



Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Katedra i Zakład Stomatologii Wieku Rozwojowego

41-800 Zabrze, Plac Traugutta 2

tel. +48 (32) 271-36-12; +48 (32) 37-05-231 | fax.+48 (32) 271-36-12

e-mail: swrzab@sum.edu.pl www.sum.edu.pl; www.swr.sum.edu.pl

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych

lek. dent. Renaty Pazery

pt. „Wykorzystanie biologicznego potencjału niedojrzałych zębów stałych
w regeneracji kompleksu miazgowo-zębinowego w następstwie obumarcia miazgi
– badania kliniczne i doświadczalne”

Ocena formalna

Przedstawiona mi do oceny praca jest starannie zredagowanym, bardzo obszernym manuskrytem liczącym 252 strony. Konstrukcja pracy jest typowa dla tego rodzaju opracowań. Podział na rozdziały jest uzasadniony, uwzględnia on: *Wstęp* (2 strony), *Przegląd piśmiennictwa* (35 stron), *Cele pracy* (1 strona), *Materiał i metody* (36 stron), *Wyniki badań* (100 stron), *Dyskusję* (24 strony), *Wnioski* (1 strona), *Streszczenie* w języku polskim (4 strony) i angielskim (4 strony), *Piśmiennictwo* (16 stron), *Załączniki* (Zgoda Komisji Bioetycznej, Karta badania pacjenta, certyfikat komórek macierzystych pochodzących z miazgi ludzkiej DPSC), spis 114 rycin, spis 14 tabel. Na początku monografii zamieszczony jest wykaz skrótów.

Promotorem rozprawy jest prof. dr hab. n. med. Joanna Szczepańska.

Ocena merytoryczna

W krótkim *Wstępie* Autorka definiuje apeksogenezę i przedstawia metody endodontycznego postępowania leczniczego w przypadkach obumarcia miazgi w zębach z niezakończonym rozwojem korzeni – apeksyfikację oraz rewaskularyzację, w której główną rolę odgrywa angiogeneza, ponadto Autorka podaje znaczenie katelicyny (endogennego peptydu przeciwdrobnoustrojowego) w tym procesie. W bardzo obszernym *Przeglądzie piśmiennictwa* Doktorantka omawia kolejno specyfikę budowy

morfolologicznej niedojrzałych zębów stałych, etiopatogenezę nieodwracalnych pulpopatii (zapaleń i martwicy), konsekwencje tych stanów dla dalszego rozwoju korzeni, problem resorpcji pourazowych, metody leczenia endodontycznego w tych przypadkach, w tym tradycyjne postępowanie, tzn. apeksyfikację wieloetapową (z użyciem wodorotlenku wapnia) i jednoetapową (z użyciem preparatu MTA). Najwięcej uwagi Autorka poświęca w tym rozdziale nowej metodzie – rewaskularyzacji, której wieloaspektowa ocena stanowi przedmiot Jej rozprawy.

Doktorantka szczegółowo przedstawia technikę zabiegu, jej modyfikacje, wady, zalety i ograniczenia. Szeroko też opisuje molekularne podłoże rewaskularyzacji oraz podaje, na podstawie piśmiennictwa, budowę histologiczną nowo powstałej tkanki. W kolejnym podrozdziale opisuje proces angiogenezy w rewaskularyzacji, czynniki proangiogenne oraz rolę katelicydyny LL37 w mechanizmie angiogenezy. W końcowej części rozdziału opisuje materiały stosowane w endodontycznym leczeniu niedojrzałych zębów stałych (preparaty wodorotlenkowo-wapniowe, MTA, *Biodentine*, pasty antybiotykowe). Ponadto porusza zagadnienie stosowania lasera biostymulacyjnego wspomagającego procesy gojenia tkanek, również w obrębie jamy ustnej.

Na podstawie własnego doświadczenia klinicznego w leczeniu endodontycznym przypadków niedojrzałych zębów stałych, zwłaszcza tych powikłanych martwicą lub nieodwracalnym zapaleniem miazgi, oraz przeglądu aktualnego piśmiennictwa związanego z tą tematyką, Doktorantka wyznaczyła cztery cele pracy, którymi były:

1. Porównanie dwóch metod leczenia niedojrzałych zębów stałych po nieodwracalnym zapaleniu lub obumarciu miazgi – apeksyfikacji z wykorzystaniem MTA i rewaskularyzacji.
2. Ocena skuteczności leczenia resorpcji z wykorzystaniem materiału MTA.
3. Ocena wpływu katelicydyny na komórki macierzyste miazgi (DPSC) w aspekcie zwiększenia wydzielania czynników proangiogennych.
4. Analiza wpływu biostymulacji laserowej na rozwój korzenia oraz stymulację gojenia procesów zapalnych.

