

Łódź, 14 stycznia 2022 r.

## **OCENA**

### **rozprawy doktorskiej lek. dent. Alicji Aluchny „Ocena wpływu wybranych preparatów do płukania jamy ustnej na właściwości fizyko-chemiczne materiałów złożonych”.**

Środowisko jamy ustnej to specyficzny ekosystem charakteryzujący się obecnością licznych płynów i drobnoustrojów, które mogą oddziaływać niekorzystnie na anatomiczne struktury jamy ustnej, w tym na materiały odtwórcze użyte do rekonstrukcji tkanek. Dla zachowania odpowiedniej równowagi środowiska jamy ustnej obecnie zaleca się eliminację biofilmu poprzez szczotkowanie zębów oraz stosowanie płukanek – preparatów do płukania jamy ustnej. Płukanki są jednak preparatami o złożonym składzie chemicznym i mogą oddziaływać niekorzystnie na materiały odtwórcze stosowane w rekonstrukcji twardych tkanek zębów. W obliczu nieustannego postępu technologii materiałowych i pojawiania się coraz to nowych materiałów odtwórczych i preparatów do higieny jamy ustnej, często różniących się składem i właściwościami, celowe i pożądane są badania ich wzajemnej interakcji. Podjęty więc przez Doktorantkę temat badań w zakresie oceny wpływu preparatów do płukania jamy ustnej na materiały odtwórcze uważam za aktualny i ważny dla praktyki klinicznej.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska, o układzie typowym dla monografii, licząca 109 stron składu komputerowego, ilustrowana jest 19 tabelami i 21 rycinami, napisana jest zwięźle, poprawną polszczyzną, a zawarte w niej treści w większości są czytelne. Na początku dysertacji Autorka umieszcza kolejno słowa kluczowe, spis treści, wykaz stosowanych skrótów, ujednolicenie terminologii oraz streszczenie, w języku polskim i angielskim, prezentujące zwięźle treść wszystkich rozdziałów rozprawy.

W treści pracy, we wstępie, Autorka wprowadza czytelnika w problematykę dysertacji, wskazując niezwykle ważną rolę mikrobioty człowieka i jej wpływ na stan zdrowia, podkreślając jednocześnie związek dysbiozy z chorobami gastroenterologicznymi, stanem psychicznym, chorobami o podłożu alergicznym, ale też związek choroby próchnicowej i chorób przyzębia z licznymi chorobami ogólnoustrojowymi.

Prezentując cenne dla czytelnika informacje o mikrobiocie człowieka Autorka wskazuje, że zasadniczym postępowaniem w przypadku jamy ustnej jest dążenie do zachowania prawidłowej flory bakteryjnej poprzez zabiegi higienizacyjne, uwzględniające zastosowanie różnych preparatów do płukania jamy ustnej. Opisuje szczegółowo ich skład i działanie, wiele miejsca poświęcając właściwościom i roli olejków eterycznych wchodzących w skład wielu płukanek. Prezentuje informacje dotyczące materiałów kompozytowych, ich budowy i właściwości, wskazując jednocześnie na mechanizmy starzenia i degradacji kompozytów. Uwzględniając odpowiednie przekazy

z piśmiennictwa, omawia szczegółowo rolę bakterii, enzymów, ale nade wszystko preparatów do płukania jamy ustnej w procesie degradacji kompozytów.

Zasadnicza część wstępu to przegląd aktualnej wiedzy na temat badań poświęconych wpływowi różnych fabrycznych preparatów do płukania jamy ustnej na materiały odtwórcze, w którym Autorka wskazuje na brak jednoznacznych poglądów co do poziomu degradacji materiałów kompozytowych jak i procedur prowadzenia badań.

Treści zawarte w przeglądzie piśmiennictwa oraz sposób ich prezentacji świadczą o należyтым przygotowaniu teoretycznym Autorki do prowadzenia podjętych badań.

Doktorantka stawia sobie za zasadniczy cel pracy zbadanie i ocenę wpływu wybranych płukanek na właściwości fizyko-chemiczne materiałów kompozytowych.

