



UNIwersYTET
PRZYRODnicZY
WE WROCLAWIU

KATEDRA BIOSTRUKTURY I FIZJOLOGII ZWIERZĄT
ZAKŁAD ANATOMII ZWIERZĄT

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, dnia 5 listopada 2024 roku

OCENA

Rozprawy doktorskiej Adama Rafała Jaworskiego pt., „Zawartość metali toksycznych oraz czystość mikrobiologiczna autogenego augmentatu zębowego”

Przedstawiona do oceny praca doktorska została przygotowana na Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod opieką promotora, prof. dr hab. Rafała J. Wiglusza, oraz promotora pomocniczego, dr n. med. Piotra Kosiora. Praca podejmuje interdyscyplinarny temat związany z badaniami toksykologicznymi oraz mikrobiologicznymi w zakresie biomateriałów stosowanych w augmentacji stomatologicznej.

Recenzję sporządzono na podstawie uchwały Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 24 października 2024 roku oznaczone sygnaturą 1400/X/2024

Praca składa się z 132 stron, które podzielono na następujące rozdziały: wstęp, cele i założenia badawcze, materiał i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie, wnioski, bibliografia, streszczenie



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

UNIwersYTET PRZYRODnicZY WE WROCLAWIU
KATEDRA BIOSTRUKTURY I FIZJOLOGII ZWIERZĄT
ZAKŁAD ANATOMII ZWIERZĄT
ul. Koźuchowska 1, 51-631 Wrocław
tel. 71 320-57-41



i abstrakt. Wstęp wprowadza w tematykę badawczą, omawiając podstawowe zagadnienia związane z augmentacją zębową i inspirację do podjęcia badań nad jej bezpieczeństwem. Należy przy tym zaznaczyć, że podrozdział 1.2. zatytułowany „Ontogeneza” nie koresponduje z podrozdziałem zamieszczonym w tekście, który nosi tytuł „odontogeneza”. Ontogeneza jest to termin oznaczający całość rozwoju organizmu, podczas gdy odontogeneza dotyczy jedynie zębów. Treść podrozdziału dotyczy odontogenezy.

We wstępie, przegląd literatury zawiera wyczerpujące informacje na temat aktualnych badań nad materiałami dentystycznymi, wpływem metali ciężkich oraz rolą mikrobioty jamy ustnej. Przesadną uwagę Doktorant poświęcił podziałowi administracyjnemu województwa zachodniopomorskiego (s. 15 i 16). Na podstawie przyjętych założeń Doktorant sformułował sześć celów badawczych. Określone są w sposób jasny i niebudzący zastrzeżeń.

W rozdziale pt., „Materiał i metody” Autor przedstawia szczegółowy opis próbek, metod badawczych oraz procedur laboratoryjnych stosowanych w badaniu, w tym spektrometrię absorpcyjną atomową, mikroskopię elektronową i test MTT do oceny cytotoksyczności. Należy zaznaczyć, że na powyższe badania uzyskał Doktorant zgodę komisji bioetycznej o numerze 278/219. Zastosowane metodyka jest nowoczesna i reprezentuje poziom światowy.

Wyniki są przejrzysto zaprezentowane za pomocą licznych tabel i rycin, które obrazują efekty analizy toksycznych metali, oceny mikrobiologicznej oraz oceny cytotoksyczności. Dyskusja oparta jest na literaturze przedmiotu i wskazuje na potencjalne zagrożenia związane z użyciem augmentatu autogenego w stomatologii, a także omawia możliwe ograniczenia pracy i kierunki przyszłych badań. Wnioski odpowiadają na postawione cele badawcze i podkreślają znaczenie zachowania czystości biologicznej oraz kontroli zawartości toksycznych metali w biomateriałach stomatologicznych. Całość zamykają podsumowanie oraz wnioski końcowe, streszczenie w języku polskim i abstrakt po angielsku.

