



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej

Ul. Krakowska 26
50-425 Wrocław

Tel.: 71 7840361

Fax: 71 7840362

e-mail:

urszula.kaczmarek@umed.wroc.pl

Ocena

pracy doktorskiej lekarza dentysty Tomasza Stefańskiego

pt.: „Zastosowanie polimerów polisacharydowych jako dodatku do soku pomarańczowego w celu ograniczenia jego potencjału erozyjnego w stosunku do szkliwa zębów”

Niebakteryjna utrata twardych tkanek zęba spowodowana erozją diagnozowana była od dawna, jednak dopiero w ostatnich latach ze względu na wzrost częstości występowania, spowodowany głównie zmianami w nawykach żywieniowych, zwiększyło się zainteresowanie tego rodzaju uszkodzeniem. Prace opublikowane w ostatnich 10 latach wskazują na znacznie zróżnicowanie frekwencji erozji zębów wahające się od 5,7 do 98,4% w uzębieniu mlecznym a w stałym od 5,5 do 56,1%. Szeroki zakres częstości występowania erozji w uzębieniu populacji różnych krajów wynika z odmienności w nawykach dietetycznych i schematach żywieniowych warunkowanych czynnikami kulturowych, rasą, wiekiem i statusem socjoekonomicznym badanych oraz udziałem różnych czynników modyfikujących. Związek przyczynowy erozji zębów z nadmierną konsumpcją kwaśnych napojów (soki i napoje owocowe, napoje smakowe, energetyczne, gazowane i niegazowane, herbaty owocowe) jest szeroko i dobrze udokumentowany wynikami badań w *warunkach in vitro*, *in situ*, *ex vivo* oraz obserwacjami *in vivo*. Określono dokładnie parametry chemiczne warunkujące potencjał erozyjny danego napoju, są nimi pH, pojemność buforowa, typ kwasu - wartość pKa, adhezja produktu do powierzchni zęba, właściwości chelatujące, stężenia wapnia, fosforanów i fluoru. Wobec tego, iż zmiany erozyjne zębów stają się coraz bardziej znaczącym stomatologicznym problemem zdrowotnym współczesnej populacji, podejmowane są wysiłki ukierunkowane zarówno na opracowanie środków przeciwdziałających rozwojowi erozji w warunkach klinicznych jak i na zmniejszenie

potencjału erozyjnego napojów poprzez modyfikację ich składu chemicznego bez zmiany walorów sensorycznych.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska podzielona została na 6 zasadniczych rozdziałów zatytułowanych: *Wstęp, Założenia i cele pracy, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski* oraz 7 dodatkowych zawierających piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim, załączniki oraz wykazy stosowanych skrótów, tabel i rycin. Praca wraz z 14 tabelami i 47 rycinami liczy 130 numerowane strony.

We *Wstępie* pracy, liczącym 32 strony, Doktorant podał definicję, częstość występowania i czynniki przyczynowe zmian erozyjnych zębów oraz uwzględnił fizykochemiczne, biologiczne i behawioralne determinanty ich rozwoju. Ponadto przedstawił patomechanizm powstawania zmiany ze szczegółowym opisem mechanizmów chemicznych prowadzących do kwasowego rozpuszczania szkliwa i etapowego rozwoju dostrzegalnej klinicznie zmiany. Uwzględnił również metody oceny zmian erozyjnych przeprowadzane w warunkach klinicznych - subiektywne opisowe wskaźniki kliniczne oraz metody jakościowe i ilościowe stosowane w warunkach *in vitro*. Scharakteryzował także parametry chemiczne prognozujące potencjał erozyjny kwaśnych napojów w odniesieniu do hydroksyaptytu szkliwa. Omówił ponadto możliwości redukcji potencjału erozyjnego produktów spożywczych przez dodawanie różnych związków chemicznych (wapnia, fosforanów, fluoru, żelaza, peptydów) ze szczególnym uwzględnieniem różnego pochodzenia polimerów polisacharydowych.

