

**UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU**  
**WYDZIAŁ LEKARSKI Z ODDZIAŁEM STOMATOLOGII I**  
**ODDZIAŁEM NAUCZANIA W JĘZYKU ANGIELSKIM**



**lek. dent. Marek Chwiedosik**

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

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

**Promotor: dr hab. n. med. Anna Skurska**

Białystok 2024

*Szczególne podziękowania składam*

*Pani Promotor*

*Dr hab. n. med. Annie Skurskiej*

*za*

*nieocenioną pomoc, życzliwość, motywację i wyrozumiałość.*

## Spis treści

Spis treści .....	3
Spis tabel .....	4
Spis rycin .....	5
Wykaz skrótów .....	8
Streszczenie.....	10
Streszczenie w języku angielskim .....	11
Wstęp .....	12
Cel badań .....	21
Materiały i metody.....	22
Wyniki.....	35
Dyskusja.....	57
Wnioski.....	71
Piśmiennictwo.....	72
Załączniki.....	86

## Spis tabel

Tabela 1. Czynniki wzrostu zawarte w PRF oraz ich funkcje.

Tabela 2. Wyniki pomiarów FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania z całej jamy ustnej).

Tabela 3. Wyniki pomiarów FM CAL (Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego z całej jamy ustnej).

Tabela 4. Wyniki pomiarów FM GR (Gingival recession - recesji dziąsłowych z całej jamy ustnej).

Tabela 5. Redukcja parametrów FM PD, FM CAL, FM GR w grupach między badaniem 0,a badaniem po 1,3 i 6 miesiącach.

Tabela 6. Ilość kieszonek  $\geq 5\text{mm}$ .

Tabela 7. Średnia PD w kieszonkach  $\geq 5\text{mm}$ .

Tabela 8. Średni CAL w kieszonkach  $\geq 5\text{mm}$ .

Tabela 9. Średni GR w kieszonkach  $\geq 5\text{mm}$ .

Tabela 10. Różnica PD, CAL i GR kieszonek  $\geq 5\text{mm}$  w grupach po 1, 3 i 6 miesiącach względem badania 0.

Tabela 11. Wyniki pomiarów FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej).

Tabela 12. Wyniki pomiarów FM MBI (Full Mouth Marginal Bleeding Index – wskaźnik krwawienia brzeżnego całej jamy ustnej).

Tabela 13. Wyniki pomiarów FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – wskaźnik krwawienia przy sondowaniu całej jamy ustnej).

Tabela 14. Wyniki oznaczeń poziomu MMP-8 w GCF.

Tabela 15. Wyniki pomiarów SFFR w kieszonkach.

## Spis rycin

- Ryc. 1. Staza, próbówki i igła z wężykiem do pobierania krwi.
- Ryc. 2. Wirówka PRF Duo Quattro.
- Ryc. 3. Wklucie do żyły odpromieniowej.
- Ryc. 4. Krew pobierana do próbówki.
- Ryc. 5. Odwirowany i-PRF.
- Ryc. 6. Pobieranie i-PRF do strzykawki.
- Ryc. 7. i-PRF gotowy do aplikacji.
- Ryc. 8. Aplikacja i-PRF do kieszonek po zabiegu SRP.
- Ryc. 9. Schemat metody ELISA.([www.rndsystems.com](http://www.rndsystems.com))
- Ryc. 10. Schemat sporządzenia standardów do wykonania krzywej kalibracyjnej.  
([www.rndsystems.com](http://www.rndsystems.com))
- Ryc. 11. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania z całej jamy ustnej) przed zabiegiem.
- Ryc. 12. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania z całej jamy ustnej) miesiąc po zabiegu.
- Ryc. 13. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania z całej jamy ustnej) 3 miesiące po zabiegu.
- Ryc. 14. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania z całej jamy ustnej) 6 miesięcy po zabiegu.
- Ryc. 15. FM CAL (Full Mouth Clinical Attachment Level) - położenie przyczepu klinicznego z całej jamy ustnej w grupie SRP + i-PRF przed zabiegiem, miesiąc 3 i 6 miesięcy po zabiegu.
- Ryc. 16. FM CAL (Full Mouth Clinical Attachment Level) - położenie przyczepu klinicznego z całej jamy ustnej w grupie SRP przed zabiegiem, miesiąc 3 i 6 miesięcy po zabiegu.

Ryc. 17. FM GR (Full Mouth Gingival Recession) - poziom recesji dziąsłowej z całej jamy ustnej w grupie SRP + i-PRF przed zabiegiem, miesiąc, 3 i 6 miesięcy po zabiegu.

Ryc. 18. FM GR (Full Mouth Gingival Recession) - poziom recesji dziąsłowej z całej jamy ustnej w grupie SRP przed zabiegiem, miesiąc, 3 i 6 miesięcy po zabiegu.

Ryc. 19. PD (Probing Depth- głębokość sondowania) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie badanej SRP + i-PRF.

Ryc. 20. PD (Probing Depth- głębokość sondowania) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie kontrolnej SRP.

Ryc. 21. CAL (Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie badanej SRP + i-PRF.

Ryc. 22. CAL (Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie badanej SRP + i-PRF.

Ryc. 23. Redukcja PD miesiąc po zabiegu względem PD przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .

Ryc. 24. Redukcja PD 6 miesięcy po zabiegu względem PD przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .

Ryc. 25 Redukcja CAL 3 miesiące po zabiegu względem CAL przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .

Ryc. 26. Redukcja CAL 6 miesięcy po zabiegu względem CAL przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .

Ryc. 27. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) przed zabiegiem.

Ryc. 28. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) miesiąc po zabiegu.

Ryc. 29. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) 3 miesiące po zabiegu.

Ryc. 30. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) 6 miesięcy po zabiegu.

Ryc. 31. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) przed zabiegiem.

Ryc. 32. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) miesiąc po zabiegu.

Ryc. 33. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) 3 miesiące po zabiegu.

Ryc. 34. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) 6 miesięcy po zabiegu.

Ryc. 35. Poziom MMP-8 w grupie SRP + i-PRF w dniu zabiegu, 2 tygodnie, miesiąc i 3 miesiące po zabiegu.

Ryc. 36. Poziom MMP-8 w grupie SRP w dniu zabiegu, 2 tygodnie, miesiąc i 3 miesiące po zabiegu.

Ryc. 37. Wyniki pomiarów SFFR przed zabiegiem, 2 tygodnie, miesiąc, 3 miesiące i 6 miesięcy po zabiegu w grupie SRP + i-PRF.

Ryc. 38. Wyniki pomiarów SFFR przed zabiegiem, 2 tygodnie, miesiąc, 3 miesiące i 6 miesięcy po zabiegu w grupie SRP.

## Wykaz skrótów

A.a. - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A-PRF - Advanced Platelet-rich Fibrin – zaawansowana fibryna bogatopłytkowa

A-PRF+- advanced Platelet-rich Fibrin plus – zaawansowana fibryna bogatopłytkowa plus

BOP - Bleeding on Probing - wskaźnik krwawienia przy sondowaniu

CAL - Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego

C-PRF - concentrated injectable PRF, skoncentrowana iniekcyjna fibryna bogatopłytkowa

ECM - extracellular matrix – macierz pozakomórkowa

EGF - epidermal growth factor - epidermalny czynnik wzrostu

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – test immunoenzymatyczny

e-PRF - extended Platelet-rich Fibrin – fibryna bogatopłytkowa poddana obróbce cieplnej

FGF – fibroblast growth factor - czynnik wzrostu fibroblastów

FM - full mouth

GCF - gingival cervical fluid – płyn szczeliny dziąsłowej

GR - Gingival recession - recesje dziąsłowe

H-PRF - horizontal centrifuged Platelet-rich Fibrin, odwirowana poziomo fibryna bogatopłytkowa

IGF – insulin-like growth factor - insulinopodobny czynnik wzrostu

IL-1 – interleukina 1

IL-1 $\beta$  - interleukina 1 beta

IL-6 – interleukina 6

IL-8 – interleukina 8

i-PRF - injectable Platelet Rich Fibrin - płynna fibryna bogatopłytkowa

KTW- keratinised tissue width – szerokość dziąsła zrogowaciałego



MBI – Marginal Bleeding Index – wskaźnik krwawienia brzeżnego

MMPs – matrix metalloproteinases – metaloproteiny macierzy pozakomórkowej

OFD – open flap debridement

PD - Pocket depth - głębokość sondowania

PDGF - platelet-derived growth factor - płytkopochodny czynnik wzrostu

*P.g.- Porphyromonas gingivalis*

PI - Plaque Index - wskaźnik płytki

PRP – Platelet Rich Plasma – osocze bogatopłytkowe

PS – Plaque Score – wskaźnik płytki

RANKL - Receptor Activator for Nuclear Factor  $\kappa$  B Ligand - ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika  $\kappa$  B

RCF - relative centrifugal force - względna siła odśrodkowa

RPM - revolutions per minute - prędkość obrotowa

SRP - Scaling and root planing – skaling z wygładzeniem powierzchni korzeni

SFFR - Sulcus fluid flow rate – wskaźnik przepływu płynu kieszonki

*T.d. - Treponema denticola*

*T.f. - Tannerella forsythia*

TGF- $\beta$ 1 - Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 - transformujący czynnik wzrostu beta-1

TNF- $\alpha$  - Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  - czynnik martwicy guza alfa

T-PRF - titanium-prepared platelet-rich fibrin – fibryna bogatopłytkowa uzyskana w probówkach tytanowych

VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor - czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego

## Streszczenie

Cel: Ocena skuteczności i-PRF w leczeniu pacjentów z zapaleniem przyzębia oraz porównanie statusu klinicznego przyzębia po wykonaniu zabiegu SRP i zabiegów SRP w połączeniu z zastosowaniem i-PRF do kieszonek przyzębnych. Ocena wpływu i-PRF na stężenie MMP-8 w GCF pacjentów z zapaleniem przyzębia.

Materiał i metody: Czterdzieści ogólnie zdrowych osób ze stwierdzonym zapaleniem przyzębia zostało randomowo podzielonych na dwie grupy po 20 osób. W obu grupach wykonano procedurę SRP (skaling i root planing). W grupie badanej dodatkowo po zabiegu SRP podano do kieszonek przyzębnych i-PRF uzyskany z krwi obwodowej pacjenta. W dniu zabiegu i na wizytach kontrolnych po 1, 3 i 6 miesiącach przeprowadzono badanie z oceną stanu przyzębia. W dniu zabiegu i na wizytach po 2, 4 i 12 tygodniach z wybranych na pierwszej wizycie kieszonek pobrano płyn z kieszonek przyzębnych (GCF) do oceny poziomu MMP-8. Dodatkowo na wszystkich wizytach oznaczano SSFR. Wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 13.3 Tibco.

Wyniki: W obu grupach zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie parametrów klinicznych FM PD, FM CAL, FM BOP, FM PS, FM MBI względem stanu przed zabiegiem. W grupie SRP + i-PRF redukcja FM PD oraz FM BOP była istotnie statystycznie większa niż w grupie SRP. W obu grupach ilość kieszonek 5mm i większych uległa zmniejszeniu, doszło do istotnego spadku PD i CAL kieszonek  $\geq 5$ mm i zwiększenia GR w grupie SRP. Istotnie większa redukcja między grupami odnotowana została 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.

Wnioski: SRP jako złoty standard leczenia zapalenia przyzębia prowadzi do poprawy parametrów klinicznych. Zastosowanie i-PRF jako dodatku do SRP wpływa na zmianę parametrów PD, CAL oraz BOP. Terapia SRP zmniejsza poziom MMP-8 w GCF. Zastosowanie i-PRF nie powoduje dodatkowej redukcji MMP-8.

## Streszczenie w języku angielskim

**Objectives:** To evaluate the effectiveness of i-PRF in the treatment of patients with periodontitis and to compare the clinical status of the periodontium after SRP and SRP procedures combined with the application of i-PRF to periodontal pockets. Assessment of the effect of i-PRF on MMP-8 concentration in the GCF of patients with periodontitis.

**Material and methods:** Forty subjects with diagnosed periodontitis were randomly divided into two groups of 20 people each. In both groups, the SRP procedure (scaling and root planing) was performed. In the study group, after the SRP procedure, i-PRF obtained from the patient's peripheral blood was additionally administered to the periodontal pockets. On the day of the procedure and at follow-up visits after 1, 3 and 6 months, an examination was performed to assess the periodontal parameters. On the day of the procedure and at visits after 2, 4 and 12 weeks, gingival cervicular fluid (GCF) was collected from the pockets selected at the first visit to assess the level of MMP-8. Additionally, SSFR was measured at all visits. The results were statistical analysed with the use of Statistica 13.3 Tibco software.

**Results:** In both groups, a statistically significant reduction in clinical parameters FM PD, FM CAL, FM BOP, FM PS, FM MBI compared to the condition before the procedure was observed. In the SRP + i-PRF group, the reduction in FM PD and FM BOP was statistically significantly higher than in the SRP group. In both groups, the number of 5 mm and larger pockets decreased, there was a significant decrease in PD and CAL of pockets  $\geq 5$  mm and an increase in GR in the SRP group. A significantly greater reduction between the groups was noted in the case of PD 0-6, CAL 0-3 and CAL 0-6 in favour of the SRP + i-PRF group. The levels of MMP-8 and SSFR in both groups were statistically significantly reduced with no difference between the groups.

**Conclusions:** SRP as the gold standard treatment for periodontitis leads to improvement of clinical parameters. The use of i-PRF as an addition to SRP significantly affects the change of PD, CAL and BOP parameters. SRP therapy reduces MMP-8 levels in GCF. The use of i-PRF does not result in additional reduction of MMP-8.

## Wstęp

Przyzębie (*periodontium*) to zespół struktur utrzymujących ząb w zębodole. W jego skład wchodzi: kość wyrostka zębodołowego, ozębna, cement korzeniowy oraz dziąsło (1). Klinicznie zdrowe przyzębie odnosi się do stanu, w którym brak jest cech stanu zapalnego. Dziąsło jest bladoróżowe i przylega do twardych tkanek zęba. Szczelnie chroni przed niekorzystnymi czynnikami mechanicznymi i mikrobiologicznymi niżej położone struktury aparatu zawieszeniowego. Nie występują: krwawienie przy sondowaniu w zakresie większym niż 10% badanych miejsc, obrzęk, zaczerwienienie, pogłębienie sondowania oraz utrata przyczepu klinicznego (2, 3).

Zapalenie przyzębia (*Periodontitis*) to postępująca, destrukcyjna choroba aparatu zawieszeniowego zębów. W obrazie klinicznym obserwuje się utratę przyczepu klinicznego, powstawanie kieszonek przyzębnych oraz rozchwianie zębów, natomiast w obrazie radiologicznym poziome i pionowe ubytki kości wyrostka zębodołowego (4). *Periodontitis* stanowi kompleksowe schorzenie o wielowymiarowym charakterze, uwzględniające skomplikowaną interakcję między mikroflorą poddziąsłową, reakcją immunologiczną organizmu oraz czynnikami środowiskowymi (5). Dlatego też zdrowie jamy ustnej nie może być postrzegane jedynie poprzez kontrolę poziomu płytki nazębnej i bakterii, lecz wymaga holistycznego podejścia, uwzględniającego wszystkie czynniki prowadzące do wystąpienia schorzenia oraz zapewniającego przywrócenie i utrzymanie zdrowia (6).