Praca zawiera 28 rycin, które ilustrują m.in. proces przygotowania materiału badawczego, wyniki analizy metali oraz wyniki badań mikrobiologicznych. Jest też 45 tabel, które zawierają szczegółowe dane dotyczące zawartości metali ciężkich, charakterystyki badanej grupy oraz



wyniki analizy statystycznej. Bibliografia pracy jest obszerna, obejmuje 163 pozycje literatury naukowej. Są to pozycje odzwierciedlające stan współczesnej wiedzy. Cytowania zostały ujęte w formie numerowanej listy na końcu pracy, a ich dobór wskazuje na gruntowne przygotowanie merytoryczne i znajomość literatury przedmiotu przez Doktoranta.

Tematyka badawcza podjęta przez Autora jest bardzo aktualna i odzwierciedla rosnące zainteresowanie biomateriałami w medycynie regeneracyjnej, szczególnie w kontekście bezpieczeństwa ich stosowania w chirurgii stomatologicznej. Współczesna stomatologia coraz częściej sięga po autogenne materiały kostne, które są uznawane za skuteczne w regeneracji kości, a ich potencjalną zaletą jest biologiczna kompatybilność oraz obniżone ryzyko odrzutu przez organizm pacjenta. Pomimo zalet autogennych augmentatów, wciąż istnieje potrzeba wnikliwych badań nad ich bezpieczeństwem, szczególnie pod kątem obecności metali toksycznych i mikroorganizmów. Kontaminacja materiałów biomedycznych metalami toksycznymi, takimi jak kadm, rtęć, ołów, kobalt czy nikiel, może wpływać negatywnie na zdrowie pacjenta, powodując różne niepożądane reakcje, w tym odległe powikłania zdrowotne.

Praca odnosi się również do problematyki mikrobiologicznej czystości augmentatów, co jest kluczowe dla uniknięcia infekcji w miejscu wszczepu. Biomateriały wykorzystywane w augmentacji zębów muszą spełniać rygorystyczne wymagania dotyczące czystości, aby nie wprowadzać patogenów do organizmu pacjenta. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne mogą prowadzić do powikłań, takich jak m.in. zapalenie kości czy zakażenie wokół miejsca implantacji, co nie tylko przedłuża czas leczenia, ale może również wymagać bardziej inwazyjnych interwencji medycznych. Tematyka pracy doktorskiej wpisuje się więc w aktualne wyzwania medyczne, które zyskują na znaczeniu w związku z coraz szerszym wykorzystaniem biomateriałów pochodzenia autogenego w leczeniu pacjentów.

Warto podkreślić, że zrozumienie wpływu różnych czynników – takich jak stan zatrzymania zęba, miejsce zamieszkania pacjenta, jego nawyki zdrowotne (np. palenie tytoniu) – na zawartość metali ciężkich w materiale zębowym przyczynia się do szerszego obrazu ryzyka związanego z materiałami autogennymi. Autor w swojej pracy uwzględnił również wpływ parametrów takich



jak wiek, płeć i historia palenia na zanieczyszczenia metaliczne w zębach, co umożliwia lepsze zrozumienie ryzyka i identyfikację pacjentów bardziej narażonych na toksyczne działanie metali.

Praca dostarcza wartościowych danych, które mogą wspierać proces tworzenia bardziej bezpiecznych protokołów postępowania z materiałami autogennymi. W szczególności istotne jest tutaj zastosowanie metod, które są zgodne z międzynarodowymi wytycznymi i normami ISO, co umożliwia prawidłowe porównanie wyników. Możliwość ujednoczenia standardów badawczych i diagnostycznych jest kluczowa, aby wyniki mogły przyczynić się do postępu w tworzeniu standardów regulujących dopuszczalny poziom toksycznych substancji w biomateriałach dentystycznych. W związku z powyższym praca Pana lek. dent. Adama Rafała Jaworskiego jest nie tylko aktualna, ale także ważna z punktu widzenia postępu w dziedzinie biomateriałów stomatologicznych, a jej wyniki mogą stanowić bazę do dalszych badań oraz inspirację do wdrażania wyższych standardów czystości w biomateriałach stosowanych klinicznie.

