



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

ZAKŁAD CHOROÓB BŁONY ŚLIZOWEJ I PRZYŻĘBIA

ZBP-19-2024

Warszawa, 11 lipca, 2024 r.

Dr hab. n. med. Bartłomiej Górski
Warszawski Uniwersytet Medyczny
Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia
ul. Binińskiego 6, 02-097 Warszawa

Ocena

rozprawy doktorskiej lek. dent. Marka Chwiedosika

pt: Ocena wpływu fibryny bogatopłytkowej na stan kliniczny przyzębia oraz stężenia wybranych mediatorów zapalnych w płynie szczeliny dziąsłowej u pacjentów z zapaleniem przyzębia.

Zapalenie przyzębia to postępująca, destrukcyjna choroba aparatu zawieszeniowego zębów. Biofilm bakteryjny uznawany jest za główny czynnik etiologiczny wywołujący zapalenie przyzębia oraz prowadzący do destrukcji tkanek przyzębia. W płynie szczeliny dziąsłowej pacjentów z zapaleniem przyzębia obserwowane jest podwyższone stężenie mediatorów zapalnych, a także metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP). Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej są proteolitycznymi endopeptydazami zdolnymi do degradacji kolagenu, elastyny, żelatyny, glikoprotein macierzy i proteoglikanu. Jedną z najlepiej poznanych i przebadanych metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej jest MMP-8 (kolagenaza 2), której ekspresja odzwierciedla zaawansowanie, a także stopień destrukcji tkanek w zapaleniu przyzębia.

Leczenie zapalenia przyzębia wymaga postępowania kompleksowego, w którym wyróżnia się cztery kroki terapeutyczne: kontrolę biofilmu naddziąsłowego, kontrolę biofilmu w obszarze poddziąsłowym, eliminację głębokich kieszonek, których nie udało się spłycić we wcześniejszych fazach terapii, i fazę podtrzymującą. Podstawą terapii postępowania jest eliminowanie biofilmu bakteryjnego poprzez mechanoterapię (SRP). Wiele źródeł podaje pozytywny wpływ zastosowania koncentratów czynników wzrostu pozyskanych z krwi pacjentów na wyniki zabiegów z zakresu chirurgii periodontologicznej i stomatologicznej. Konsystencja i-PRF umożliwia aplikację w postaci iniekcji do kieszonek przyzębnych po wykonanej procedurze SRP, jednak wiedza na temat działania tego preparatu wymaga dalszych badań, w celu stworzenia i standaryzacji protokołów postępowania dających najlepsze korzyści kliniczne.

Obecny stan wiedzy na temat możliwościami zastosowania i-PRF w leczeniu niechirurgicznym zapalenia przyzębia jest niewystarczający, co skłoniło Doktoranta do zajęcia się tym zagadnieniem. Zasadność podjęcia tego tematu jest bezdyskusyjna, ma wartość poznawczą i praktyczną. Przedłożona do oceny praca doktorska wyrasta z krytycznego, ale i obiektywnego rozumienia tej tematyki. Dobre przygotowanie Doktoranta do prowadzenia obserwacji, znajomość współczesnego piśmiennictwa oraz syntetyczny styl pisania widoczne są już od pierwszych rozdziałów opracowania.

Opracowanie to ma wszystkie typowe części, a proporcje pomiędzy nimi są właściwe. Oceniana praca jest monografią liczącą łącznie 93 strony i zawiera 15 tabel, 38 rycin i 127 pozycji piśmiennictwa w języku polskim i angielskim. Przed wstępem pracę wzbogacono o wykaz i objaśnienia skrótów użytych w treści, co bardzo ułatwiło studiowanie rozprawy.