Biofilm bakteryjny uznawany jest za główny czynnik etiologiczny wywołujący zapalenie dziąseł oraz prowadzący do destrukcji tkanek przyzębia (7). Biofilm jest dobrze zorganizowanym zespołem mikroorganizmów bytujących na powierzchni zębów i w obrębie szczelin dziąsłowych. Bakterie biofilmu grupują się w mikrokolonie otoczone przez matrix, w której znajdują się kanały płynowe, przenoszące składniki odżywcze, produkty przemiany materii, enzymy, metabolity i tlen (8). Za najbardziej zjadliwe dla przyzębia uważa się bakterie: *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Tannerella forsythia* (T.f.), *Treponema denticola* (T.d.) oraz *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.). Szczególną rolę w patogenezie zapaleń przyzębia odgrywa kompleks trzech bakterii: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* i *Treponema denticola*, określane mianem czerwonego kompleksu (wg

Socranskiego). Bakterie czerwonego kompleksu wykrywane są u osób z zaawansowaną destrukcją przyzębia (9, 10, 11,12).

W *Periodontitis* zwiększona ilość periopatogenów w okolicy poddziąsłowej wywołuje mechanizmy obronne związane z produkcją czynników zapalnych oraz zwiększonej ilości płynu szczeliny dziąsłowej (GCF ang. gingival cervical fluid). W wyniku stanu zapalnego, z powodu podwyższonej ekspresji cytokin prozapalnych dochodzi do destrukcji tkanek przyzębia (13). W GCF pacjentów z zapaleniem przyzębia w porównaniu ze zdrowymi obserwowane jest zwiększone stężenie: IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , białka RANKL, a także metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP) (14,15). Uważa się, że poziom proteinaz odgrywa istotną rolę w regulacji obrotu tkanki i odzwierciedla zaawansowanie zmian w przyzębiu (16,17).

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMP) nazywane również matryksynami są proteolitycznymi metalozależnymi endopeptydazami zdolnymi do degradacji składników macierzy pozakomórkowej (ECM ang. extracellular matrix), w tym kolagenu, elastyny, żelatyny, glikoprotein macierzy i proteoglikanu. W swojej budowie zawierają atom cynku (Zn<sup>2+</sup>) będący katalizatorem enzymów. W większości komórek organizmu, od fibroblastów przez keratynocyty, makrofagi, komórki śródbłonna, po komórki dendrytyczne Langerhansa, neurony, komórki mikrogleju, miocyty, monocytach, limfocyty T, leukocyty, granulocyty obojętnochłonne, a nawet komórki nowotworowe, można zaobserwować ekspresję i produkcję metaloproteinaz. To sugeruje ich powszechną obecność i znaczenie w różnorodnych procesach biologicznych, takich jak odpowiedź immunologiczna, gojenie ran czy procesy nowotworzenia (18, 19, 20, 21). U człowieka zidentyfikowano 24 rodzaje metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs).

Matryksyny są syntetyzowane w postaci zymogenu, zwanej także formą latentną lub proMMP, która jest prekursorem aktywnego enzymu. Te białka są później transportowane do macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) lub zakotwiczone w obrębie błony komórkowej, co determinuje miejsce ich aktywności. Łącznie matryksyny są zdolne do przeprowadzenia degradacji wszystkich składników ECM. Ta zdolność do degradacji różnych elementów macierzy zewnątrzkomórkowej odgrywa istotną rolę w regulacji homeostazy tkankowej oraz w procesach fizjologicznych (22, 23).

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs) charakteryzują się zróżnicowaną budową, jednak istnieją pewne powtarzające się domeny w ich strukturze. Kluczowe elementy to:

1. Peptyd sygnałowy: Odpowiada za kierowanie enzymu do właściwego miejsca w komórce i ułatwia jego sekrecję.
2. Domena katalityczna: To aktywna część enzymu, gdzie zachodzi degradacja substratów. Składa się z ok. 170 aminokwasów. W obrębie tej domeny znajduje się miejsce aktywne, zawierające sekwencję aminokwasów (HEXXHXXGXXH), w której obecne 3 cząsteczki histydyny (H) wiążą atom cynku.
3. Propeptyd (prodomena): Jest to fragment, który chroni enzym w postaci zymogenu (proenzymu) przed wczesną aktywacją oraz reguluje jego aktywność (24).

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs) dzielą się na cztery specyficzne grupy, uwzględniając ich budowę strukturalną oraz powinowactwo do substratu. Podział ten uwzględnia zarówno ich strukturalną różnorodność, jak i różne specyficzne funkcje w degradacji składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz regulacji procesów biologicznych (23):

1. Archetypowe MMPs:
  - Kolagenazy: MMP-1 (Kolagenaza-1), MMP-8 (Kolagenaza-2), MMP-13 (Kolagenaza-3).
  - Stromielizyny: MMP-3 (Stromielizyna-1), MMP-10 (Stromielizyna-2).
  - Inne MMPs: MMP-12 (Metaloelastaza), MMP-19, MMP-20 (Enamelizyna), MMP-27.
2. Żelatynazy: • MMP-2 (Żelatynaza A), MMP-9 (Żelatynaza B).
3. Matrylizyny: • MMP-7 (Matrylizyna), MMP-26 (Matrylizyna-2).
4. MMPs aktywowane przez furyny:
  - MMP wydzielane jako formy aktywne: MMP-11 (Stromielizyna-3), MMP-28 (Epilizyna).
  - Metaloproteinazy I typu błonowego (MT-MMP): MT1-MMP (MMP-14), MT2-MMP (MMP-15), MT3-MMP (MMP-16), MT5-MMP (MMP-24).
  - MMP zakotwiczone przez glikozylofosfatydyloinozytol (GPI-anchored): MT4-MMP (MMP-17), MT6-MMP (MMP-25).

- Metaloproteiny II typu błonowego: MMP-23A, MMP-23B.

Ze względu na to, że kolagen typu I jest głównym składnikiem macierzy pozakomórkowej tkanek przyzębia, w *periodontitis* badacze szczególną uwagę zwrócili na kolagenazy MMP-8, MMP-1 i MMP-13 oraz żelatynazy MMP-2 i MMP-9. W tkankach dziąseł, płynie szczeliny dziąsłowej oraz ślinie zmiany w poziomie tych enzymów korelowały z zaawansowaniem choroby oraz odpowiedzią tkanek na leczenie (25,26).

Jedną z najlepiej poznanych i przebadanych metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej jest MMP-8 (kolagenaza 2; typ neutrofilowy) (27, 28, 29). MMP-8 jest enzymem o wadze 75 kDa obecnym w głównej mierze w ziarnistościach specyficznych granulocytów obojętnochłonnych. Jego występowanie stwierdzono jednak również w chondroblastach, a także w fibroblastach dziąsła i ozębnej (30, 31, 32). Ważną funkcją biologiczną MMP-8 w przyzębiu jest ułatwianie migracji leukocytów, zwłaszcza granulocytów obojętnochłonnych, z krążenia do kieszonki przyzębnej (33). Badania Golub i wsp. (34) oraz Ingman i wsp. (35) jako pierwsze ukazały, że MMP-8 jest główną kolagenazą obecną *in situ* w dziąśle i płynie ze szczeliny dziąsłowej pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia i najprawdopodobniej inicjuje proces destrukcji tkanek w miejscach aktywnego zapalenia. W literaturze wykazano również, iż do wzrostu poziomu MMP-8 dochodzi w wyniku zwiększonego stresu oksydacyjnego powodowanego przez mieloperoksydazę pochodzącą z neutrofilii oraz metabolity bakterii *Porphyromonas gingivalis* oraz *Treponema denticola* (36). Ekspresja i aktywacja MMP-8, odzwierciedla zatem zaawansowanie zmian zapalnych, a także stopień degradacji tkanek w zapaleniu przyzębia (37). Co więcej, opublikowany ostatnio przegląd systematyczny i metaanaliza wykazała, że poziom tego biomarkera (MMP-8) jest klinicznie najbardziej użyteczny w diagnostyce *periodontitis*, niezależnie od tego czy pacjent jest palaczem tytoniu. Testy wykazały czułość oraz specyficzność na poziomie odpowiednio 76,7% i 92,0% (28, 29).

Leczenie zapalenia przyzębia jest kompleksowym procesem, który można podzielić na kilka faz, zaczynając od przygotowania pacjenta, poprzez eliminację przyczyn choroby, interwencje chirurgiczne, aż po utrzymanie wyników terapii i profilaktykę nawrotów.

W fazie ogólnej leczenia działania koncentrują się na przygotowaniu pacjenta do leczenia periodontologicznego. Obejmują one kontrolę chorób ogólnych, które mogą mieć wpływ na przebieg i leczenie *periodontitis*, edukację pacjenta, eliminację nałogów, takich jak

np.: palenie tytoniu (38, 39, 40). Przygotowany pacjent może rozpocząć tzw. leczenie przyczynowe polegające na eliminacji złogów nad- i poddziąsłowych oraz miejscowych czynników sprzyjających akumulacji płytki (41). Poprzez mechanoterapię z użyciem skalerów dźwiękowych, ultradźwiękowych oraz narzędzi ręcznych usuwane są periopatogeny z powierzchni zębów i tkanek przyzębia. Na tym etapie wykonywane jest także niezbędne leczenie zachowawcze, endodontyczne, ekstrakcje zębów nierokujących oraz uzupełnienia tymczasowe i wstępna korekta okluzji. W niektórych sytuacjach leczenie pacjenta z *periodontitis* wymaga zdrożenia procedur chirurgicznych umożliwiających skorygowanie skutków choroby. Postępowanie takie obejmuje leczenie resekcyjne i rekonstrukcyjne, a także leczenie nieprawidłowości śluzówkowo- dziąsłowych. W wielu przypadkach musi być to postępowanie bardziej interdyscyplinarne, angażujące również leczenie ortodontyczne, a także procedury z zakresu protetyki, czy implantoprotetyki. Po zakończeniu leczenia aktywnego pacjent rozpoczyna tzw. leczenie/ fazę podtrzymującą, której celem jest utrzymanie wyników terapii i profilaktyka nawrotów. Regularne wizyty kontrolne oraz odpowiednia higiena jamy ustnej są kluczowe dla monitorowania stanu przyzębia i wczesnego wykrywania ewentualnych nawrotów choroby (42).

Ze względu na infekcyjny charakter choroby postępowanie terapeutyczne *periodontitis* skupia się w znacznej mierze na eliminacji bakterii z jamy ustnej. Leczenie niechirurgiczne polega na mechanicznym rozbiciu struktury biofilmu bakteryjnego, a tym samym na redukcji ilości patogenów obecnych w kieszonkach przyzębnych. Złogi kamienia poddziąsłowego, które eliminujemy również w trakcie tych procedur, stanowią dodatkowe miejsce akumulacji płytki i mechanicznie drażnią tkanki przyzębia. Podstawą terapii i „złotym standardem” postępowania jest SRP (Scaling and root planing) (43, 44). SRP może być wykonywany za pomocą narzędzi ręcznych jak i maszynowych z równą skutecznością. Literatura nie dostarcza informacji na temat nadrzędności jednej metody leczenia. Zarówno stosowanie narzędzi ręcznych, jak i maszynowych ma swoje wady i zalety. Eksperci zgadzają się natomiast w kwestii czynników wpływających na skuteczność terapii. Podkreślane w literaturze jest, iż na efektywność SRP wpływ ma wyjściowa głębokość kieszonek, rodzaj zęba i doświadczenie, czy też dokładność pracy operatora (45, 46).

Poprzez eliminację periopatogenów oraz zmniejszenie stanu zapalnego, dochodzi do spłycenia kieszonek, wyeliminowania obrzęków i krwawienia, a tym samym poprawy zdrowia przyzębia (47, 48, 49). W medycynie nieustannie trwają poszukiwania leków oraz



sposobów na poprawienie jakości leczenia i zoptymalizowanie sukcesów leczniczych. W stomatologii, w zabiegach z zakresu chirurgii stomatologicznej i periodontologii lekarze mierzą się z problemem utrzymania zdrowia tkanek miękkich oraz kości wyrostka zębodołowego. Poza nieustannym doskonaleniem technik leczniczych pożądane są procedury i preparaty, których zastosowanie zmniejszy dolegliwości pozabiegowe oraz poprawi proces terapeutyczny. Łatwo dostępne i stosunkowo tanie w uzyskaniu są autologiczne krwiopochodne koncentraty płytek krwi.

Koncentraty płytek krwi powstają w wyniku odwirowania pobranej próbki krwi obwodowej pacjenta (50). Pod koniec lat 90-tych Marx i wsp. (51) opisali pozytywne działanie koncentratów płytkowych na gojenie tkanek miękkich i kości. Ich działanie jest warunkowane dużą zawartością autologicznych czynników wzrostu. Zastosowany przez Marx'a i współautorów materiał obecnie znany jest jako preparat płytkowy pierwszej generacji – osocze bogatopłytkowe (PRP – Platelet Rich Plasma). Uzyskuje się je przez odwirowanie krwi z użyciem antykoagulantów. Akumulacja płytek krwi w PRP jest od 2 do 5 krotnie większa niż we krwi obwodowej (norma u człowieka to 150-350 tys komórek/ $\mu$ l krwi). Skutkuje to znacznie wyższym poziomem czynników wzrostu względem skrzepów krwi obwodowej o podobnej objętości (52, 53, 54, 55). Jedną z zalet PRP jest jego płynna postać, która umożliwia łatwe łączenie z różnymi biomateriałami lub podawanie w formie iniekcyjnej w np.: terapiach ortopedycznych. W literaturze możemy znaleźć wiele pozycji opisujących korzyści z zastosowania PRP, jednak wydaje się, że jego działanie ograniczone jest w pewnym zakresie przez zastosowanie antykoagulantów. Wiemy, że krzepnięcie jest ważnym aspektem procesów gojenia, a działanie antykoagulantów w trakcie pozyskiwania PRP może wg niektórych autorów wstrzymywać jego regeneracyjne właściwości (56).

Fibryna bogatopłytkowa (PRF) to preparat płytek krwi drugiej generacji opisany przez Choukroun i wsp. (57, 58). Uzyskiwany jest poprzez odwirowanie krwi w próbkach szklanych lub z tworzywa sztucznego wyścielonych powłoką szklaną bez dodatku antykoagulantów. Preparat tworzy trójwymiarową sieć fibrynową, zawierającą płytki krwi i leukocyty, czynniki wzrostu oraz cytokiny. Siatka fibrynowa umożliwia wolniejszą degradację i dłuższe uwalnianie czynników wzrostu w miejscu zdeponowania (59).