Głównym celem podjętych przez Doktoranta badań była ocena możliwości redukcji erozyjnego działania soku pomarańczowego na szkliwo poprzez suplementację wybranymi polimerami polisacharydowymi. Osiągnięcie tego celu zostało poprzedzone wyłonieniem w warunkach *in vitro* spośród 10 ocenianych polimerów polisacharydowych jednego najbardziej obniżającego potencjał erozyjny 1% roztworu kwasu cytrynowego z lub bez dodatku wapnia (1), a następnie oszacowano w badaniu *in situ* potencjał erozyjny soku pomarańczowego suplementowanego uprzednio wyselekcjonowanym polimerem bez lub z dodatkiem wapnia (2) oraz dokonano oceny sensorycznej modyfikowanego soku pomarańczowego (3).

Materiał badawczy i metodyka pracy wraz z zastosowanymi metodami analizy zostały przedstawione przejrzyście i wyczerpująco w odpowiednim rozdziale pracy. Materiał pierwszej części badań wykonanych *in vitro* stanowiły roztwory erozyjne zawierające 1% roztwór kwasu cytrynowego suplementowany 10 różnymi polimerami polisacharydowymi w stężeniu 0,1% bez lub z dodatkiem 10 mM wapnia (pięciowodny mleczan wapnia), których pH dostosowywano do poziomu $3,8 \pm 0,02$ oraz zatopione w żywicy akrylowej próbki szkliwa

zębów krowich. Roztwory te (20 badawczych i 2 kontrolne stanowiące kontrolę pozytywną i negatywną) analizowano chemicznie w aspekcie pH, miareczkowanej kwasowości i pojemności buforowej oraz lepkości z użyciem wiskozymetru rotacyjnego. Próbki szkliwa, w liczbie 440, po odpowiednim przygotowaniu eksponowano na dwa różne cykle erozyjno-remineralizacyjne po uprzedniej indukcji nabytej błonki zębowej poprzez imersję w sztucznej ślinie. W krótkim cyklu remineralizacyjno-demineralizacyjnym sumaryczna ekspozycja na dany czynnik erozyjny wynosiła 5 min, a w długim 150 min. Przed i po zakończeniu krótkiego cyklu określano mikrotwardość powierzchni próbek za pomocą mikrotwardościomierza FM-700 z użyciem węgelnika Vickersa. Natomiast po zakończeniu długiego cyklu oceniano profil eksponowanej na czynnik erozyjny i referencyjnej powierzchni szkliwa profilometrem stykowym Surtronic 3P. Ponadto reprezentatywne próbki po długoczasowej ekspozycji na czynnik erozyjny oceniano w skaningowym laserowym mikroskopie konfokalnym.

W drugiej części badania realizowanej w warunkach *in situ* u 8 ochotników, wybranych zgodnie z przyjętymi kryteriami włączenia i wykluczenia, jako czynnik erozyjny zastosowano handlowo dostępny 100% sok pomarańczowy czysty - kontrola negatywna, suplementowany 0,1% roztworem polimeru pochodzenia mikrobiologicznego - gumy ksantanowej z lub bez dodatku wapnia oraz sok z dodatkiem wapnia (kontrola pozytywna). Umocowane na płytce podniebiennej próbki szkliwa (jednocześnie 6, a łącznie 48 próbek) poddawano cyklicznie działaniu czynnika erozyjnego, łącznie przez 5 lub 10 min. Przed i po ekspozycji oznaczano mikrotwardość szkliwa w ten sam sposób jak w badaniu *in vitro*. Zmiany morfologiczne w reprezentatywnych próbkach szkliwa oceniano za pomocą mikroskopu sił atomowych XE-100.

Trzecią i ostatnią część badań stanowiła ocena sensoryczna testem duo-trio barwy i wyglądu, zapachu, tekstury, smakowitości i smaku następczego zastosowanego w badaniu *in situ* modyfikowanego soku pomarańczowego (tj. polimerem, polimerem i wapniem, samym wapniem i czystym jako kontrola).

Uzyskane dane poddano szczegółowej analizie statystycznej za pomocą odpowiednio dobranych testów za istotny przyjmując poziom $p < 0,05$.