Aby osiągnąć zamierzone cele Doktorantka przeprowadziła szeroko zakrojone badania kliniczne i doświadczalne. W badaniach klinicznych zebranych 32 przypadków zębów stałych z nieuformowanymi korzeniami z rozpoznaniem martwicy miazgi lub jej nieodwracalnego zapalenia, po uwzględnieniu wskazań i przeciwwskazań, ogólnych i miejscowych, Autorka przeprowadziła leczenie endodontyczne metodą apeksyfikacji

z użyciem materiału MTA w 22 zębach (w streszczeniu podano 21 zębów) i metodą rewaskularyzacji w 7 zębach.

W 4 zębach, w których występowała pourazowa resorpcja zewnętrzna korzenia stosowana była metoda apeksyfikacji z użyciem preparatu MTA. W części przypadków (16 zębów, jak podano na stronie 154 w rozdziale *Wyniki badań*) Doktorantka zastosowała biostymulację światłem lasera. Leczenie endodontyczne apeksyfikacyjne lub regeneracyjne prowadzone było według ściśle określonego na podstawie piśmiennictwa i dokładnie opisanego przez Autorkę protokołu. Modyfikację stanowił skład pasty antybiotykowej stosowanej jako wkładka dokanałowa w jednym z etapów leczenia metodą rewaskularyzacji, mianowicie ze składu zawierającego metronidazol, minocyklinę i ciprofloksacynę usunięto ten ostatni i wprowadzono *Cefaklor*. Pasta była przygotowywana *ex tempore*. Kontrolę wyników leczenia kliniczną i radiologiczną prowadzono po 3, 6, 12 i 18 miesiącach od jego zakończenia.

Odnosząc się do tej części rozdziału *Materiał i metody*, uprzejmie proszę o podanie informacji:

- czy leczenie endodontyczne prowadzone było z użyciem mikroskopu zabiegowego lub w powiększeniu lup zabiegowych;
- jakim aparatem rentgenowskim wykonywane były zdjęcia rtg. (cyfrowe czy analogowe), w jakiej projekcji, jakie były parametry ekspozycji;
- na stronie 57 Doktorantka prezentuje przypadek leczony metoda apeksyfikacji (Rycina 13) w opisie podaje „ryciny 13 A-H”, natomiast przedstawione są tylko zdjęcia rtg. A-E, brakuje F, G, H.

Odnosząc się do protokołu leczenia metodą rewaskularyzacji zastosowanego przez Doktorantkę, zachęcam do zapoznania się z publikacją *Galler i wsp.: European Society of Endodontology position statement: Revitalization procedures. Int Endod J 2016: 49:717-723*, w której autorzy podają zmodyfikowaną procedurę, w której m.in. w miejsce pasty antybiotykowej wprowadzona jest pasta wodorotlenkowo-wapniowa (o znanych właściwościach bakteriobójczych).

W bardzo interesująco zaprojektowanych badaniach doświadczalnych prowadzonych w warunkach *in vitro* na hodowlach komórek macierzystych miazgi ludzkiej (DPSCs f. Lonza) Doktorantka przeprowadziła ilościową analizę (testem ELISA) wydzielanych czynników proangiogennych po stymulacji katelicydyną (f. Isca Biochemicals) ocenę zmian w genomie (testem RT-PCR), ocenę proliferacji

komórek macierzystych miazgi (testem Br DU) oraz zmienność ich fenotypu (metodą immunocytochemiczną).

Wyniki uzyskane z badań laboratoryjnych zostały poddane analizie statystycznej, w której wykorzystano właściwe testy. Na podkreślenie zasługuje opis zastosowanych metod statystycznych, który jest bardzo dokładny i zrozumiały.

Bardzo obszerne wyniki badań Autorka przedstawiła w odpowiednim rozdziale pracy. Wyniki badań klinicznych zostały zaprezentowane w bardzo ciekawej formie – jako studium kolejnych przypadków leczonych endodontycznie z powodu nieodwracalnego zapalenia miazgi, martwicy pourazowej metodą apeksyfikacji i rewaskularyzacji. Są one bardzo szczegółowo opisane i udokumentowane na fotografiach i zdjęciach rtg.