Na przestrzeni kolejnych lat Choukroun i wsp. rozwinęli technikę pozyskiwania PRF. Według autorów spośród preparatów fibrynowych w zależności od zastosowanego protokołu

wirowania (RPM- revolutions per minute, prędkość obrotowa; czas wirowania; RCF-relative centrifugal force, względna siła odśrodkowa) można uzyskać (60,61,62):

- L-PRF- leucocyte PRF, leukocytny PRF - (2700rpm; 12min, 400g) postać żelu. Zawiera większe stężenie leukocytów względem PRP.
- A-PRF- advanced PRF, zaawansowany PRF - (1500rpm; 14min, 230g) postać żelu. Uzyskiwany przez zmniejszenie siły odśrodkowej. Powoduje to wypchnięcie cięższych komórek w kierunku dna próbówki i zwiększa stężenie leukocytów i czynników wzrostu tj.: TGF- $\beta$ 1, VEGF, PDGF, EGF i IGF1 w matrycy fibrynowej (63).
- A-PRF+- advanced PRF plus, zaawansowany PRF plus - (1300rpm; 8min, 200g) Otrzymywany przez kolejne skrócenie czasu wirowania oraz prędkości obrotowej, co powoduje zwiększenie ilości leukocytów oraz czynników wzrostu (64).
- i-PRF- injectable PRF, iniekcyjny PRF - (700rpm; 3min, 60g) postać płynna. Uzyskiwana z krwi pobranej do próbek wykonanych ze specjalnie opracowanego poliwęglanu (65).
- H-PRF- horizontal centrifuged PRF, odwirowywany poziomo PRF
- C-PRF- concentrated injectable PRF, skoncentrowany iniekcyjny PRF
- e-PRF- extended PRF, wydłużony PRF - PRF poddany obróbce cieplnej
- T-PRF- titanium-prepared platelet-rich fibrin (2800rpm, 12min, 400g) – PRF przygotowany w próbkach tytanowych.

Czynnik	Funkcja
<b>PDGF (plytkopochodny czynnik wzrostu)</b>	-reguluje proliferację i migrację komórek -bierze udział w angiogenezie -stymuluje migrację i proliferację linii komórek mezenchymatycznych -pobudza chemotaksję i aktywację makrofagów -indukuje wydzielanie TGF- $\beta$ z makrofagów
<b>VEGF (czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego)</b>	-pobudza mitozę komórek śródbłonna i ich migrację -zwiększa przepuszczalność naczyń włosowatych -bierze udział w angiogenezie
<b>TGF-<math>\beta</math>1 (transformujący czynnik wzrostu beta-1)</b>	-pobudza syntezę fibronektyny i kolagenu -indukuje gojenie tkanek

	<ul style="list-style-type: none"> <li>-pobudza fagocytozę</li> <li>-stymuluje angiogenezę,</li> <li>-zapobiega rozpadowi kolagenu,</li> <li>-indukuje chemotaksję fibroblastów i komórek odpornościowych,</li> <li>-hamuje tworzenie osteoklastów i niszczenie kości</li> </ul>
<b>IGF (insulinopodobny czynnik wzrostu)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-hamowanie apoptozy i zwiększenie produkcji białek komórkowych</li> <li>- stymulowanie wzrostu i podziałów komórek</li> <li>-stymuluje chemotaksję i aktywację osteoblastów oraz tworzenie kości</li> <li>-indukuje różnicowanie komórek mezenchymalnych</li> </ul>
<b>EGF (epidermalny czynnik wzrostu)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-pobudza syntezę kolagenu, elastyny i fibronektyny</li> <li>-wpływa chemotaktycznie na fibroblasty</li> <li>-promuje angiogenezę</li> <li>-stymuluje proliferację i różnicowanie komórek nabłonkowych</li> <li>-zwiększa wydzielanie cytokin z komórek nabłonkowych i mezenchymalnych</li> </ul>
<b>FGF (czynnik wzrostu fibroblastów)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-pobudza fibroblasty</li> <li>-przyspiesza gojenie ran</li> </ul>
<b>IL-1<math>\beta</math> (interleukina 1 beta)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-bierze udział w przebudowie tkanek</li> <li>-stymuluje limfocyty T do produkcji IL-6</li> <li>-zwiększa chemotaksję limfocytów T</li> <li>-wpływa na rozwój limfocytów B</li> <li>-zwiększa ekspresję cząstek adhezyjnych na komórkach śródbłonna</li> <li>-aktywuje osteoblasty</li> </ul>
<b>IL-4 (interleukina 4)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-stymuluje aktywność makrofagów i monocytów</li> <li>-pobudza procesy krwiotwórcze</li> <li>-indukuje różnicowanie komórek B do plazmocytów,</li> <li>-indukuje różnicowanie limfocyty T do Th2</li> </ul>
<b>TNF-<math>\alpha</math> (czynnik martwicy)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-indukuje cytotoksyczność neutrofilii</li> </ul>

<b>guza alfa)</b>	-wzmacnia zdolności remodelingowe fibroblastów
<b>IL-6 (interleukina 6)</b>	- wpływa na ograniczenie reakcji zapalnej - indukuje różnicowanie limfocytów T -stymuluje różnicowanie limfocytów B i wydzielanie przeciwciał

Tabela 1. Czynniki wzrostu zawarte w PRF oraz ich funkcje (58, 66, 67).

Po odwirowaniu i-PRF zawiera płynny fibrynogen i trombinę, które nie zostały skonwertowane do fibryny. W swoją stałą, trójwymiarową strukturę i-PRF przechodzi po 10-15 minutach od wirowania (68). Uzyskana konsystencja umożliwia podanie preparatu w postaci iniekcji, dzięki czemu możliwe jest zaaplikowanie jej do kieszonek przyzębnych po wykonanej procedurze SRP i uzyskanie stabilnego opatrunku o istotnych właściwościach leczniczych.

Zastosowanie i-PRF w procesach gojenia i modulowania procesu stanu zapalnego budzi zainteresowanie i jest przedmiotem wielu badań klinicznych. Z powodzeniem stosowany jest w procedurach z zakresu chirurgii periodontologicznej i stomatologicznej, regeneracji kości, ortopedii, iniekcji do stawów (skroniowo-żuchwowych, kolanowych), procedurach z zakresu medycyny estetycznej w celu odżywienia i ujędrnienia powłok skórnych, a także regeneracji i odżywienia włosów skóry głowy (56,69).

Wiedza jednak na temat działania, procesów oraz możliwych sposobów wykorzystania tego preparatu wciąż wymaga dalszych badań, w celu stworzenia i standaryzacji protokołów postępowania dających najlepsze korzyści kliniczne.

## **Cel badań**

W etiopatogenezie zapaleń przyzębia główną rolę przypisuje się bakteriom biofilmu poddziąsłowego. Z tego względu głównym celem terapii choroby jest jego eliminacja i ograniczenie wpływu na przyzębie. Drugim ważnym elementem procesu leczniczego jest zoptymalizowanie procesów gojenia, których zadaniem jest naprawa tkanek, a także zintensyfikowanie regeneracji struktur, które zostały zniszczone w przebiegu procesu chorobowego.

Fibryna bogatopłytkowa ze względu na swoje właściwości wspomagające przebieg gojenia i poprawiające jego jakość, a także stymulujące procesy regeneracyjne jest wykorzystywana w medycynie od lat. Dostępne piśmiennictwo dostarcza jednak nielicznych informacji na temat efektywności zastosowania PRF w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia.

Dlatego celem badań była ocena skuteczności i-PRF w leczeniu pacjentów z zapaleniem przyzębia.

Cel ten postanowiono 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 metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 8 w płynie kieszonki u pacjentów z zapaleniem przyzębia.

Cel badań łączy aspekty kliniczne, biochemiczne i terapeutyczne, mające na celu poszerzenie wiedzy na temat skuteczności i-PRF w leczeniu zapalenia przyzębia oraz zidentyfikowanie możliwych korzyści dla pacjentów.

## **Materiały i metody**

Przed przystąpieniem do badań, ich cel i ryzyko zostały dokładnie wytłumaczone uczestnikom. Od wszystkich pacjentów uzyskano pisemną zgodę na udział w badaniach. Badania przeprowadzono w Zakładzie Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku zgodnie z Deklaracją Helsińską z 1975 roku (uwzględniając poprawki z 2000 roku), po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (APK.002.122.2022). Badanie zostało zaprojektowane jako badanie jednośrodkowe, zrandomizowane, zaślepione, prospektywne.

Czterdziestu ogólnie zdrowych 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 zostało zakwalifikowanych do badań. Na podstawie badania podmiotowego, przedmiotowego oraz radiologicznego rozpoznano zapalenie przyzębia.

Kryteria włączenia pacjentów były następujące:

1. Stwierdzenie klinicznych i radiologicznych cechy zapalenia przyzębia.
2. Obecność przynajmniej 4 zębów i minimum 2 kieszonek o głębokości przynajmniej 5mm w każdej ćwiartce.

Kryteria wykluczenia pacjentów były następujące:

1. Leczenie periodontologiczne w przeciągu 3 miesięcy przed badaniem.
2. Antybiotykoterapia w przeciągu 3 miesięcy przed badaniem.
3. Palenie papierosów.
4. Obecność chorób ogólnych wpływających na gojenie w przyzębiu tj.: choroby immunosupresyjne, cukrzyca, osteoporoza, AIDS, nadciśnienie leczone blokerami kanałów wapniowych.
5. Przyjmowanie leków sterydowych lub innych leków działających immunosupresyjnie.
6. Schorzenia układu krzepnięcia oraz przyjmowanie leków wpływających na jego mechanizmy.

7. Posiadający nieprawidłowo wykonane wypełnienia bądź uzupełnienia protetyczne o okolicach przydziąsłowych.
8. Kobiety ciężarne oraz karmiące piersią.

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 (ang. scaling and root planing – usunięcie złogów i wygładzenie powierzchni korzeni) a następnie do kieszonek podano i-PRF (ang. injectable Platelet Rich Fibrin – płynną fibrynę bogatopłytkową). W grupie kontrolnej liczącej również 20 osób (15 kobiet i 5 mężczyzn; w wieku 35-62 lat) wykonano jedynie procedurę SRP.

### **Procedura kliniczna**

Procedura terapeutyczna (scaling and root planing) wykonana została w znieczuleniu miejscowym (Septanest 200, Septodont, Paris, France), przy użyciu urządzenia ultradźwiękowego (EMS Piezon, Tip PS, EMS, Nyon, Switzerland) oraz instrumentów ręcznych (Gracey currettes (SMS), Hu-Friedy, Chicago, IL, USA)

W grupie badanej i-PRF został przygotowany przy użyciu urządzenia dostępnego w Zakładzie Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej (Wirówka PRF Duo Quattro, Choukroun Process For PRF, Nice, France). Po wykonanej procedurze SRP i-PRF został podany do kieszonek.

Pozabiegowo pacjenci z obu grup stosowali płukanekę z zawartością 0,2% chlorheksydyny (Eludril, Pierre Fabre Laboratories, Paris, France) dwa razy dziennie przez okres 2 tygodni.

Badanie kliniczne przeprowadzono czterokrotnie:

- przed leczeniem,
- 1 miesiąc po leczeniu,
- 3 miesiące po leczeniu,
- 6 miesięcy po leczeniu.

Oznaczono podstawowe parametry kliniczne:

- PD - głębokość sondowania (ang. Pocket Depth)
- GR – recesje dziąsłowe (ang. Gingival Recession)
- CAL - położenie przyczepu klinicznego (ang. Clinical Attachment Level)
- FM PI - wskaźnik płytki całej jamy ustnej (ang. Full Mouth Plaque Index) (70)
- FM MBI – wskaźnik kwawienia dziąsła brzeżnego całej jamy ustnej (ang. Full Mouth Marginal Bleeding Index) (71)
- FM BOP - wskaźnik krwawienia całej jamy ustnej (ang. Full Mouth Bleeding on Probing) (71).

Wskaźnik FM PI określano na wszystkich czterech powierzchniach każdego zęba. Przy użyciu sondy periodontologicznej oznaczano obecność (+), lub też brak (-) płytki. Pozwoliło to oszacowanie poziomu higieny pacjenta.

Wskaźnik wyliczano na podstawie wzoru:

$$\frac{\text{liczba powierzchni z płytką} \times 100\%}{\text{liczba wszystkich badanych powierzchni}}$$

Wskaźnik FM MBI określano na wszystkich czterech powierzchniach każdego zęba. Przy użyciu sondy periodontologicznej oznaczano obecność (+), lub też brak (-) krwawienia dziąsła brzeżnego po delikatnym przesunięciu sondy wokół zęba na poziomie wejścia do kieszonki. Pozwoliło to na oszacowanie, jak skutecznie pacjent był w stanie codziennie kontrolować płytkę nazębną.

Wskaźnik wyliczano na podstawie wzoru:

$$\frac{\text{liczba powierzchni krwawiących} \times 100\%}{\text{liczba wszystkich badanych powierzchni}}$$

Wskaźnik FM BOP określano we wszystkich sześciu punktach każdego zęba. Sprawdzano, czy po sondowaniu dochodzi (+), czy nie (-) do krwawienia. Dało to możliwość dychotomicznego oszacowania stopnia zaawansowania zapalenia.



Wskaźnik wyliczano na podstawie wzoru:

$$\frac{\text{liczba punktów krwawiących} \times 100\%}{\text{liczba wszystkich badanych miejsc}}$$

Pomiar głębokości kieszonek wykonany został sondami periodontologicznymi (PCP UNC15, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA), pomiary zostały zaokrąglone do 0,5mm.

Na pierwszej wizycie oraz 2, 4 i 12 tygodni, a także 6 miesięcy po zabiegu pobrano płyn z kieszonek przyzębnych za pomocą skalibrowanych pasków papierowych chłonących płyn z kieszonki przyzębnej zęba wyznaczonego podczas pierwszego badania klinicznego (Periopaper, Interstate Drug Exchange, Amityville, NY, USA).

#### **Procedura pobierania i oznaczenia objętości płynu z kieszonki przyzębnej (GCF).**

GCF był pobierany od każdego pacjenta z kieszonki przyzębnej o głębokości przynajmniej 5mm. Po izolacji wybranego zęba wałkami ligniny, delikatnie usuwano płytkę nazębną i delikatnie osuszono ząb powietrzem. Płyn był pobierany za pomocą pasków bibuły (Periopaper, Interstate Drug Exchange, Amityville, NY). Pasek umieszczano w kieszonce przyzębnej na głębokość od 1-2mm na 30 s. Zaabsorbowana na papierowym pasku objętość płynu była mierzona za pomocą kalibrowanego urządzenia (Periotron 8000, Oraflow, Plainview, NY) jako SFFR (Sulcus Fluid Flow Rate). Po pomiarze próbki były natychmiast umieszczane w probówkach typu ependorf zawierających 200 µL PBS (phosphate buffered saline, zbuforowany roztwór soli fizjologicznej) i zamrażane w temperaturze -20 °C. Na kolejnych wizytach GCF był pobierany dokładnie z tych samych miejsc, co w trakcie badania wstępnego.