Wstęp (10 stron) jest syntetycznym wprowadzeniem w istotę zagadnienia, bardzo dobrze zbudowanym i opiera się na aktualnym piśmiennictwie. Autor wnikliwie opisuje etiologię zapalenia przyzębia, ze szczególnym uwzględnieniem kluczowej roli biofilmu bakteryjnego oraz metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej. Autor dokładnie charakteryzuje budowę i podział MMPs, zwracając uwagę na potencjalne wykorzystanie MMP-8 jako biomarkera w diagnostyce i w ocenie skuteczności terapii zapalenia przyzębia. Autor wyjaśnia w sposób szczegółowy etapy leczenia zapalenia przyzębia, słusznie podkreślając znaczenie mechanoterapii jako „złotego standardu”. W kolejnych akapitach Doktorant opisuje preparaty płytek krwi drugiej generacji pozyskiwane z krwi pacjentów o potencjalnym znaczeniu w leczeniu zapalenia przyzębia. Autor zwraca szczególną uwagę na potencjalne korzyści wynikające z miejscowej aplikacji i-PRF, jako

uzupełnienia mechanoterapii. Jest to doskonale przygotowana część pracy. Moim zdaniem warto byłoby wspomnieć o epidemiologii chorób przyzębia w Polsce w oparciu o prowadzone badania w grupach wiekowych 35-44 oraz 65-74. W akapitach opisujących leczenie zapalenia przyzębia należałoby wymienić obowiązujące wytyczne EFP, które bazują na czterech krokach terapeutycznych.

Celem badań była ocena skuteczności i-PRF w leczeniu pacjentów z zapaleniem przyzębia. Cel ten Doktorant postanowił osiągnąć przez:

- porównanie statusu klinicznego przyzębia po wykonaniu zabiegów mechanicznego oczyszczenia zębów i zabiegów oczyszczenia mechanicznego w połączeniu z zastosowaniem i-PRF do kieszonek przyzębnych,

- ocenę wpływu i-PRF na stężenie metaloproteiny macierzy pozakomórkowej 8 w płynie kieszonki u pacjentów z zapaleniem przyzębia.

Aby odpowiedzieć na postawione cele Doktorant włączył do badania 40 pacjentów (26 kobiet i 14 mężczyzn) w wieku 31-75 lat leczonych w Poradni Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. U pacjentów na podstawie badania podmiotowego, przedmiotowego oraz radiologicznego rozpoznano zapalenie przyzębia, co stanowiło jedno z kryteriów włączenia do badania. Badania przeprowadzono zgodnie z postanowieniami Deklaracji Helsińskiej z 1975 roku (aktualizacja w 2000 roku). Uzyskano pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (APK.002.122.2022). Pacjenci wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu.

W grupie pacjentów przeprowadzono dokładne badanie periodontologiczne, które obejmowało ocenę głębokości sondowania, recesji dziąseł, położenia przyczepu łącznotkankowego, wskaźnika płytki i ocenę wskaźników krwawienia. Badanie przeprowadzono w sztucznym oświetleniu przy pomocy lusterka i sondy periodontologicznej (PCP UNC15,Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Przyjęta metodologia badania klinicznego jest właściwa. Badanie periodontologiczne powtórzono po 1, 3 i 6 miesiącach od interwencji.

W kolejnym etapie pacjenci zostali podzieleni losowo na dwie grupy. Grupę badaną stanowiło 20 osób (11 kobiet i 9 mężczyzn; w wieku 31-75 lat) u których wykonano procedurę SRP, a następnie

do kieszonek podano i-PRF. W grupie kontrolnej znalazło się 20 osób (15 kobiet i 5 mężczyzn; w wieku 35-62 lat) u których wykonano jedynie procedurę SRP.

Na pierwszej wizycie oraz 2, 4 i 12 tygodni po zabiegu pobierano płyn z wybranych kieszonek przyzębnych o głębokości przynajmniej 5 mm za pomocą skalibrowanych pasków papierowych w celu oznaczenia stężenia MMP-8. Stężenie MMP-8 oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA. Oznaczano również ilość płynu z kieszonki przyzębnej (SFFR).

