyciągane są wnioski, biomonitoring polega na pomiarze zawartości substancji zanieczyszczających. A zatem analiza mineralna zębów jest przykładem biomonitoringu.
- Pomiar składu mineralnego zębów Doktorantka określa mianem bioidentyfikatorów. W dostępnej literaturze nie znalazłam takiego terminu. Powinno się stosować termin: biomonitor lub pomiar składu pierwiastkowego matrycy biologicznej.
- str. 12 – nie zgadzam się z Doktorantką, że metale toksyczne zalicza się do grupy ksenobiotyków. Ksenobiotyki to związki syntetyczne, które nie występują naturalnie: od nazw ‘kseno’ i ‘bio’.
- str. 16 – Tabela 1 – nagłówek kolumny ‘stężenie toksyczne’ – podana jednostka w ‘gramach’ – to jednostka masy, nie stężenia; nazwa kolumny ‘okres połowicznego rozpadu’ – pierwiastki toksyczne nie ulegają rozpadowi.
- str. 19 – ‘30 ppm’ – powinno być ‘30 mg/kg’ – ppm nie jest jednostką układu SI.

- Str. 29 – „Cele i założenia” – w tej części pracy powinien być wskazany cel główny i cele szczegółowe. Obszerny fragment tego rozdziału stanowi kontynuację przeglądu piśmiennictwa i powinien znajdować się w tej części pracy. Doktorantka podaje cele szczegółowe, nie podała jednak celu głównego rozprawy.
- Doktorantka wyznaczyła korelację pomiędzy czynnikami: miejsce zamieszkania, wiek, płeć, lokalizacja anatomiczna zęba a zawartością pierwiastków. Bardziej uzasadnione byłoby zastosowanie regresji wielorakiej.
- Doktorantka wprawdzie nie jest chemikiem, jednak te pytania dotyczą istotnych kwestii związanych ze sposobem pozyskania wyników - Str. 34 – dlaczego w mineralizacji prób wykorzystano również nadtlenek wodoru? Jakie były limity detekcji spektrometru absorpcji atomowej – tzn. czy były poniżej uzyskanych wyników? Dlaczego zastosowanym CRM było mleko w proszku? Na rynku są dostępne CRM materiałów hydroksyapatytowych (kości).
- Ryc. 4-8 – w sekcji „Wyniki” przedstawiono dane dotyczące produkcji w Polsce: energii elektrycznej, stali, nawozów sztucznych, liczby samochodów i PKB - jaki jest związek tych danych z wynikami z pracy?
- Ryc. 11 i 13-14 – proszę o wyjaśnienie, co przedstawia – czy jest to przeliczenie zawartości Pb w zębach na stężenie Pb w powietrzu? Jeśli tak, w jaki sposób uzyskano te wyniki? Na podstawie jakiego przeliczenia?
- Dobierając modele matematyczne do oszacowania stężenia kadmu i ołowiu w powietrzu i zębach/tkance kostnej, Doktorantka posłużyła się różnymi modelami (Tabela 31-34). Na wykresach tych, widoczne są jednak 2 serie w danych. Może warto by było je rozdzielić na czynniki (być może płeć? czynniki istotnie wpływające powinny być zidentyfikowane poprzez regresję wieloraką). Wówczas dopasowanie modelu do wyników doświadczalnych byłoby znacznie lepsze.
- Fot. 9 -33 – Doktorantka zidentyfikowała agregaty poszczególnych pierwiastków w zębinie i szkliwie korzystając z mikroskopu świetlnego. Na ile miarodajne są to wyniki? Być może technika SEM-EDX byłaby bardziej właściwa do wizualizacji obecności pierwiastków na powierzchni zęba/kości?

Przedstawione powyżej uwagi i zapytania mają charakter szczegółowy lub dyskusyjny i nie podważają ogólnej **pozytywnej** oceny pracy. Lek. dent. Ewelina Bryła podjęła w swej rozprawie ważne i złożone zagadnienia w zakresie wykorzystania

metody analizy mineralnej zębów mądrości i tkanki kostnej, jako metody biomonitoringu środowiskowego. Przedstawione w pracy wyniki doświadczalne stanowią wartościowy materiał, ponieważ zawartość ołowiu i kadmu zębów i tkanki kostnej pobranych od pacjentów w różnym wieku, pokazują trend zmniejszania się poziomów tych pierwiastków toksycznych w środowisku. Z pewnością wyniki tej pracy stanowią wartościowy materiał publikacyjny. Lek. dent. Ewelina Bryła wykazała się wiedzą niezbędną do prowadzenia prac w zakresie nauk o zdrowiu oraz umiejętnością analizy i prezentacji wyników badań.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny praca doktorska spełnia wymagania określone w ustawie z dnia z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami Dz. U. z 2005 r. nr 164 poz. 1365, Dz. U. z 2011 r. nr 84 poz. 455), i wnoszę o dopuszczenie lek. dent. Eweliny Bryły do publicznej obrony.

Katarzyna Alij