#### **Procedura pozyskiwania krwi i przygotowania fibryny bogatopłytkowej (i-PRF)**

Od pacjentów z grupy badanej po zabiegu SRP pobierano krew żylną. Po zmianie pozycji pacjenta na siedzącą i ocenie plapacyjnej zgięcia łokciowego dokonywano wyboru miejsca wkłucia. Była to:

-żyła odpromieniowa

-żyła odłokciowa

-żyła pośrodkowa łokciowa

Następnie umieszczano stazy 7-10cm powyżej miejsca wkłucia z dbałością, by zacisk nie trwał dłużej niż minutę. Dokonywano dezynfekcji zgięcia łokciowego z użyciem środka antyseptycznego (Skinsept Pur, Ecolab sp z o.o., Kraków, Polska) i napinano skórę nad miejscem nakłucia w celu unieruchomienia żyły. Wprowadzano igłę do światła naczynia pod kątem 15-30°, szlifem ku górze do momentu pojawienia się krwi w wężyku (Bezpieczna Igła motylkowa GBO z holderem Vacuette (Grainer), 21G (0,8x19mm) z wężykiem 7,5" (19cm), ref:450085). Pobierano krew do 2 probówek S-PRF sticky oznaczonych kolorem zielonym (S-PRF Sticky, ProCell, Dermoaroma Italy Sal, Rome, Italy). Następnie probówki umieszczono w wirówce w naprzeciwległych slotach. Ustawiono program i-PRF – 3 minuty wirowania, z prędkością 700rpm. Po zakończeniu wirowania i-PRF pobierano jałową igłą iniekcyjną i strzykawką. Po zmianie igły iniekcyjnej na jałową tępą dysponowano i-PRF do kieszonek przyzębnych.



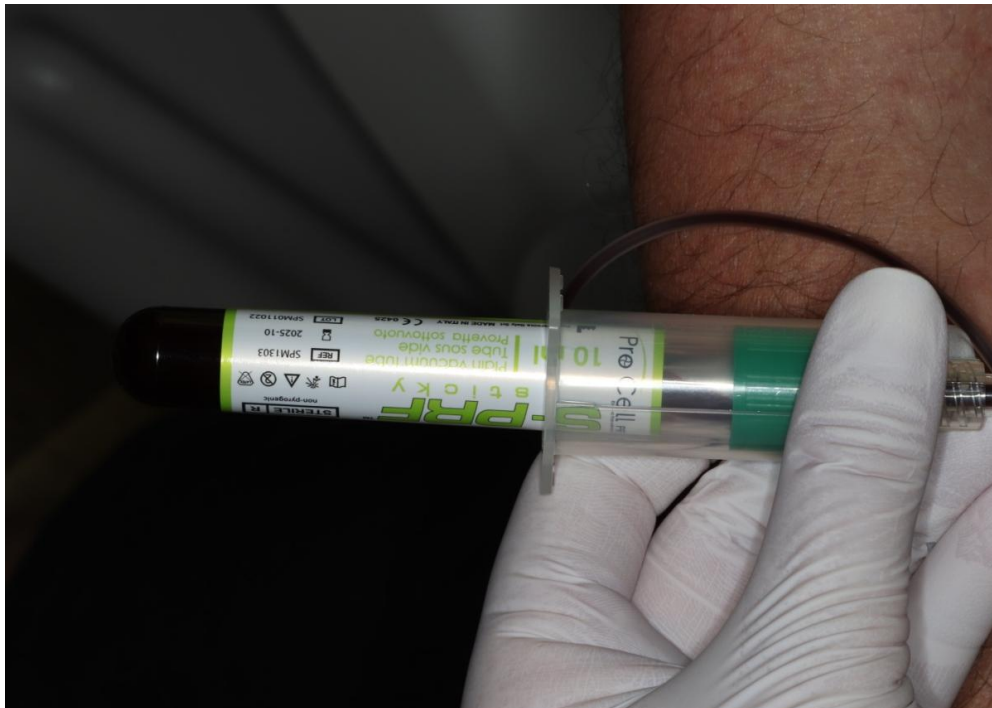
Ryc. 1. Staza, probówki i igła z wężykiem do pobierania krwi.



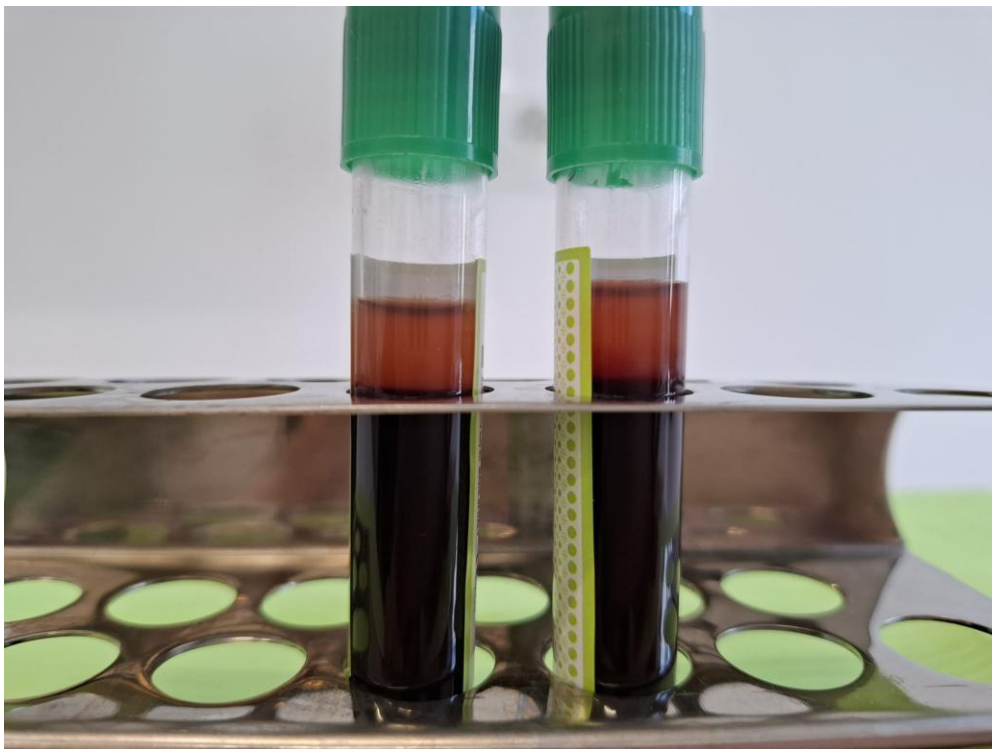
Ryc. 2. Wirówka PRF Duo Quattro.



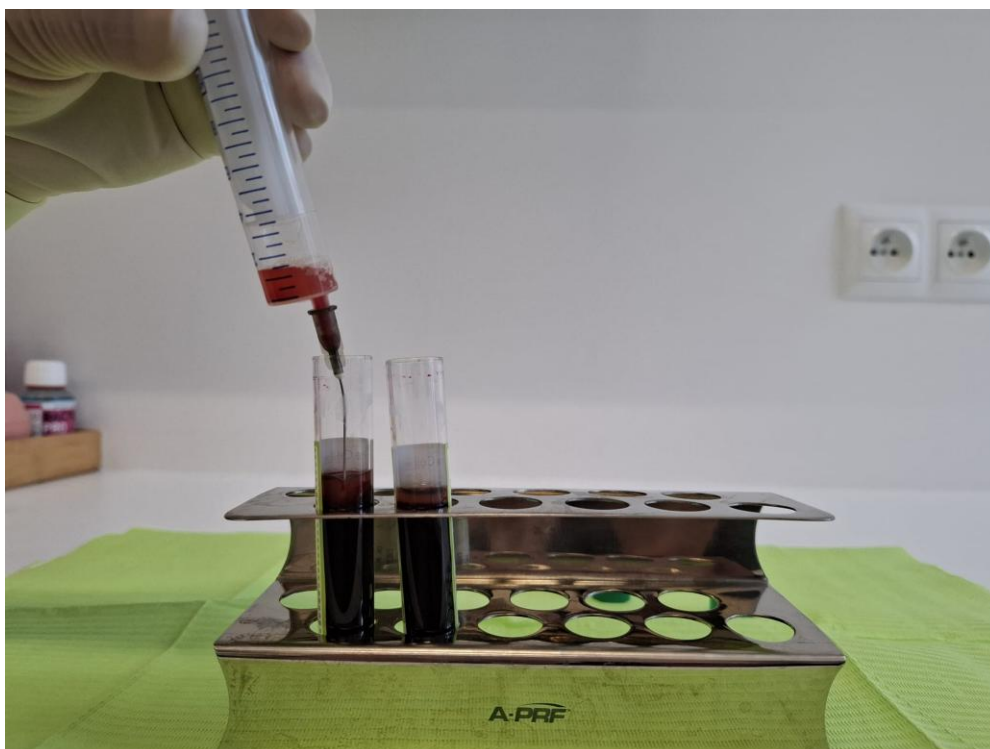
Ryc. 3. Wkłucie do żyły odpromieniowej.



Ryc. 4. Krew pobierana do probówki.



Ryc. 5. Odwirowany i-PRF.



Ryc. 6. Pobieranie i-PRF do strzykawki.



Ryc. 7. i-PRF gotowy do aplikacji.



Ryc. 8. Aplikacja i-PRF do kieszonek po zabiegu SRP.

### **Procedura oznaczania poziomu metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 8 (MMP-8).**

Z płynu kieszonki przyzębnej (GCF) pobranego przed leczeniem oraz 2, 4 i 12 tygodni po leczeniu oznaczono poziom MMP-8.

Do analizy użyto następującego sprzętu:

- Czytnik mikroplitek ELX-800 Dialabdiareader
- Płuczka automatyczna Elx-50 Dialabdiawasher
- Wytrząsarko-inkubator Shaker DTS-2
- Wirówka laboratoryjna MPW-350C
- Wirówka laboratoryjna MPW-60
- Vortex TK-3S (firma TechnoKartell)

Wykorzystano następujące odczynniki:

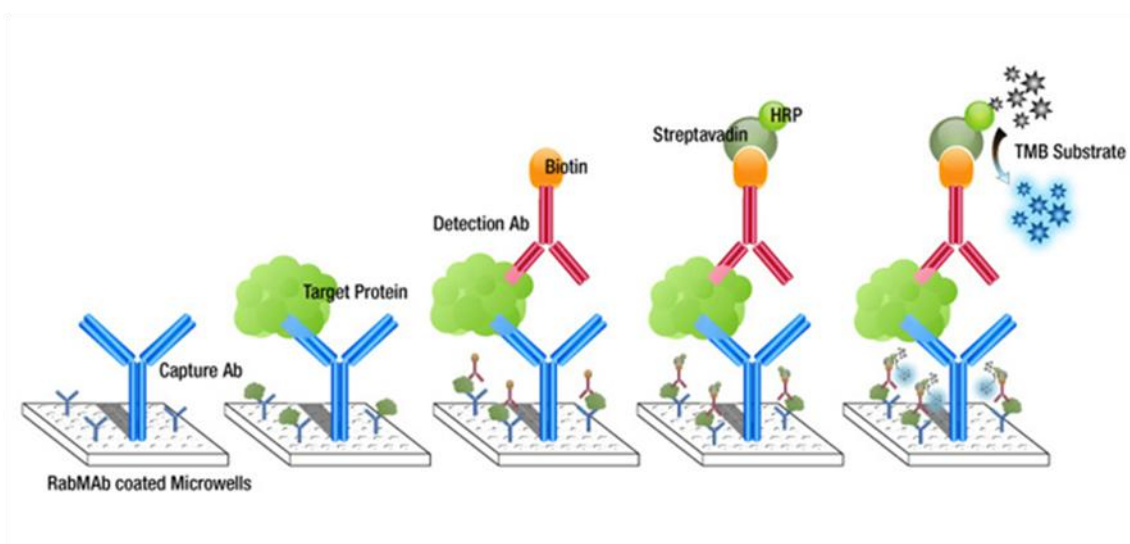
- Zestaw do oznaczenia MMP-8 (Human Total MMP-8 Immunoassay, R&D Systems, Abington, Wielka Brytania, nr katalogowy DMP800B)

Metoda oznaczania MMP-8

Stężenie MMP-8 w GCF pacjentów oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA (Enzyme – Linked Immunosorbent Assay).

Zasada metody

Powierzchnia mikropłytki pokryta była swoistymi, monoklonalnymi przeciwciałami, które wiązały się z badanym antygenem (MMP-8) obecnym w płynie GCF. W następnym etapie następowała inkubacja i wypłukanie niezwiązanych przeciwciał oraz dodanie koniugatu tzn. przeciwciała znakowane enzymem (biotyna). W wyniku reakcji powstawał kompleks typu „sandwich”: **przeciwciało – antygen – przeciwciało + enzym**. Kolejnym etapem było dodanie odpowiedniego substratu, który w wyniku działania enzymu przechodził w barwny produkt. Natężenie barwy było wprost proporcjonalne do stężenia badanego antygeny. Odczyt dokonywany był przy długości fali  $\lambda=450$  nm. Do pomiaru użyto czytnika ALAB PLATE READER ELISA.



Ryc. 9. Schemat metody ELISA. ([www.rndsystems.com](http://www.rndsystems.com))

## Odczynniki:

Odczynniki użyte do oznaczania MMP-8:

- Polistyrenowa mikropłytką z 96 studzienkami (12 pasków po 8 dołków w każdym) opłaszczona monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko ludzkiej MMP-8
- Standard MMP-8 – liofilizowany odczynnik rekombinowanej ludzkiej MMP-8 w buforze ze środkiem konserwującym
- Koniugat MMP-8 – przeciwciało monoklonalne specyficzne dla ludzkiej MMP-8 znakowane peroksydazą chrzanową i sprzężone ze środkiem konserwującym
- Odczynnik do rozcieńczenia – zwierzęca surowica ze środkiem konserwującym
- Bufor płuczący (koncentrat) – skoncentrowany roztwór zbuforowanego surfaktantu ze środkiem konserwującym
- Odczynnik barwiący A i B - stabilizowany nadtlenek wodoru i stabilizowany chromogen (tetrametylobenzydyna).
- Odczynnik stopujący reakcje chemiczne – 2N kwas siarkowy
- Pokrywa płytki titracyjnej – samoprzylepne paski

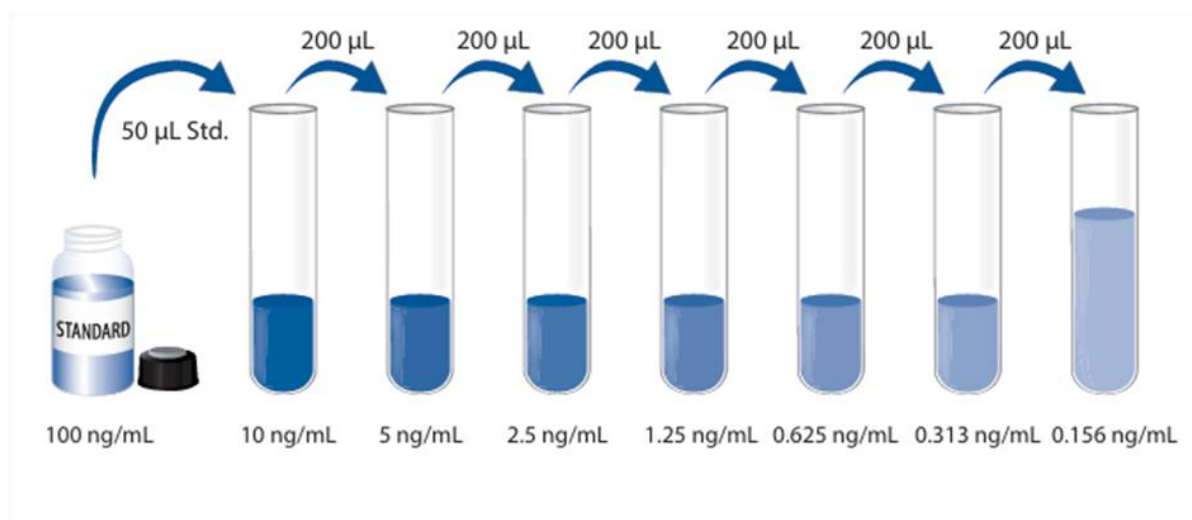
## Przygotowanie próbek

Przed wykonaniem oznaczeń próbki przechowywano w ciągu 24 godzin w temperaturze 2-8°C. Przed wykonaniem oznaczeń materiał stopniowo rozmrażano i mieszano przy użyciu wytrząsarki VORTEX). Wykonano 10-krotne rozcieńczenie: 30 µl próbki + 270 µl kalibratora Rozcieńczalnik RD5P (rozcieńczony 1:5).