Wyniki badań omówiono na 22 stronach i zestawiono w 10 tabelach i na 20 rycinach zamieszczonych w tekście pracy. Wykazano, że suplementacja 1% roztworu kwasu cytrynowego gumą ksantanową powodowała największą, spośród wszystkich ocenianych polimerów, redukcję rozwoju zmiany erozyjnej mierzoną mikrotwardością w warunkach *in vitro* w krótkim cyklu erozyjno-remineralizacyjnym wynoszącą 73,59%) i nieznacznie

większą redukcję, o 8,88%, przy suplementacji kwasu polimerem i wapniem w porównaniu do samego 1% roztworu kwasu cytrynowego (tab. IV). Podobne wyniki uzyskano po zastosowaniu długiego cyklu demineralizacyjno-remineralizacyjnego i profilometrycznej oceny powierzchni próbek. Uzyskano bowiem redukcję szorstkości powierzchni przy zastosowaniu polimeru wynoszącą 58,23%, a po dodaniu wapnia zwiększoną o 11,46% (tab. VII). Badanie *in situ* ujawniło również brak istotnych różnic między mikrotwardością szkliwa po ekspozycji na sok pomarańczowy suplementowany samą gumą ksantanową i z dodatkiem wapnia. Ocena sensoryczna dokonana przez badanych wykazała, że profile sensoryczne wszystkich modyfikacji soku pomarańczowego różniły się znamienne od oryginalnego, ale oceny dotyczące pożądalności soku z dodatkiem gumy ksantanowej były wyższe niż soków suplementowanych wapniem.

W rozdziale *Dyskusja*, liczącym 20 stron, Doktorant podejmuje próbę interpretacji wyników własnych w oparciu o dane z piśmiennictwa. Wykazuje w tym rozdziale szeroką wiedzę i umiejętność w posługiwaniu się literaturą. Na podkreślenie zasługuje zamieszczenie w tym rozdziale własnej koncepcji sposobu wiązania chitozanu z powierzchnią szkliwa.

Pracę kończą dwa strukturalne wnioski stanowiących odpowiedź na postawione pytania badawcze i posiadające uzasadnienie w poprzedzających je częściach rozprawy.

Streszczenie w języku polskim i angielskim zawiera najważniejsze elementy pracy.

Piśmiennictwo obejmuje 177 aktualnych pozycji, głównie w języku angielskim (tylko 9 w języku polskim).

Oceniana praca pod względem merytorycznym nie budzi żadnych zastrzeżeń. Napisana jest dobrym stylem i została przygotowana bardzo starannie.

Doktorant zrealizował cel pracy, co znajduje wyraz w wynikających z opracowania wnioskach. Cele i zadania, które postawił przed sobą wymagały dużego zaangażowania i wysiłku. Doktorant udowodnił, że dysponuje czynnikami niezbędnymi do ich zrealizowania - wiedzą i umiejętnościami w wykorzystaniu nowoczesnych metod badawczych oraz odpowiednimi cechami charakteru - pracowitością i wytrwałością. Rezultaty badań zostały przedstawione przejrzysto w tabelach i na rycinach. W rozdziałach zatytułowanych *Wstęp* oraz *Dyskusja* Doktorant wykazał bardzo dobrą wiedzę, znajomość aktualnego i ukierunkowanego tematycznie piśmiennictwa oraz umiejętność dyskusji z wynikami innych badaczy. Rozprawa dostarcza nowej i kompleksowej wiedzy na temat możliwości zastosowania polimerów polisacharydowych jako czynników przeciwoerozyjnych dodawanych do kwaśnych soków i napojów. Posiada nie tylko dużą wartość poznawczą, ale także prawdopodobnie praktyczną, co jest istotne wobec stale wzrastającej konsumpcji kwaśnych


soków i napojów i wynikającego z tego wzrostu występowania erozji zębów. Należy również podkreślić, iż praca została wzorowo zaprojektowana i wykonana pod względem metodycznym.

Całość opracowania stanowi oryginalne rozwiązanie zagadnienia naukowego, wskazuje na bardzo dobrą znajomość poruszanej w pracy problematyki i umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Ze względu na wieloaspektowe podejście do poruszanej w pracy problematyki i staranność opracowania uważam ocenianą pracę za wyróżniającą i kwalifikującą się do nagrody

Opierając się na przedstawionej ocenie, uważam, że recenzowana praca odpowiada wymaganiom stawianym rozprawom doktorskim i przedstawiam wniosek Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach o uznanie pracy za rozprawę doktorską i dopuszczenie lek. dent. Tomasza Stefańskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. n. med. Urszula Kaczmarek

Specjalista w zakresie stomatologii ogólnej, stomatologii zachowawczej i stomatologii dziecięcej



Wrocław, 2.01.2015 r.