Podaje, że w szczególności badania miały na celu:

1. Ocenę wpływ wybranych płukanek na stabilność koloru, charakterystykę powierzchni, twardość zastosowanych materiałów kompozytowych.
2. Wstępną ocenę implikacji klinicznych stosowania płukanek w aspekcie rodzaju materiału kompozytowego na podstawie badań *in vitro*.
3. Przewidywanymi, potencjalnymi, następczymi korzyściami płynącymi z niniejszych badań jest możliwość stworzenia zaleceń, które pozwolą na wykluczenie ewentualnych interakcji płukanek i materiałów złożonych, mogących prowadzić do nieestetycznej zmiany koloru i/lub spadku twardości i/lub wzrostu chropowatości.

Założony cel pracy Autorka realizowała poprzez ocenę wybranych właściwości materiałów kompozytowych (kolor, chropowatość i twardość), poddanych działaniu różnych preparatów do płukania jamy ustnej w porównaniu do kontroli (woda destylowana, fizjologiczny roztwór soli i sztuczna ślina).

Autorka realizując założony cel pracy poddała badaniom 4 wybrane materiały odtwórcze, 3 kompozytowe o zróżnicowanym składzie zarówno napelnacza jak i matrycy polimerowej, Filtek Ultimate Flow, Kalore i Charismę Classic, oraz Activię, szkłoionomer modyfikowany żywicą. Z ww. materiałów przygotowała odpowiednie próbki utwardzając materiały kompozytowe światłem diodowej lampy polimeryzacyjnej w formach silikonowych i po 24h przechowywania w wodzie w cieplarni (37°C) wypolerowała je. Tak przygotowane próbki podzieliła losowo na 14 grup badanych po 5 próbek w każdej, po czym poddała je badaniom wstępnym oceniając wyjściowe parametry: koloru, chropowatości i twardości.

Następnie próbki poddała ekspozycji na wybrane media. Próbki zanurzała w 8 różnych ciekłych mediach, w tym: 0,9% NaCl, wodzie destylowanej, preparacie sztucznej śliny i 4 preparatach do płukania jamy ustnej (Listerine Cool mint, Octenident, Alfa Scaling, Aloe Fresh Zero Alcol, Oxysafe Liquid Professional), symulując określone, różne warunki środowiska jamy ustnej. Dla pełnej oceny wpływu płukanek na właściwości materiałów kompozytowych podjęła się także porównania dwóch różnych metod badań: ciągłego zanurzenia i symulacji cykli płukania. W 3 grupach (1, 2 i 14) użyła jako medium wody destylowanej, fizjologicznego roztworu soli i sztucznej śliny, w których próbki przechowywała poprzez ciągle zanurzenie. Natomiast próbki grup 3,4 i 6-13 poddała

ciągłemu zanurzeniu w medium lub procedurom symulującym cykl płukania, obejmującym zanurzenie w płukance na 2 minuty, płukanie wodą destylowaną, osuszenie i zanurzenie w roztworze kontrolnym 0.9% NaCl. Między kolejnymi cyklami płukania i wymianą medium w ciągłym zanurzeniu, próbki przechowywała w szklanych butelkach w cieplarni. By zapobiec sedymentacji składników pojemniki z próbkami wstrząsała dwa razy dziennie, tak aby ciekłe medium pozostało homogenne. Medium w okresie badań, tak w przypadku ciągłego zanurzenia jak i symulacji cykli płukania, wymieniała codziennie. Po 21 dniach ekspozycji przeprowadziła powtórnie badania koloru, struktury powierzchni i twardości próbek.

Pomiary koloru próbek kompozytów prowadziła w oparciu o badania spektrofotometryczne przy użyciu spektrofotometru SpectroShade (Micro-Dental).

Twardość próbek oceniała metodą Vickersa z pomocą twardościomierza ZH $\mu$  (Zwick/Roell) prowadząc pomiary przy obciążeniu węgelnika 1000g przez 10 s.