## Wykonanie krzywej kalibracyjnej

W celu sporządzenia standardów do wykonania krzywej kalibracyjnej przygotowano 7 próbek. Wykonano próbki kontrolne i standardy w dubletach. Odpipetowano 450 µl rozcieńczalnika kalibracyjnego RD5-P (rozcieńzonego w stosunku 1:5) do próbki ze standardem 10 ng/ml. Następnie odpipetowano 200 µl do pozostałych próbek, aby uzyskać serię rozcieńczeń.





Ryc. 10. Schemat sporządzenia standardów do wykonania krzywej kalibracyjnej. (www.rndsystems.com)

Następnie dokładnie wymieszano każdą probówkę przed kolejnym transferem. Standard o stężeniu 10 ng/m służył jako najwyższy standard. Kalibrator Diluent RD5P (rozcieńczony 1:5) służył jako wzorzec zerowy (0 ng/ml).

#### Wykonanie oznaczenia MMP-8

1. Przygotowano wszystkie odczynniki, próbki i standardy według instrukcji.
2. Dodano standardu lub próbki na dołek, przykryto folią i inkubowano przez 2 h w temperaturze pokojowej delikatnie wstrząsając na wytrząsarce (500±50 obr/min) (50µl próbki)
3. Przemyto płytkę 3-krotnie roztworem roboczym buforu płuczającego (400 µl)
4. Dodano 100 µl roztworu roboczego do wykrywania przeciwciała oznaczonego biotyną i inkubowano w 37 °C przez 60 minut.
5. Przemyto płytkę 3-krotnie roztworem roboczym buforu płuczającego.
6. Dodano 200 µl koniugatu ludzkiego MMP-8 do każdego dołka i inkubowano w 37 °C przez 2 h w temperaturze pokojowej na wytrząsarce.
7. Powierzchnię mikropłytki przepłukano 3-krotnie roztworem roboczym buforu płuczającego.
8. Dodano 200 µl roztworu substratu do każdego dołka. Inkubowano przez 30 minut płytkę w 37 °C w ciemności.

9. Dodano 50  $\mu\text{l}$  roztworu stopującego do każdego dołka.
10. Odczyt kolorymetryczny wykonano przy  $\lambda=450$  nm w ciągu 30 minut.

### **Analiza statystyczna**

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, w której normalność rozkładu weryfikowano testem Shapiro-Wilka. Nie stwierdzono normalności rozkładu analizowanych zmiennych ilościowych. Porównując zmienne ilościowe bez normalności rozkładu zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya w przypadku dwóch grup. Porównując zmienne zależne wykorzystano test Friedmana w przypadku wielu zmiennych. Wyniki istotne statystycznie uznano na poziomie  $p<0,05$ . W obliczeniach wykorzystano pakiet Statistica 13.3 firmy Tibco.

## Wyniki

Wszyscy zakwalifikowani pacjenci zgłaszali się na umówione wizyty i żaden z nich nie zrezygnował z udziału w projekcie. Gojenie u wszystkich pacjentów przebiegało bez powikłań. Przedłużone gojenie zaobserwowano u jednej pacjentki, ale nie wymagało ono żadnej dodatkowej interwencji.

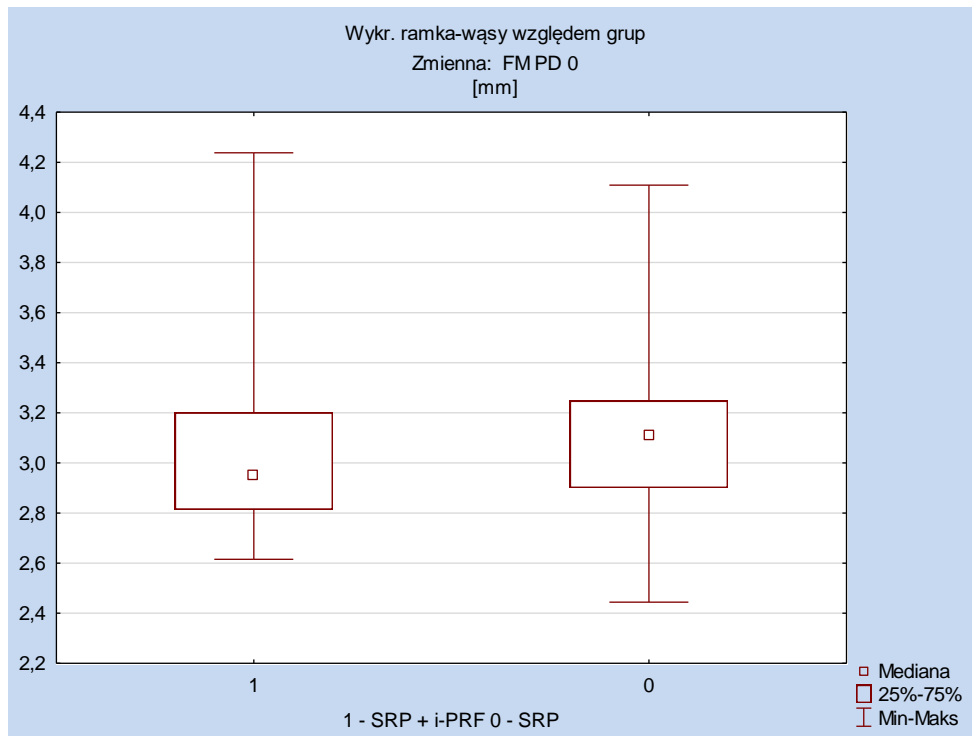
W badaniu wstępnym nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami w żadnym ocenianym parametrze klinicznym.

U wszystkich pacjentów podczas badania wstępnego stwierdzono obecność głębokich kieszonek. Zarówno w grupie pacjentów u których wykonano usunięcie złogów nazębnych z wygładzeniem powierzchni korzeni wraz z pozabiegową aplikacją i-PRF, jak i pacjentów, u których wykonano samo SRP stwierdzono znamienne statystycznie redukcję głębokości sondowania w kolejnych badaniach (Tabela 2. i Ryciny 1.-4.)

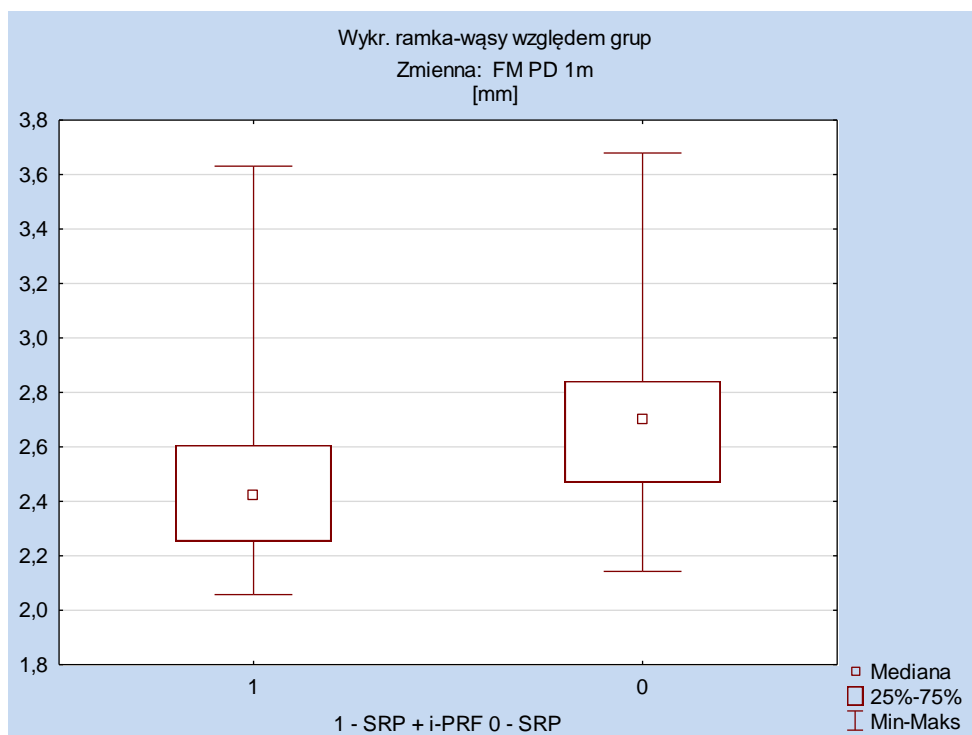
	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
FM PD <sub>0</sub>	3,07(±0,40)	3,11(±0,41)	0,533
FM PD <sub>1M</sub>	2,53(±0,42)	2,72(±0,39)	0,049
FM PD <sub>3M</sub>	2,53(±0,31)	2,68(±0,36)	0,049
FM PD <sub>6M</sub>	2,57(±0,40)	2,76(±0,36)	0,081
<i>p</i>	<0,000	<0,000	

Tabela 2. Wyniki pomiarów FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania z całej jamy ustnej).

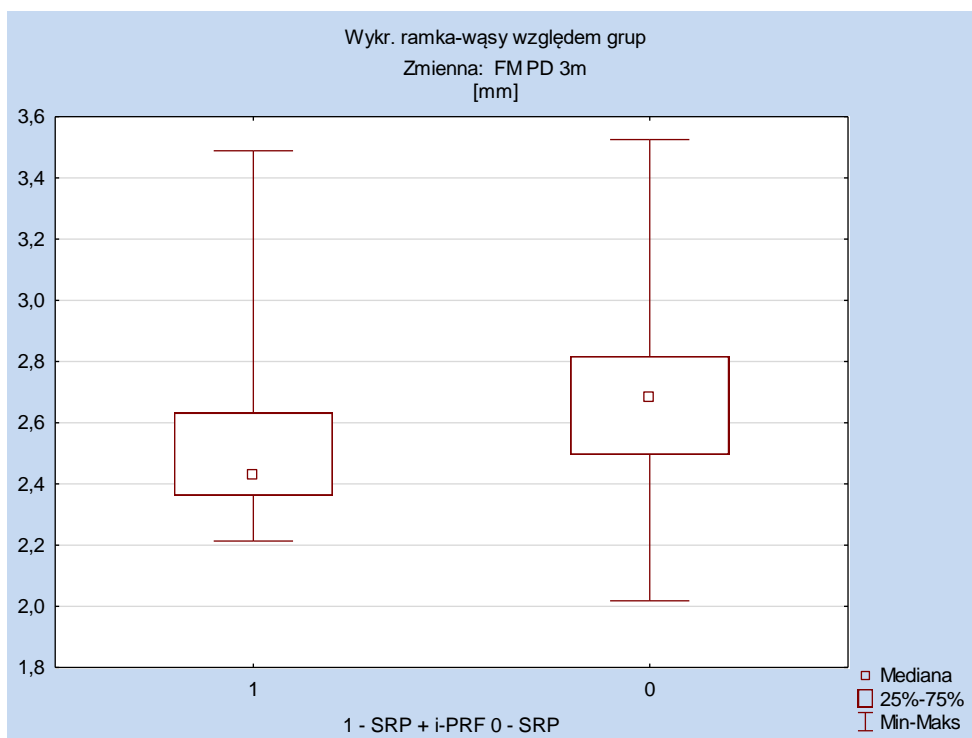
W grupie badanej średnie głębokości kieszonek przyzębnych w badaniu pierwszym wynosiły 3,07(±0,40) , natomiast w grupie kontrolnej 3,11(±0,41). W badaniu po miesiącu wartości te wynosiły odpowiednio 2,53(±0,42) i 2,72(±0,39), a osiągnięta różnica pomiędzy grupami okazała się znamienne statystycznie ( $p=0,049$ ). Badanie po trzech miesiącach przyniosło kolejną redukcję głębokości sondowania. Tu również różnica pomiędzy grupami okazała się znamienne statystycznie ( $p=0,049$ ). W obu badaniach redukcja parametru była większa w grupie, w której po wykonaniu SRP dodatkowo zastosowano i-PRF. Wynik długoterminowy (po 6 miesiącach) przyniósł stabilizację parametru klinicznego bez znaczących różnic pomiędzy badanymi grupami.



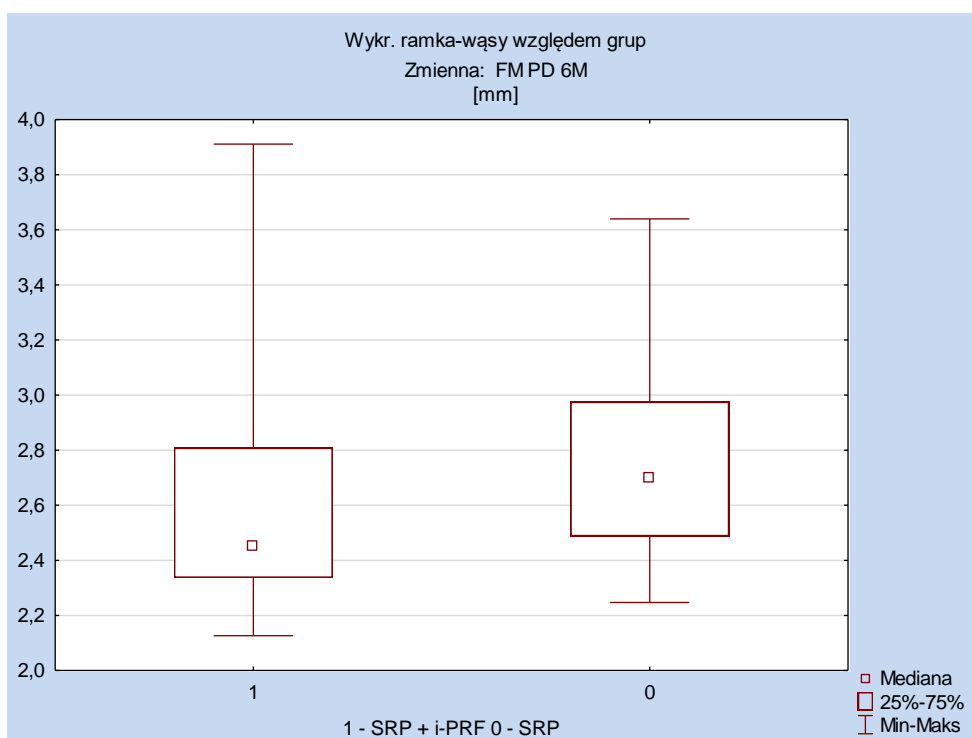
Ryc. 11. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania całej jamy ustnej) przed zabiegiem.



Ryc. 12. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania całej jamy ustnej) miesiąc po zabiegu.



Ryc. 13. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania całej jamy ustnej) 3 miesiące po zabiegu.