W przyjętej metodologii badania wyjaśnienia wymagają następujące kwestie:

- pominięty został opis randomizacji i zaślepienia,
- w jaki sposób została obliczona liczebność próby?
- czy była przeprowadzana kalibracja badacza?
- schemat graficzny badania (flow chart), z zaznaczeniem procesu rekrutacji oraz poszczególnych etapów badania, bardzo ułatwiłby zrozumienie tekstu,
- należy doprecyzować jaki rodzaj zdjęć radiologicznych był wykorzystany w celu postawienia rozpoznania zapalenia przyzębia,
- na stronie 26 Doktorant nadmienia, że płyn z kieszonek przyzębnych pobierano na pierwszej wizycie, 2, 4, 12 tygodni po interwencji, a także 6 miesięcy po zabiegu, co wydaje się być błędem, ponieważ w pozostałych częściach opracowania Autor pisze, że płyn z kieszonek pobierano na pierwszej wizycie, 2, 4 i 12 tygodni od zabiegu,
- SRP jest procedurą wykonywaną w drugim kroku terapeutycznym i należy ją poprzedzić kontrolą biofilmu w obszarze naddziąsłowym. Pierwszy krok terapeutyczny powinien zostać opisany w tej części pracy,

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej w programie Statistica 13.3 firmy Tibco z zastosowaniem testów Shapiro-Wilka, U Manna-Whitneya oraz Friedmana. Za próg istotności przyjęto $p < 0,05$. Wykorzystane narzędzia analizy statystycznej uważam za poprawne. Szkoda, że analizy nie poszerzono o modele regresji logistycznej.

Wyniki umieszczono w tabelach i rycinach, które zostały przygotowane przejrzysto. W badaniu wstępnym nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami w żadnym ocenianym parametrze klinicznym. Uważam, że należałoby dodać tabelę porównującą charakterystykę obu grup na początku badania.

Wszyscy zakwalifikowani pacjenci zgłaszali się na umówione wizyty i żaden z nich nie zrezygnował z udziału w badaniu. Gojenie u wszystkich pacjentów przebiegało bez powikłań.

W obu grupach zaobserwowano istotną statystycznie poprawę w zakresie ocenianych parametrów klinicznych względem stanu przed zabiegiem. W obu grupach liczba kieszonek ≥ 5 mm uległa zmniejszeniu. W grupie badanej FM PD po 1 i po 3 miesiącach od leczenia była istotnie statystycznie większa niż w grupie SRP. W obu grupach zaobserwowano zwiększenie wymiaru recesji dziąsła. Różnice pomiędzy badanymi grupami nie osiągnęły istotności statystycznej.

W obu badanych grupach zauważono statystycznie istotny zysk przyczepu klinicznego na przestrzeni kolejnych badań, ale nie stwierdzono znamienych różnic pomiędzy grupami. Zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej w wyniku zastosowanego leczenia doszło do zwiększenia wymiaru recesji dziąsła, również bez wyraźnej różnicy pomiędzy grupami.

U pacjentów obu grup podczas badania wstępnego stwierdzono zły stan higieny jamy ustnej wyrażony wysokimi wartościami wskaźnika FM PI. Zaniedbania higieniczne przekładały się na wartości wskaźników krwawienia w badaniu wstępnym. W obu grupach zaobserwowano sukcesywną redukcję wartości wymienionych wskaźników. Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w wartościach wskaźnika płytki pomiędzy grupami w badaniu po miesiącu, 3 i 6 miesiącach.

Analiza badań biochemicznych wykazała znamieny statystycznie spadek poziomu MMP-8 zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej, bez statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami. Spadek poziomu MMP-8 w obu grupach utrzymał się aż do badania po 6 miesiącach. Podobny trend zaobserwowano w ilości płynu z kieszonki przyzębnej (SFFR).

Za najważniejsze obserwacje uważam wykazanie istotnie większej redukcji w przypadku PD 0-6, CAL 0-3 oraz CAL 0-6 na korzyść grupy SRP + i-PRF. Poziom MMP-8 oraz SFFR w obu grupach uległ istotnie statystycznej redukcji bez różnicy między grupami.