Oceny struktury powierzchni próbek dokonała w badaniach profilometrycznych. Pomiary chropowatości powierzchni wykonała przy użyciu profilometru SJ-410 (Mitutoyo). Do oceny chropowatości powierzchni wybrała parametr Ra – średniego arytmetycznego odchylenia profilu od linii średniej, przy długości odcinka elementarnego 0,8 mm.

Wyniki badań poddała analizie statystycznej wykorzystując program komputerowy STATISTICA v.13 i przyjmując za poziom istotności  $\alpha=0,05$ . Normalność rozkładu oceniła testem Shapiro-Wilka a jednorodność wariancji teste Levene'a. Do oceny różnic pomiędzy uzyskanymi wynikami zastosowała testy nieparametryczne Wilcoxon dla prób zależnych, Kruskala – Wallisa z testem post – hoc z wielokrotnymi porównaniami średnich rang oraz Friedmana dla prób zależnych z testem post – hoc z analizą średnich rang.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników pozwoliła Doktorantce na określenie różnic we właściwościach materiałów kompozytowych poddanych działaniu otaczających je mediów.

Doktorantka dowiodła stabilności koloru większości materiałów, a istotną zmianę koloru odnotowała jedynie dla materiału kompozytowego Charisma Clasic przy symulacji cyklu płukania Listerine.

Badania twardości pozwoliły Autorce na wskazanie różnic w zachowaniu materiałów bowiem dla materiałów Filtek Ultimate Flow i Charisma Clasic odnotowała wzrost twardości, a dla Kalore i Activia Bioactive uzyskała zmniejszenie twardości. Najwyższy wzrost twardości dla Filtek Ultimate Flow uzyskała przez ciągle zanurzenie, a nieco mniejsze wartości w symulacji cyklu płukania Oxysafe.

W przypadku materiału Charisma Clasic tylko dla części grup odnotowała istotny wzrost twardości, największy w przypadku stałego zanurzenia w Octenident, zaś na zbliżonym poziomie w płukankach Aloe Fresh, Oxysafe i sztucznej ślinie. W przypadku Kalore istotne zmniejszenie twardości odnotowała po ekspozycji na Listerine, a dla Activia Bioactive po ekspozycji na Listerine, Octenident, wodę destylowaną, Aloe Fresh i sztuczną ślinę.

Porównując wyniki badania chropowatości powierzchni Filtek Ultimate Flow stwierdziła zmniejszenie chropowatości powierzchni przy ciągłym zanurzeniu w Alfa

scaling i symulacji płukania Oxysafe, ale wzrost chropowatości w przypadku płukania Listerine oraz stałego zanurzenia w sztucznej ślinie.

Dla pozostałych materiałów Charisma Clasic, Kalore i Activia Bioactive stwierdziła istotny wzrost chropowatości powierzchni, choć różnice w chropowatości były różne w przypadku poszczególnych materiałów i płukanek.

Autorka w oparciu o analizę uzyskanych wyników formułuje 4 wnioski:

1. Przy ordynacji płukanek należy zwracać uwagę na ich wpływ na właściwości fizyko-chemiczne materiałów złożonych.
2. Większość płukanek przeznaczonych do higieny jamy ustnej powoduje wzrost chropowatości materiałów złożonych.
3. Najważniejszym czynnikiem decydującym o wpływie płukanek na właściwości fizyko-chemiczne materiałów złożonych jest skład i właściwości samego materiału złożonego.
4. Pacjentom, którzy posiadają wypełnienia z materiałów złożonych nie należy zalecać płukanek zawierających alkohol etylowy.

Wnioski znajdują oparcie w wynikach przeprowadzonych badań. Po wnioskach Autorka umieszcza piśmiennictwo liczące 102 pozycje, w większości angielskojęzyczne, ale także polskojęzyczne, łącznie z pozycjami wydawnictw książkowych oraz informacji firmowych. W kolejnym rozdziale, VIII, stanowiącym aneksy, umieszcza spis tabel oraz spis rycin. Pracę zamykają podziękowania.