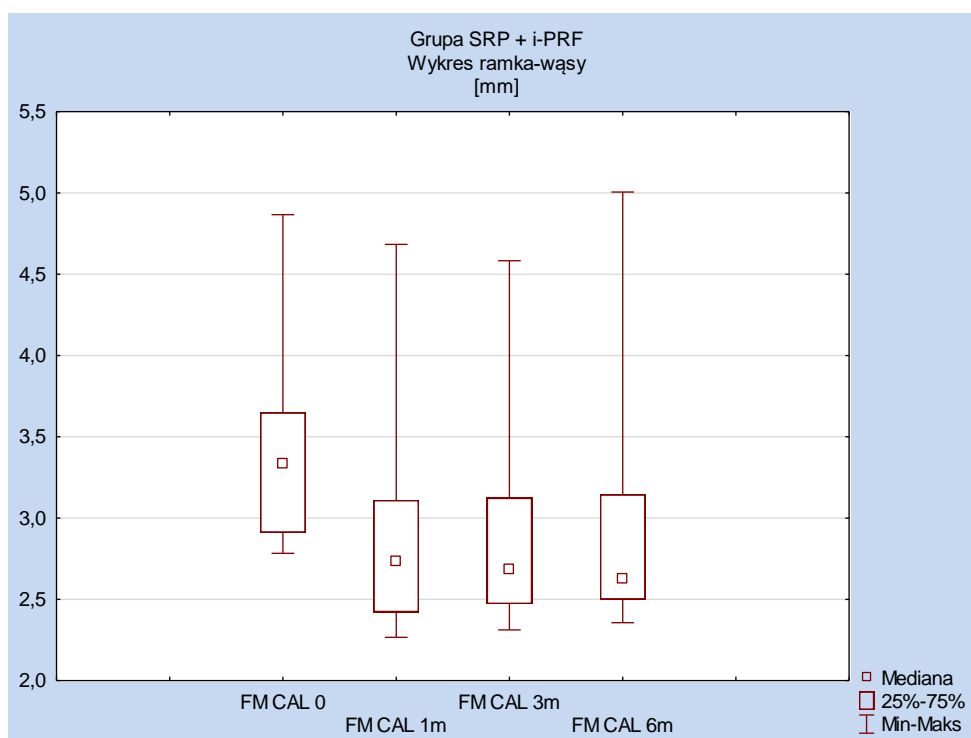


Ryc. 14. FM PD (Full Mouth Probing Depth- głębokość sondowania całej jamy ustnej) 6 miesięcy po zabiegu.

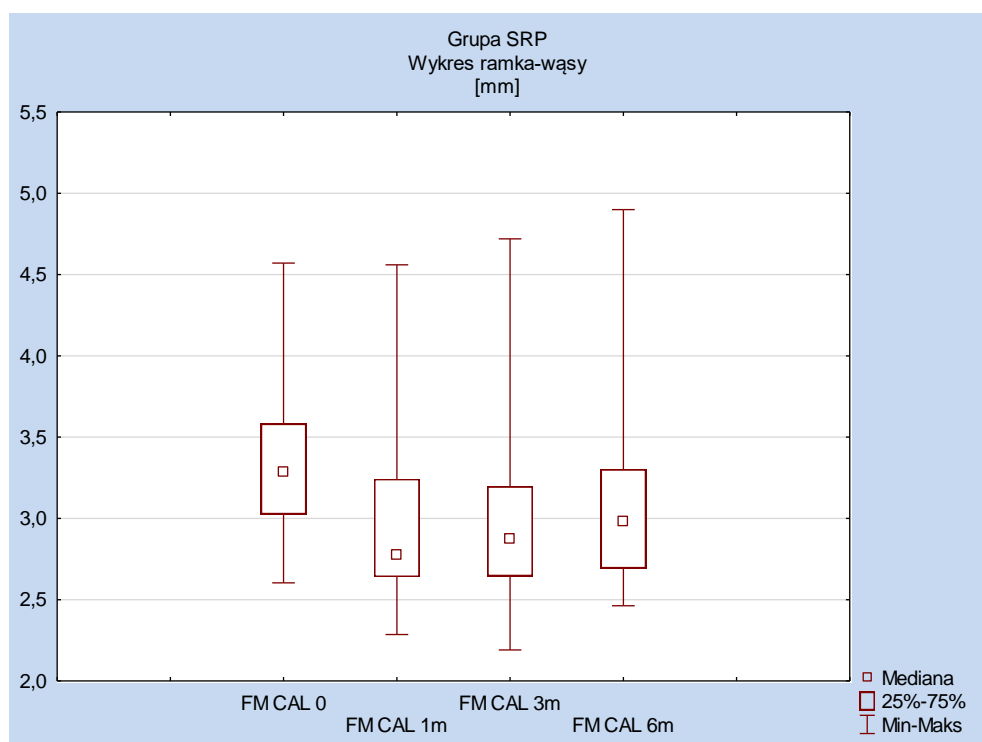
W obu badanych grupach zauważono zysk przyczepu klinicznego na przestrzeni kolejnych badań. Różnice, jakie dokonały się w czasie w poszczególnych grupach okazały się istotne statystycznie ( $p < 0,000$ ). Nie stwierdzono znamiennych różnic pomiędzy badanymi grupami w żadnym z kolejnych badań (Tabela 3, Ryciny 5.-6.).

	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
FM CAL <sub>0</sub>	3,41(±0,58)	3,34(±0,53)	0,839
FM CAL <sub>1M</sub>	2,88(±0,60)	2,99(±0,59)	0,364
FM CAL <sub>3M</sub>	2,90(±0,59)	3,00(±0,59)	0,357
FM CAL <sub>6M</sub>	2,95(±0,7)	3,11(±0,60)	0,133
<i>p</i>	<0,000	<0,000	

Tabela 3. Wyniki pomiarów FM CAL (Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego całej jamy ustnej).



Ryc. 15. FM CAL (Full Mouth Clinical Attachment Level) - położenie przyczepu klinicznego całej jamy ustnej w grupie SRP + i-PRF przed zabiegiem, miesiąc 3 i 6 miesięcy po zabiegu.

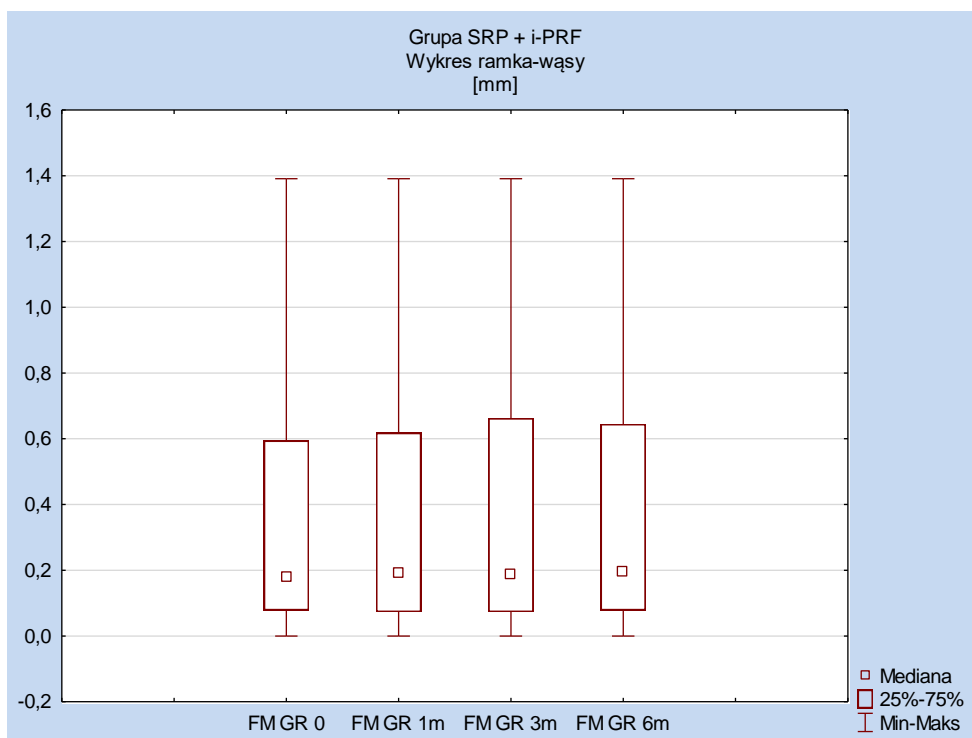


Ryc. 16. FM CAL (Full Mouth Clinical Attachment Level) - położenie przyzębia klinicznego całej jamy ustnej w grupie SRP przed zabiegiem, miesiąc 3 i 6 miesięcy po zabiegu.

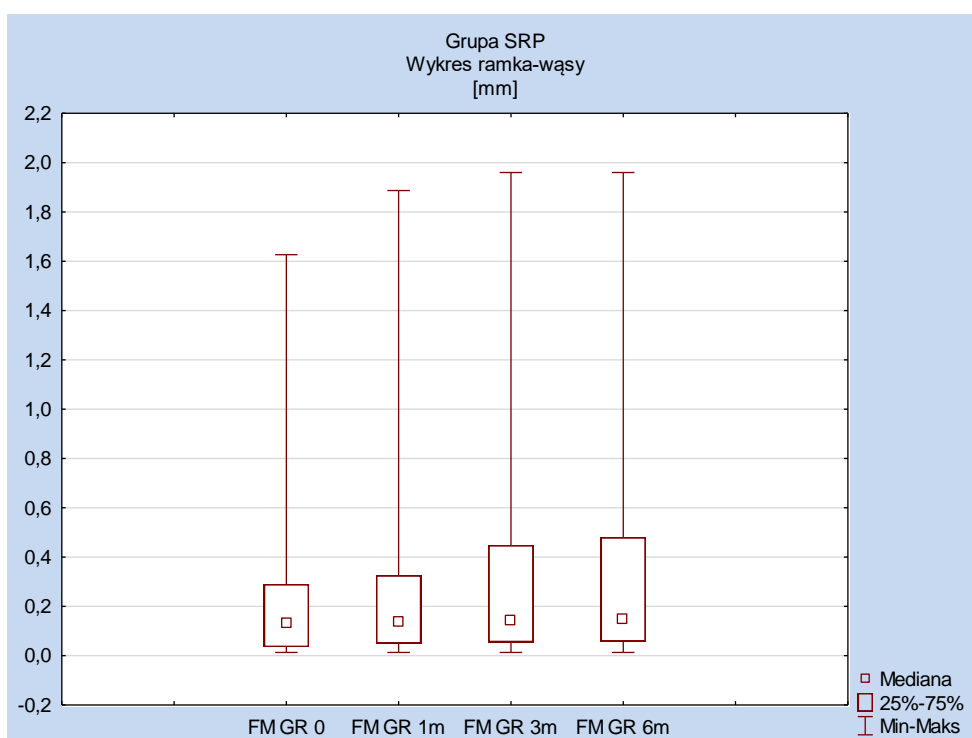
Zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej w wyniku zastosowanego leczenia doszło do zwiększenia wymiaru recesji dziąsła. W obu grupach zmiany były znamienne, odpowiednio: z  $0,34(\pm 0,38)$  do  $0,38(\pm 0,41)$  grupie badanej oraz z  $0,23(\pm 0,36)$  do  $0,35(\pm 0,49)$  w grupie kontrolnej po 6 miesiącach. Różnice pomiędzy badanymi grupami nie osiągnęły istotności statystycznej. Wyniki przedstawiono w Tabeli nr 4. i Rycinach 9.-10.

	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
<b>FM GR<sub>0</sub></b>	0,34(±0,38)	0,23(±0,36)	0,184
<b>FM GR<sub>1M</sub></b>	0,35(±0,38)	0,27(±0,16)	0,310
<b>FM GR<sub>3M</sub></b>	0,38(±0,41)	0,32(±0,46)	0,364
<b>FM GR<sub>6M</sub></b>	0,38(±0,41)	0,35(±0,49)	0,473
<b><i>p</i></b>	<b>0,043</b>	<b>&lt;0,000</b>	

Tabela 4. Wyniki pomiarów FM GR (Gingival recession - recesji dziąsłowych całej jamy ustnej).



Ryc. 17. FM GR (Full Mouth Gingival Recession) - poziom recesji dziąsłowej całej jamy ustnej w grupie SRP + i-PRF przed zabiegiem, miesiąc, 3 i 6 miesięcy po zabiegu.



Ryc. 18. FM GR (Full Mouth Gingival Recession) - poziom recesji dziąsłowej z całej jamy ustnej w grupie SRP przed zabiegiem, miesiąc, 3 i 6 miesięcy po zabiegu.



Następnie dokonano analizy zmian pomiędzy kolejnymi badaniami względem badania wyjściowego. Wykazano największą redukcję głębokości sondowania pomiędzy badaniem wyjściowym i badaniem po pierwszym miesiącu. W odniesieniu do grupy kontrolnej różnica okazała się znamienna statystycznie ( $p=0,011$ ).

W przypadku parametru położenia przyczepu klinicznego przyrost pomiędzy badaniem wyjściowym i badaniem po miesiącu i badaniem po 6 miesiącach w grupie badanej też okazał się znacząco większy w stosunku do grupy kontrolnej i wynosił odpowiednio 0,53 ( $\pm 0,16$ ) ( $p=0,003$ ) i 0,46 ( $\pm 0,33$ ) ( $p=0,38$ ). Wyniki przedstawiono w Tabeli 5.

	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
<b>FM PD 0-1m</b>	0,54 ( $\pm 0,18$ )	0,39 ( $\pm 0,19$ )	<b>0,011</b>
<b>FM PD 0-3m</b>	0,53 ( $\pm 0,24$ )	0,42 ( $\pm 0,18$ )	0,250
<b>FM PD 0-6m</b>	0,49 ( $\pm 0,31$ )	0,35 ( $\pm 0,20$ )	0,147
<b>FM CAL 0-1m</b>	0,53 ( $\pm 0,16$ )	0,34 ( $\pm 0,24$ )	<b>0,003</b>
<b>FM CAL 0-3m</b>	0,50 ( $\pm 0,26$ )	0,33 ( $\pm 0,25$ )	0,081
<b>FM CAL 0-6m</b>	0,46 ( $\pm 0,33$ )	0,23 ( $\pm 0,25$ )	<b>0,038</b>
<b>FM GR 0-1m</b>	-0,006 ( $\pm 0,02$ )	-0,04 ( $\pm 0,12$ )	0,390
<b>FM GR 0-3m</b>	-0,03 ( $\pm 0,08$ )	-0,09 ( $\pm 0,17$ )	0,228
<b>FM GR 0-6m</b>	-0,03 ( $\pm 0,08$ )	-0,12 ( $\pm 0,21$ )	0,218

Tabela 5. Redukcja parametrów FM PD, FM CAL, FM GR w grupach między badaniem 0, a badaniem po 1,3 i 6 miesiącach.

Analizując dane dotyczące kieszonek przyzębnych równych lub głębszych niż 5 mm stwierdzono porównywalną redukcję ilości takich kieszonek zarówno po wykonaniu SRP, jak i SRP w połączeniu z i-PRF. Wyniki przedstawiono w Tabeli 6.