Podsumowanie wyników badań kontrolnych, klinicznych i radiologicznych, leczonych endodontycznie zębów zostało przedstawione w sposób opisowy oraz w tabelach 8 (str. 146), 9 (str. 150) i 10 (str. 152).

W tym miejscu chciałabym podkreślić ogromny wkład pracy Doktorantki w leczenie endodontyczne trudnych przypadków zębów niedojrzałych z nieuformowanymi korzeniami, również bardzo staranną, dokładnie prowadzoną dokumentację z przebiegu ich leczenia. Drobną moją uwagą dotyczy terminologii, mianowicie Doktorantka w opisie wyników leczenia używa określenia „most zębinowy” na określenie tworu powstałego w wyniku leczenia apeksyfikacyjnego, zamiast „zmineralizowana (uwapniona) bariera” o budowie mieszanej tkanki cemento-kostno-zębinopodobnej. Określenie „most zębinowy” zarezerwowane jest natomiast dla uwapnionej bariery powstałej po leczeniu żywej miazgi metodą przykrycia bezpośredniego lub jej przyżyciowej amputacji.

Wyniki badań laboratoryjnych zostały szczegółowo opisane i przedstawione na rycinach i zebrane w tabelach. Ujawniły one, że pod wpływem katelicyny nastąpił wzrost wydzielania czynników proangiogennych (FGF-2, PDGFAA, ANG1) przez komórki macierzyste miazgi ludzkiej, peptyd ten wpływa na poziomie genomu tych komórek. Nie zaobserwowano natomiast wzrostu proliferacji ani zmiany fenotypu komórek DPSCs po stymulacji katelicyną. Zatem można ją wykorzystać jako czynnik stymulujący angiogenezę w procesie rewaskularyzacji.

Bardzo obszerne piśmiennictwo zawierające 174 pozycje jest aktualne i dobrze

merytorycznie dobrane. W zdecydowanej większości są to pozycje anglojęzyczne autorów zagranicznych. Drobna uwaga: pozycja 45 podana jest dwukrotnie (również pod numerem 128). Proszę Doktorantkę, aby w przygotowywanych pracach do druku uwzględniła również osiągnięcia polskich autorów zajmujących się tą problematyką, m.in. ośrodka zabrzańskiego.

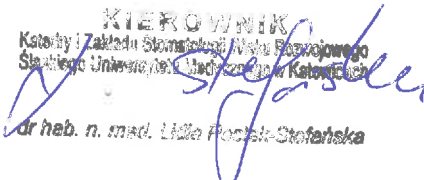
Streszczenia w języku polskim i angielskim zawierają najważniejsze elementy pracy i są spójne.

W podsumowaniu stwierdzam, że Doktorantka bardzo dobrze opanowała trudną problematykę rozprawy, wykazała się bardzo dużą umiejętnością zaplanowania eksperymentu naukowego, nakreślenia celów, opracowania metodyki badania, rzetelnego jego przeprowadzenia i wyciągnięcia właściwych wniosków na podstawie uzyskanych wyników. Podjęty przez Autorkę problem naukowy, który samodzielnie rozwiązała, wymagał od Niej poszerzenia wiedzy m.in. o zagadnienia z dziedziny biotechnologii i genetyki.

Przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską lek. dent. Renaty Pazery pt. „Wykorzystanie biologicznego potencjału niedojrzałych zębów stałych w regeneracji kompleksu miazgowo-zębinowego w następstwie obumarcia miazgi – badania kliniczne i doświadczalne” oceniam wysoko. W mojej opinii spełnia ona wszystkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim, dlatego też pozwalam sobie przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie lek. dent. Renaty Pazery do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto ze względu na dużą wartość pracy zarówno w aspekcie naukowym, jaki i praktycznym, wielokierunkowe podejście Doktorantki do podjętego problemu naukowego, ogromny nakład pracy włożony w realizację badań klinicznych i doświadczalnych, pozwalam sobie złożyć wniosek o wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

Zabrze, dnia 26.09.2017 r.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Stomatologii i Nauk Rozrodczo-rodzajowego
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

dr hab. n. med. Lidia Pochli-Stefańska