W ocenie dysertacji pragnę podkreślić oryginalność i trafność doboru tematu oceny wpływu preparatów do higieny jamy ustnej na stabilność barwy czy degradację pojawiających się na rynku nowych materiałów odtwórczych. Podkreślenia wymaga także podjęcie się przez Doktorantkę w jednym eksperymencie oceny różnych metod badań, tj. stałego narażenia na działanie medium vs. symulacji procedury płukania jamy ustnej, co pozwoliło na znacznie szerszą ocenę zachodzących zjawisk.

Tytuł dysertacji odpowiada w zawartym w niej treściom, zaś założenia i ogólny cel pracy zostały jasno sformułowane. Zwraca uwagę dobór odpowiednich metod badań dla założonego celu pracy. Metoda spektrofotometryczna, zastosowana w badaniach pozwoliła Doktorantce na obiektywną i precyzyjną ocenę zmiany koloru materiałów kompozytowych. Podobnie badanie twardości metodą Vickersa jak i profilometryczna ocena chropowatości powierzchni są uniwersalnymi i standardowo stosowanymi narzędziami w ocenie zmian struktury powierzchni materiałów jak i zmian właściwości ich wierzchniej warstwy. Wyniki badań Autorka przedstawiła szczegółowo w zestawieniach liczbowych oraz graficznych na licznych rycinach. Podkreślenia wymaga zastosowanie do analizy uzyskanych wyników metod wnioskowania statystycznego w oparciu o przeprowadzoną wielokierunkową analizę z wykorzystaniem testów nieparametrycznych.

Znajomość problematyki rozprawy, widoczna jest w sposobie omówieniu wyników badań na tle współczesnej wiedzy, a prowadzona dyskusja wyników jest mocną stroną dysertacji. W pracy zwraca uwagę aktualne i starannie dobrane piśmiennictwo,

w większości anglojęzyczne. Pragnę zwrócić szczególną uwagę na wartości poznawcze i praktyczne dysertacji.

Z obowiązku recenzenta muszę jednak wskazać krytyczne uwagi dotyczące dysertacji. O ile jak już wspomniałem sformułowany ogólny cel pracy nie budzi zastrzeżeń, o tyle cele szczegółowe nie do końca odpowiadają zakresowi rozprawy doktorskiej. Cel 2.2. „*Wstępna ocena implikacji klinicznych stosowania płukanek w aspekcie rodzaju materiału złożonego na podstawie badań in vitro*” jak i cel 2.3. „*Przewidywanymi, potencjalnymi, następczymi korzyściami płynącymi z niniejszych badań jest możliwość stworzenia zaleceń, które pozwolą na wykluczenie ewentualnych interakcji płukanek i materiałów złożonych, mogących prowadzić do nieestetycznej zmiany koloru i/lub spadku twardości i/lub wzrostu chropowatości.*” powinny być domeną dyskusji prowadzonej w oparciu o wyniki przeprowadzonych badań, bowiem Doktorantka nie prowadziła badań klinicznych, które upoważniałyby do nawet wstępnej oceny implikacji klinicznych.

Uwagi dotyczą także sposobu oceny topografii powierzchni próbek. Autorka w ocenie struktury powierzchni wykorzystwała badania profilometryczne, co nie budzi żadnych zastrzeżeń. Są one, obok badań obrazowych, standardowo stosowane w badaniach topografii powierzchni materiałów i pozwalają na obiektywną (ilościową) ocenę różnic w strukturze powierzchni próbek. Jednak ocena struktury powierzchni na podstawie tylko jednego parametru profilu chropowatości,  $R_a$  – średniego arytmetycznego odchylenia profilu, nie znajduje uzasadnienia. Najczęściej w badaniach do oceny struktury powierzchni materiałów wykorzystuje się kilka parametrów profilu chropowatości m.in.:  $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_z$ ,  $R_{lo}$ , czy  $R_t$ , a procedura pomiaru chropowatości za pomocą profilometru SJ-410 pozwala na uzyskanie ponad 20 parametrów. Doktorantka nie umieściła też w pracy rycin prezentujących profile chropowatości próbek choćby wybranych materiałów. Szkoda również, że Doktorantka nie przeprowadziła badań mikroskopowych, które wniosłyby dodatkowe informacje i umożliwiłyby nie tylko dokładniejszą ocenę struktury powierzchni próbek, ale być może także pozwoliłyby wskazać, czy obserwowane zmiany w strukturze powierzchni są skutkiem procesów erozyjnych czy są wynikiem sedimentacji składników płukanek.