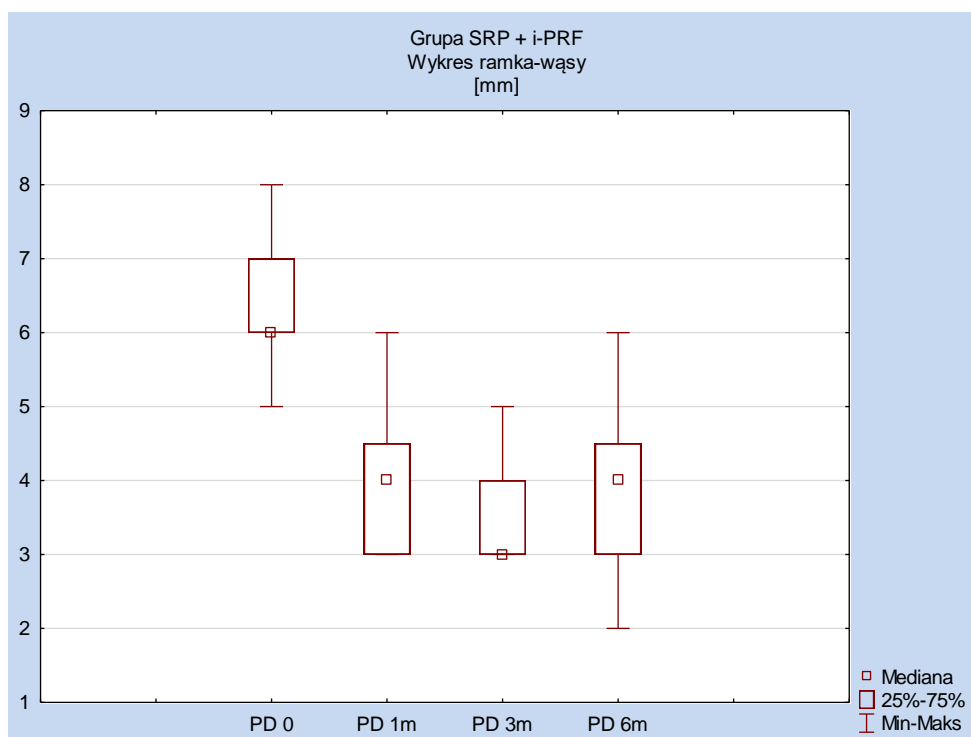
Ilość kieszonek $\geq 5\text{mm}$	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
<b>Badanie 0</b>	23,65 ( $\pm 16,21$ )	28,20 ( $\pm 14,40$ )	0,175
<b>Badanie 1m</b>	10,25 ( $\pm 14,65$ )	14,20 ( $\pm 12,68$ )	0,158
<b>Badanie 3m</b>	8,05 ( $\pm 9,47$ )	13,10 ( $\pm 11,50$ )	0,077
<b>Badanie 6m</b>	9,65 ( $\pm 11,51$ )	14,50 ( $\pm 11,94$ )	0,095
<b><i>p</i></b>	<b>&lt;0,000</b>	<b>&lt;0,000</b>	

Tabela 6. Ilość kieszonek  $\geq 5\text{mm}$ .

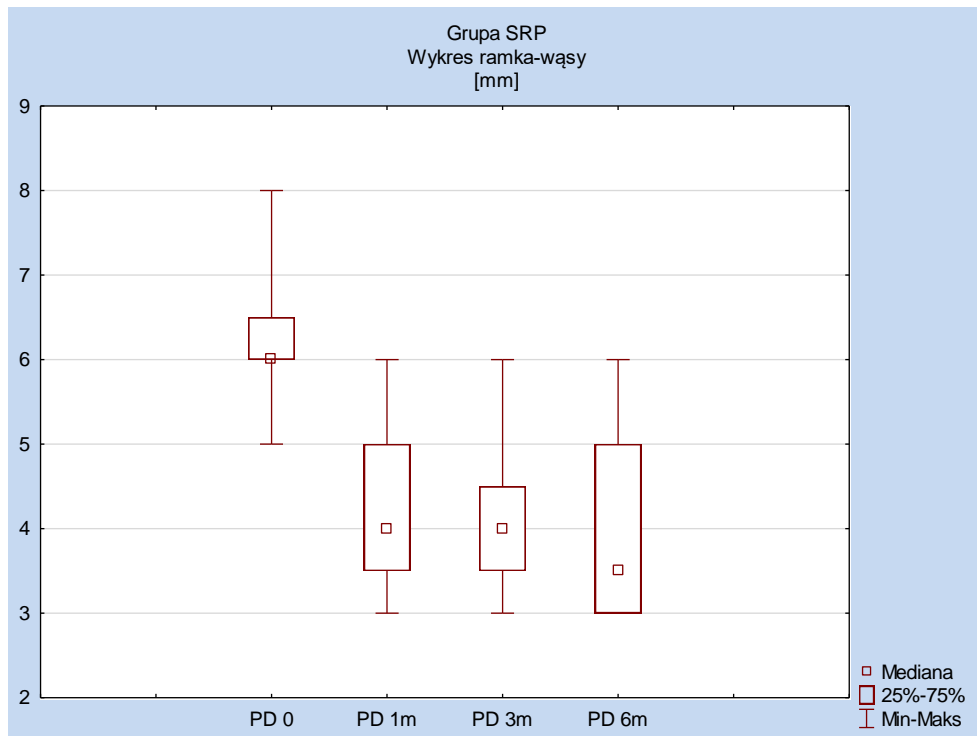
W obu grupach doszło także do istotnej redukcji głębokości kieszonek  $\geq 5$ mm. Pomiędzy grupami nie stwierdzono różnic statystycznych, choć liczbowo średnie zmniejszyły się bardziej w grupie, gdzie zastosowano SRP w połączeniu z i-PRF. Wyniki przedstawiają Tabela 7 oraz Ryciny 9.-10.

	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>PD<sub>0</sub></b>	5,56(±0,45)	5,56(±0,38)	0,924
<b>PD<sub>1M</sub></b>	3,91(±0,90)	4,26(±0,57)	0,107
<b>PD<sub>3M</sub></b>	3,89(±0,45)	4,13(±0,55)	0,223
<b>PD<sub>6M</sub></b>	3,96(±0,57)	4,31(±0,62)	0,098
<b><i>p</i></b>	<b>&lt;0,000</b>	<b>&lt;0,000</b>	

Tabela 7. Średnia PD w kieszonkach  $\geq 5$ mm.



Ryc. 19. PD (Probing Depth- głębokość sondowania) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie badanej SRP + i-PRF.

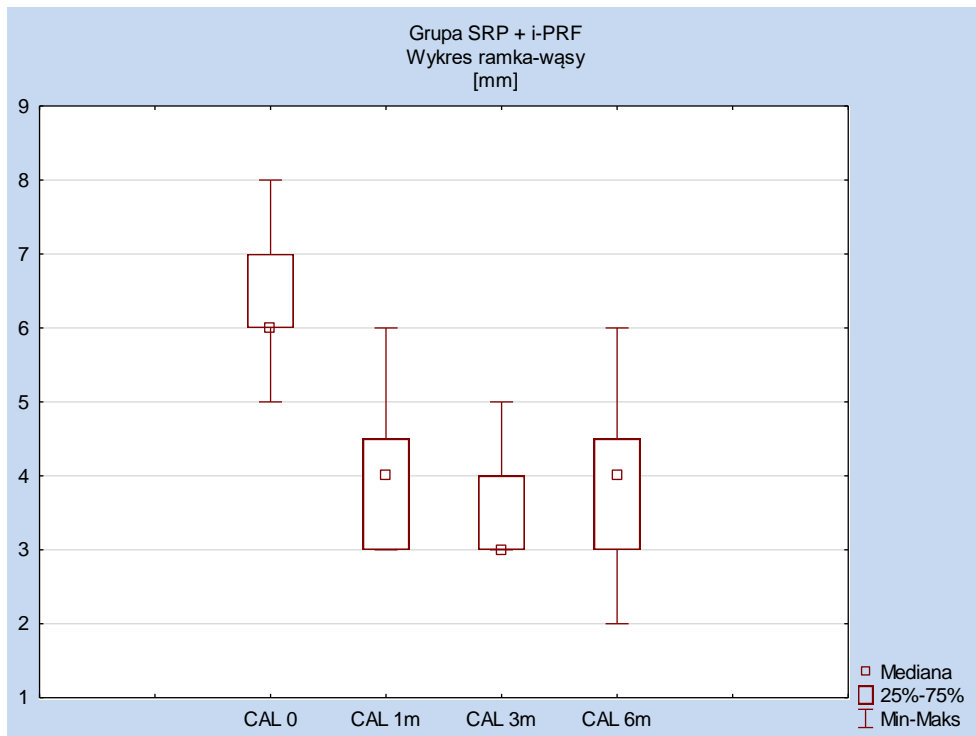


Ryc. 20. PD (Probing Depth- głębokość sondowania) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie kontrolnej SRP.

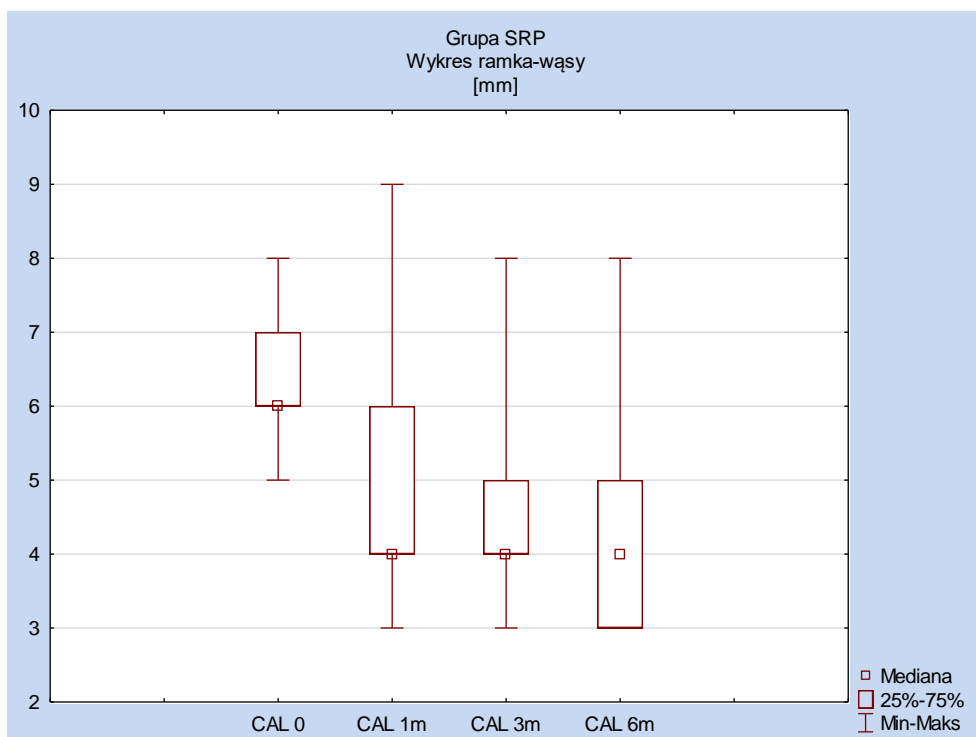
Podobny trend zaobserwowano także w przypadku położenia przyczepu klinicznego. Zysk w CAL na przestrzeni czasu był znaczący w obu grupach, jednak pomiędzy grupami nie stwierdzono istotnych różnic. Wyniki przedstawia Tabela 8. oraz Ryciny 11.-12.

	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>CAL<sub>0</sub></b>	5,80(±0,59)	5,77(±0,54)	0,776
<b>CAL<sub>1M</sub></b>	4,31(±0,77)	4,53(±0,73)	0,490
<b>CAL<sub>3M</sub></b>	4,17(±0,66)	4,45(±0,65)	0,213
<b>CAL<sub>6M</sub></b>	4,25(±0,76)	4,68(±0,72)	0,061
<b><i>p</i></b>	<b>&lt;0,000</b>	<b>&lt;0,000</b>	

Tabela 8. Średni CAL w kieszonkach  $\geq 5$ mm.



Ryc. 21. CAL (Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie badanej SRP + i-PRF.



Ryc. 22. CAL (Clinical Attachment Level - położenie przyczepu klinicznego) w kieszonkach  $\geq 5$  w grupie badanej SRP + i-PRF.

Analiza zmian zachodzących w położeniu dziąsła ukazała stabilność dziąsła w przypadku grupy testowej. W grupie kontrolnej zaobserwowano natomiast istotne statystycznie zwiększenie wymiaru recesji dziąsła brzeżnego. Nie przełożyło się to jednak na różnice pomiędzy grupami w poszczególnych badaniach kontrolnych. Tabela 9.

	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>GR<sub>0</sub></b>	0,23(±0,31)	0,21(±0,35)	0,667
<b>GR<sub>1M</sub></b>	0,23(±0,29)	0,26(±0,41)	0,909
<b>GR<sub>3M</sub></b>	0,28(±0,39)	0,32(±0,47)	0,943
<b>GR<sub>6M</sub></b>	0,27(±0,39)	0,38(±0,55)	0,691
<b><i>p</i></b>	0,292	<b>0,007</b>	

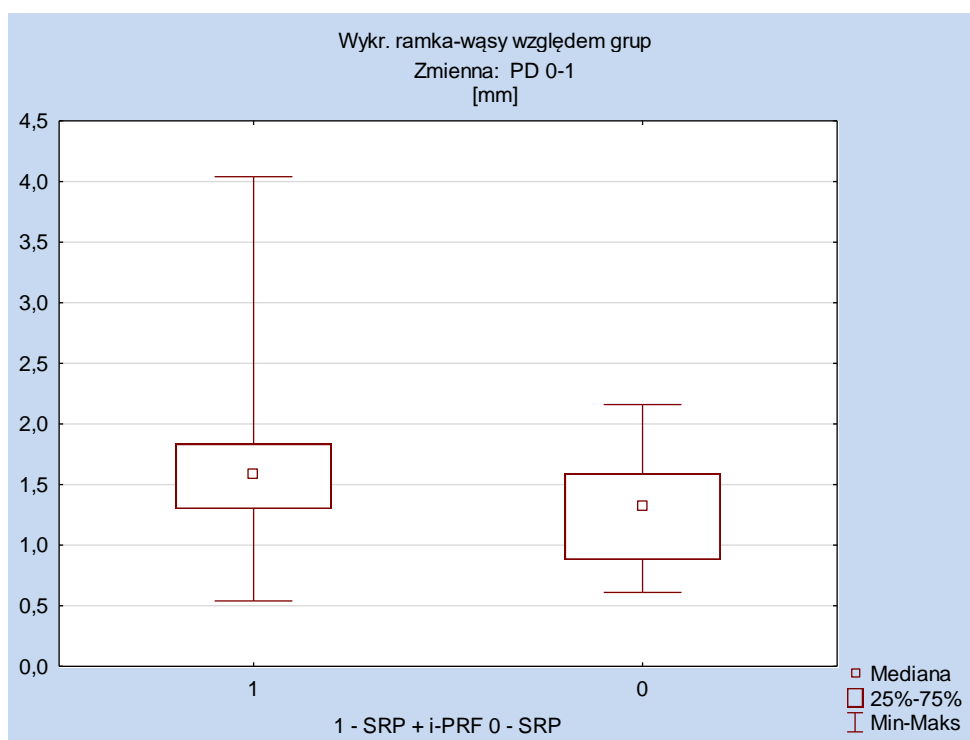
Tabela 9. Średni GR w kieszonkach  $\geq 5\text{mm}$

Badając zmiany jakie zaszły pomiędzy poszczególnymi badaniami wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupami w różnicy głębokości kieszonek  $\geq 5\text{mm}$  pomiędzy badaniem wstępnym i badaniem po sześciu miesiącach na korzyść grupy SRP+i-PRF. Różnice pomiędzy badaniem wstępnym i badaniem po miesiącu nie były znamienne statystycznie, ale się do niej zbliżały ( $p=0,053$ ).