Dyskusja (15 stron) stanowi doskonałą prezentację wiedzy i piśmiennictwa dotyczącego skuteczności zastosowania i-PRF w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia na podstawie oceny parametrów klinicznych i biochemicznych w oparciu o zaobserwowane przez Doktoranta wyniki badania własnego. Dyskusja jest wysoce merytoryczna i pogłębiona, co wynika ze znakomitego poruszania się Autora w dobrze dobranych kontekstach z piśmiennictwa z ostatnich lat. Prowadzone rozważania koncentrują się na konfrontacji wyników badania prowadzonego przez Doktoranta z wynikami badań prowadzonych na świecie. Autor porównuje wyniki własne z odpowiednimi doniesieniami literaturowymi, wykazując doskonałą znajomość piśmiennictwa. Słusznie wnioskuje, że pomimo braku techniki instrumentalnej, która umożliwiałaby całkowitą eliminację biofilmu bakteryjnego, to mechaniczne oczyszczenie powierzchni zęba ze złogów poddziąsłowych powoduje powrót tkanek przyzębia do homeostazy, zmniejszenie stanu zapalnego i poprawę parametrów klinicznych. Omówienie zależności pomiędzy akumulacją płytki nazębnej, a stopniem nasilenia stanu zapalnego tkanek przyzębia nie przynosi zaskoczeń i potwierdza konieczność szczególnie wzmożonej profilaktyki w tej grupie pacjentów. Doktorant przedstawia wytyczne opracowane podczas ostatnich warsztatów EFP dotyczące stosowania różnych dodatkowych metod leczniczych, które nie uwzględniają jednak zastosowania koncentratów płytkowych. Doktorant zauważa, że aplikacja i-PRF może prowadzić do dodatkowej poprawy parametrów klinicznych w obserwacji sześciomiesięcznej. Uzyskane w badaniach własnych wyniki Autor odnosi do innych publikacji, podkreślając różnice w metodologii pomiędzy poszczególnymi badaniami. Doktorant podkreśla zasadność przeprowadzenia podobnych badań na większej grupie pacjentów i rozszerzenie badań o osoby palące papierosy.

Na podstawie uzyskanych wyników Doktorant sformułował 4 wnioski, odpowiadające postawionym w celu pracy pytaniom.

Wykonane w pracy badania są przeprowadzone ze znajomością warsztatu naukowego i aktualnego piśmiennictwa. Rozprawę uważam za wartościową, zarówno ze względu na aspekty naukowe jak i praktyczne. Założone cele pracy zostały właściwie sformułowane, a zastosowane metody badawcze należy uznać za prawidłowe. Wyciągnięte wnioski są odpowiedzią na postawione cele pracy.

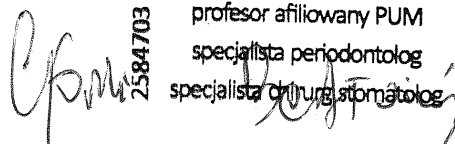
Z obowiązku recenzenta chcę zwrócić uwagę na następujące aspekty:

1. należy poprawić nieliczne błędy gramatyczne, stylistyczne i literowe w pracy (na przykład wyrażenie „ilość kieszonek” należy zastąpić „liczbą kieszonek”),
2. należy uzupełnić opis randomizacji i zaślepienia,
3. należy uzupełnić opis kalibracji badacza,
4. należy doprecyzować jaki rodzaj zdjęć radiologicznych był wykorzystany w celu postawienia rozpoznania zapalenia przyzębia,
5. schemat graficzny badania (flow chart) oraz tabela porównująca grupę badaną i kontrolną przed rozpoczęciem badania ułatwiłyby interpretację pracy,
6. należy podkreślić, że SRP było poprzedzone kontrolą biofilmu w obszarze naddziąsłowym w pierwszym kroku terapeutycznym.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości pracy i łatwo je będzie skorygować przed przygotowaniem pracy do druku. Przedstawiona praca doktorska spełnia kryteria rozprawy doktorskiej zgodnie z wymogami art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2023 poz. 742). Uważam, że Doktorant spełnia wszystkie wymagane warunki o ubieganie się o stopień doktora nauk medycznych i wnioskuję do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie lek. dent. Marka Chwiedosika do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Wnoszę również o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

dr hab.n.med. Bartłomiej Górski M.Sc.

profesor afiliowany PUM
specjalista periodontolog
specjalista chirurg stomatolog



Dr hab. n. med. Bartłomiej Górski