Analiza wyników w pracy doktorskiej Pana lek. dent. Adama Rafała Jaworskiego jest przedstawiona w sposób kompleksowy i precyzyjny, z zachowaniem logicznej struktury i odpowiednich narzędzi statystycznych. Autor przystępnie omawia uzyskane dane. Wyniki dotyczące zawartości metali zostały jasno zaprezentowane z podziałem na próbki uzyskane z zębów całkowicie oraz częściowo zatrzymanych, co pozwala na głębsze zrozumienie wpływu tych czynników na poziom kontaminacji metalami. Ustalono, że zęby całkowicie zatrzymane, które nie mają kontaktu ze środowiskiem jamy ustnej, charakteryzują się niższą zawartością niektórych metali toksycznych, co jest logicznym potwierdzeniem zakładanych hipotez.

Autor wykorzystał różnorodne techniki analityczne, takie jak spektrometria absorpcyjna atomowa (AAS) oraz techniki mikroskopowe, które umożliwiły dokładną identyfikację i ilościową analizę zawartości metali w próbkach. W interpretacji wyników uwzględniono nie tylko same wartości stężeń, ale również ich zróżnicowanie ze względu na wiek, płeć oraz nawyki zdrowotne pacjentów, takie jak palenie tytoniu. Pozwoliło to na określenie pewnych korelacji między stylem życia, a zawartością metali toksycznych w materiale dentystycznym. Dzięki analizie statystycznej Autor wykazał, że zęby pacjentów palących papierosy zawierały istotnie wyższe poziomy niektórych



metali, co jest ważnym wnioskiem pod kątem oceny ryzyka stosowania biomateriałów u osób z nałogiem nikotynowym.

Wyniki dotyczące czystości mikrobiologicznej augmentatu przed i po procesowaniu wskazują na skuteczność zastosowanych metod dezynfekcji. Autor przeprowadził wnikliwą ocenę obecności mikroorganizmów, potwierdzając wysoką skuteczność zastosowanego środka dezynfekującego w usuwaniu patogenów, takich jak *Escherichia coli* czy *Streptococcus sanguinis*.

Autor przeprowadził także testy cytotoksyczności materiału, aby ocenić wpływ przetworzonych augmentatów na żywotność komórek w badaniach *in vitro*. Wykorzystanie testu MTT pozwoliło na zbadanie reakcji komórkowych, a wyniki potwierdziły, że przygotowany materiał nie wykazuje działania cytotoksycznego na poziomie zastosowanym w badaniu. Wyniki testów cytotoksyczności pokazują, że przetworzony materiał może być stosowany w augmentacji bez ryzyka negatywnego wpływu na komórki w bezpośrednim otoczeniu wszczepu.

Interpretacja wyników jest rzetelna i odnosi się do literatury przedmiotu. Autor wykazuje dobrą znajomość kontekstu badań i potwierdza uzyskane wyniki innymi publikacjami. Sugestie dotyczące potencjalnych badań uzupełniających pokazują, że Autor jest świadomy ograniczeń metodologicznych i jednocześnie proponuje rozwiązania, które mogą wpłynąć na zwiększenie dokładności i wiarygodności wyników w przyszłości.

Dyskusja jest przemyślana i rzetelna, a także odnosi się do najnowszych badań w dziedzinie toksykologii, mikrobiologii i biomateriałów stomatologicznych. Autor dogłębnie analizuje wyniki dotyczące zawartości metali toksycznych w autogennych augmentatach zębowych, podkreślając różnice w poziomie zanieczyszczenia między zębami całkowicie a częściowo zatrzymanymi. Wyniki wskazujące na niższą zawartość metali w zębach całkowicie zatrzymanych zostały w sposób logiczny zestawione z dotychczasową literaturą, co wzmacnia wartość dowodową przeprowadzonych badań. Autor wskazuje, że zęby odizolowane od środowiska jamy ustnej są mniej podatne na kontakt z zewnętrznymi źródłami zanieczyszczeń, takimi jak żywność, powietrze czy dym papierosowy, a to może być kluczowym czynnikiem w przypadku biomateriałów stomatologicznych pozyskiwanych z tego typu zębów.



Dyskusja wyników dotyczących czystości mikrobiologicznej wskazuje na wysoką skuteczność zastosowanych metod dezynfekcyjnych. Autor omawia wyniki, które pokazują, że autogeny materiał po zastosowaniu 30% roztworu alkoholu etylowego był wolny od patogenów. Autor porównuje te wyniki z literaturą, gdzie omawiane są inne techniki oczyszczania biomateriałów oraz ich efektywność. Doktorant wskazuje także na znaczenie przeprowadzenia testów mikrobiologicznych, szczególnie w kontekście bezpieczeństwa klinicznego, co wzmacnia wiarygodność autogenych augmentatów stosowanych w stomatologii regeneracyjnej.