Doktorantka w tekście pracy używa niezręcznych sformułowań. Na str. 13 używa określenia „*schorzeń jamy ustnej*”, które proponuję zamienić na „*chorób jamy ustnej*”. Autorka wielokrotnie, także w tytule rozprawy, posługuje się określeniem „*materiały złożone*” zamiast terminem *materiały kompozytowe*, który jest ogólnie przyjętym określeniem tak w piśmiennictwie technicznym jak i medycznym. Na str. 21 i 23 używa nazw materiałów kompozytowych stosowanych w USA, jak: *Filtek P90 Low Shrinkage* czy *Filtek Z350*, zamiast nazw handlowych materiałów dostępnych na rynku polskim. Co prawda w dalszej części pracy odnosi się do stosowanego nazewnictwa, wyjaśniając różnice w nazwach handlowych tych samych materiałów kompozytowych oferowanych w różnych krajach. W kontekście tego trudno jednak zgodzić się ze stwierdzeniem na str. 32, że „*Ponadto pewną, znaczącą, komplikację w międzynarodowym porównywaniu wyników badań stanowi zmienność nazw materiałów kompozytowych w zależności od rejonu świata.*”. Autorka wielokrotnie używa też określenia „*... twardość powierzchni ...*”, która odnosi się do twardości materiału lub twardości warstwy wierzchniej badanego

materiału kompozytowego. Niezręczne są także liczne sformułowania jak: „str. 21 „... parametry twardości kompozytów ...”, str. 32 „ ... zestawionych w porównujących tabelach ...”, str. 62 „ ... nie stwierdzono występowania istotnej statystycznie różnicy pomiędzy badaniem przed interwencją, a poszczególnymi grupami ...”, str. 83 „ ... Przez działanie czynników uszkodzających dochodzi do ... odstonięcia cząsteczek napętnacza i cofnięcia otaczającej powierzchni żywicznej osnowy polimerowej”, str. 81 „ ... spadku porównywanego parametru pomiędzy badaniem przed interwencją ...”, str. 58 „ ... Trzy grupy ... badano tylko poprzez ciągle zanurzenie próbek. Natomiast płukanki (grupy 3,4,6-13) badano poprzez ciągle zanurzenie lub z wykorzystaniem techniki symulacji cyklu płukania.”, str. 76 „ ... Porównując wyniki przed i po dla poszczególnych grup ... ”, a na str. 54 błędnie opisuje ... „, Profilometr (SJ-411, Mitutoyo)” ....

W spisie piśmiennictwa zwraca uwagę brak należytej staranności i jednolitych kryteriów opisu cytowanych pozycji. W tekście dysertacji przy niektórych odwołaniach do informacji z piśmiennictwa, na szczęście nielicznych, brak jest odpowiednich cytowań. Zwracają też uwagę błędy w sposobie cytowania licznych pozycji piśmiennictwa – umieszczanie pozycji piśmiennictwa po nazwisku, a w innych miejscach tekstu na końcu akapitu. W tekście pracy w części cytowanych pozycji Autorka umieszczała inicjały imion autorów, w innych je pomijała.

W rozdziale wyniki umieszczone są bardzo lakoniczne opisy rycin i tabel. Autorka nie uniknęła też w tekście błędów literowych. Wskazane usterki nie mają jednak zasadniczego znaczenia i nie umniejszają wartości merytorycznej rozprawy.

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 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.) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn.zm.)” i przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie lekarza dentysty Alicji Aluchny do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem

UNIwersytet MEDYCZNY W ŁODZI  
 Katedra Stomatologii Odtwórczej  
 prof. dr hab. n. med. Jerzy Sokółowski