Cytotoksyczność badanych materiałów również została szeroko omówiona w kontekście wyników literaturowych. Autor potwierdza, że zastosowane procedury procesowania nie wywołały szkodliwego wpływu na żywotność komórek, co sugeruje, że badane materiały mogą być bezpiecznie stosowane w augmentacji. Autor zwraca uwagę na potencjalne implikacje kliniczne wyników, podkreślając, że brak cytotoksyczności stanowi istotny czynnik w ocenie materiałów do zastosowania u pacjentów. Dyskusja odnosi się do standardów ISO i innych wytycznych międzynarodowych, co świadczy o świadomym podejściu do porównywania wyników w kontekście globalnych wymagań dotyczących biomateriałów.

Omawiając badania, Autor wskazuje na ograniczoną liczebność próbek i ich geograficzne pochodzenie, co może wpłynąć na interpretację wyników w odniesieniu do szerszej populacji. Zwraca uwagę, że wyniki mogłyby być dokładniejsze przy uwzględnieniu próbek z większej liczby regionów, co pozwoliłoby uzyskać pełniejszy obraz narażenia na metale toksyczne. Ponadto sugeruje, że przyszłe badania mogłyby skupić się na porównaniu wyników z próbkami pochodzącymi z innych krajów, co poszerzyłoby zakres wiedzy na temat czystości i toksyczności biomateriałów dentystycznych stosowanych w różnych populacjach.

Podsumowując, dyskusja jest dobrze uzasadniona oraz oparta na solidnych podstawach naukowych. Autor w sposób wyważony przedstawia swoje wyniki w kontekście istniejących badań, a także proponuje potencjalne kierunki dalszych działań, które mogłyby przyczynić się do rozwoju wiedzy na temat biomateriałów autogenych i ich bezpiecznego stosowania w chirurgii stomatologicznej.



Wnioski z pracy doktorskiej lek. dent. Adama Rafała Jaworskiego wskazują na istotne implikacje praktyczne i naukowe w zakresie stosowania autogennych augmentatów zębowych w chirurgii stomatologicznej. Wyniki sugerują, że zęby całkowicie zatrzymane, ze względu na brak bezpośredniego kontaktu z czynnikami zewnętrznymi, charakteryzują się niższym poziomem kontaminacji, co czyni je bardziej odpowiednimi materiałami dla zastosowań autogennych.

Autor podkreśla konieczność stosowania rygorystycznych procedur oczyszczania i oceny toksyczności materiałów autogennych, aby zapewnić ich bezpieczeństwo w praktyce klinicznej. Praca sugeruje, że w przyszłości warto rozwijać badania nad wpływem różnych technik dezynfekcji oraz dalszym doskonaleniem metod oczyszczania materiałów autogennych w celu minimalizacji zanieczyszczeń.

Pomimo mojej bardzo wysokiej oceny pracy muszę nadmienić o kilku mankamentach i niejasnościach w manuskrypcie. W spisie treści powinny znajdować się wszystkie podrozdziały. Rozdział pt., „Cele i założenia” (s. 21-22) jest za długi i powiela wcześniejsze informacje. Opis budowy zęba jest zbędny. Należy ograniczyć wstęp i wybrać maksymalnie 3 główne cele badań. Na stronie 23 brakuje daty wydania zgody komisji bioetycznej. W rozdziale pt., „Materiały i metody” należy dodać spis wszystkich wykorzystywanych odczynników. Rycina 18 i 19 wymaga bardziej szczegółowego opisu. Na rycinie 28 należy uzupełnić w opisie wartość istotności p. W spisie literatury numer DOI pojawia się i znika. Autor powinien się zdecydować.

Stwierdzam, że rozprawa 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. 2003 nr 65 poz., 595). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie Pana lek. dent. Adama Rafała Jaworskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik Katedry
Biostruktury i Fizjologii Zwierząt
prof. dr hab. / r. wet. Maciej Janeczek
specjalista chirurg