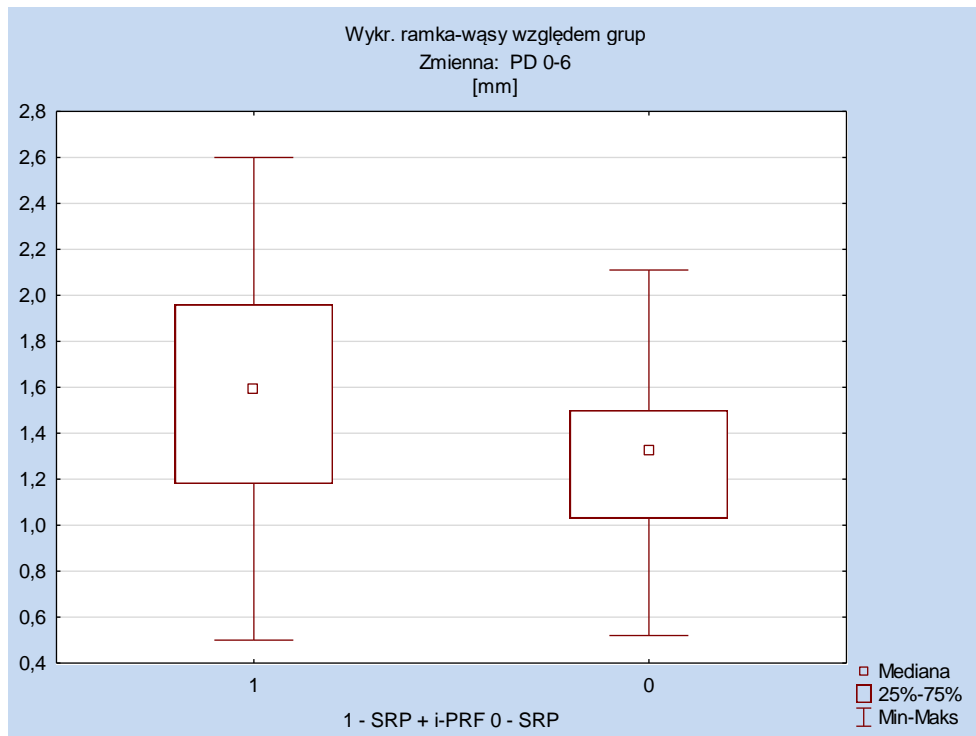
Podobny trend zaobserwowano w przypadku analizy parametru zysku w położeniu przyczepu. Tu znamienne statystycznie różnice stwierdzono pomiędzy badaniem wstępnym i po trzech miesiącach oraz pomiędzy badaniem wstępnym i po sześciu miesiącach. W obu przypadkach zysk w położeniu przyczepu był większy w grupie w której zastosowano i-PRF. Tabela 10. Ryciny 13.-16.

	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
<b>PD 0-1m</b>	1,64(±0,68)	1,29(±0,42)	<b>0,053</b> (zbliża się do istotności)
<b>PD 0-3m</b>	1,66(±0,36)	1,43(±0,35)	0,069
<b>PD 0-6m</b>	1,59(±0,55)	1,25(±0,41)	<b>0,042</b>
<b>CAL 0-1m</b>	1,48(±0,39)	1,24(±0,52)	0,140
<b>CAL 0-3m</b>	1,62(±0,38)	1,32(±0,35)	<b>0,027</b>
<b>CAL 0-6m</b>	1,54(±0,58)	1,09(±0,52)	<b>0,014</b>
<b>GR 0-1m</b>	0,007(±0,09)	-0,04(±0,20)	0,938
<b>GR 0-3m</b>	-0,04(±0,13)	-0,11(±0,29)	0,546
<b>GR 0-6m</b>	-0,03(±0,14)	-0,16(±0,39)	0,342

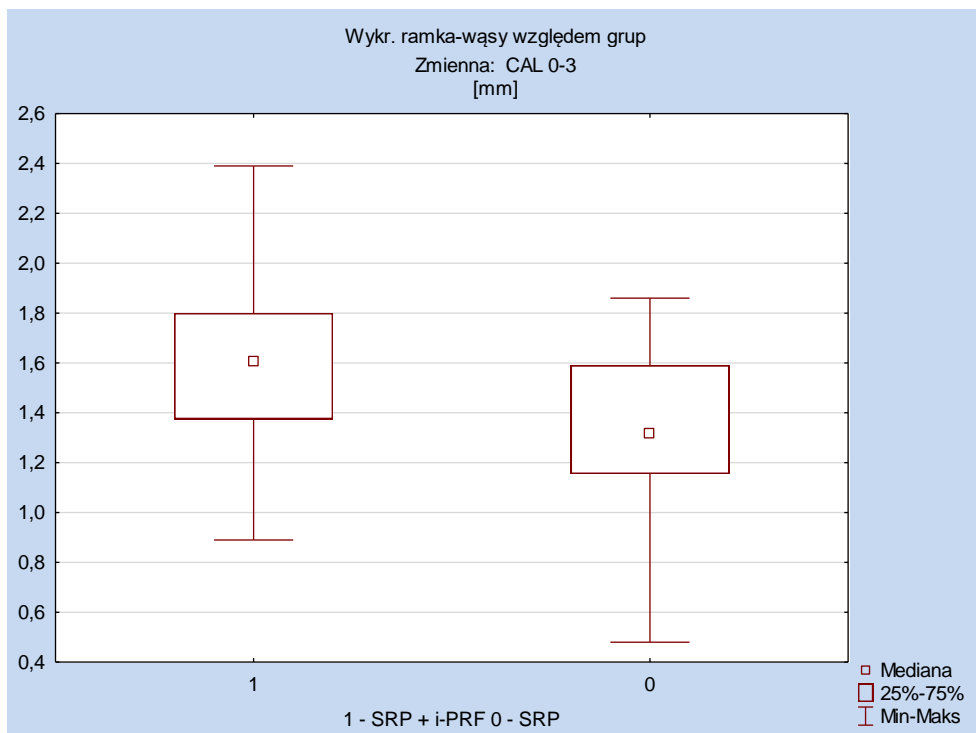
Tabela 10. Różnica PD, CAL i GR kieszonek  $\geq 5$ mm w grupach po 1, 3 i 6 miesiącach względem badania 0.



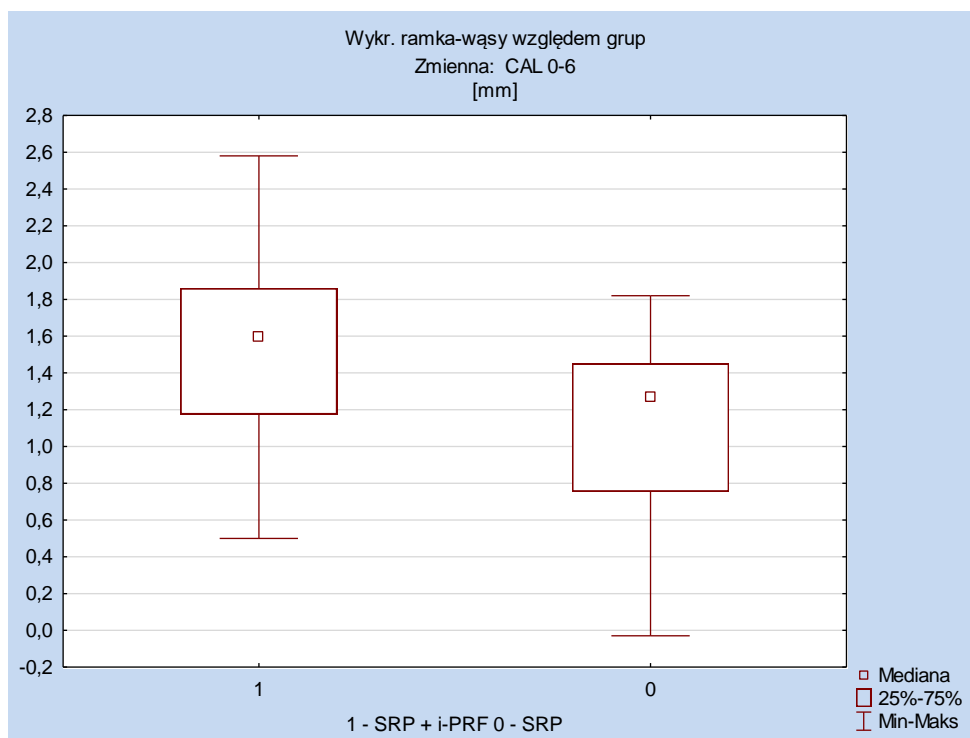
Ryc. 23. Redukcja PD miesiąc po zabiegu względem PD przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .



Ryc. 24. Redukcja PD 6 miesięcy po zabiegu względem PD przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .



Ryc. 25 Redukcja CAL 3 miesiące po zabiegu względem CAL przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$ .



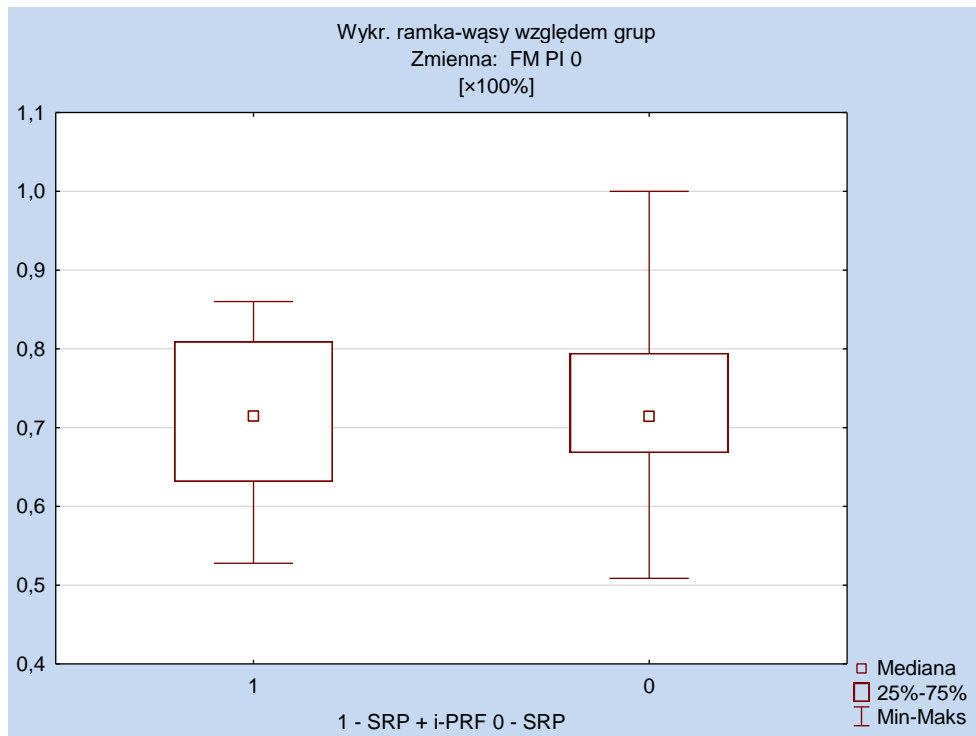
Ryc 26. Redukcja CAL 6 miesięcy po zabiegu względem CAL przed zabiegiem w kieszonkach  $\geq 5$

U pacjentów obu grup podczas badania wstępnego stwierdzono zły stan higieny jamy ustnej wyrażony wysokimi wartościami wskaźnika FM PI. W grupie badanej wartość ta wynosiła 71%, a w grupie kontrolnej 73%. Parametr ten ulegał systematycznej poprawie, co przekładało się na redukcję wskaźnika FM PI w kolejnych badaniach. Zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej zmiana okazała się znamienne statystycznie ( $p < 0,000$ ). Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w wartościach wskaźnika płytki pomiędzy grupami w badaniu po miesiącu, 3 i 6 miesiącach. (Tabela 11; Ryciny 17.-20.)

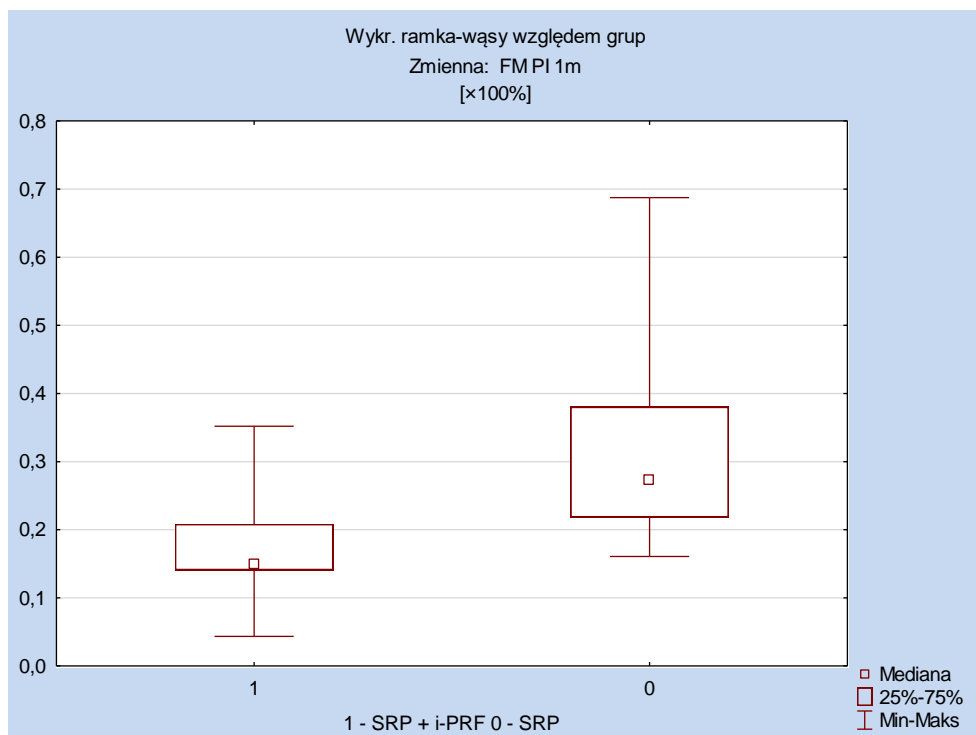
	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>FM PI<sub>0</sub></b>	71,00(±10,00)	73,00(±11,00)	0,579
<b>FM PI<sub>1M</sub></b>	16,00(±6,00)	31,00(±14,00)	<0,000
<b>FM PI<sub>3M</sub></b>	19,00(±6,00)	34,00(±12,00)	<0,000
<b>FM PI<sub>6M</sub></b>	25,00(±10,00)	40,00(±14,00)	<0,000
<b><i>p</i></b>	<0,000	<0,000	

Tabela 11 Wyniki pomiarów FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej).

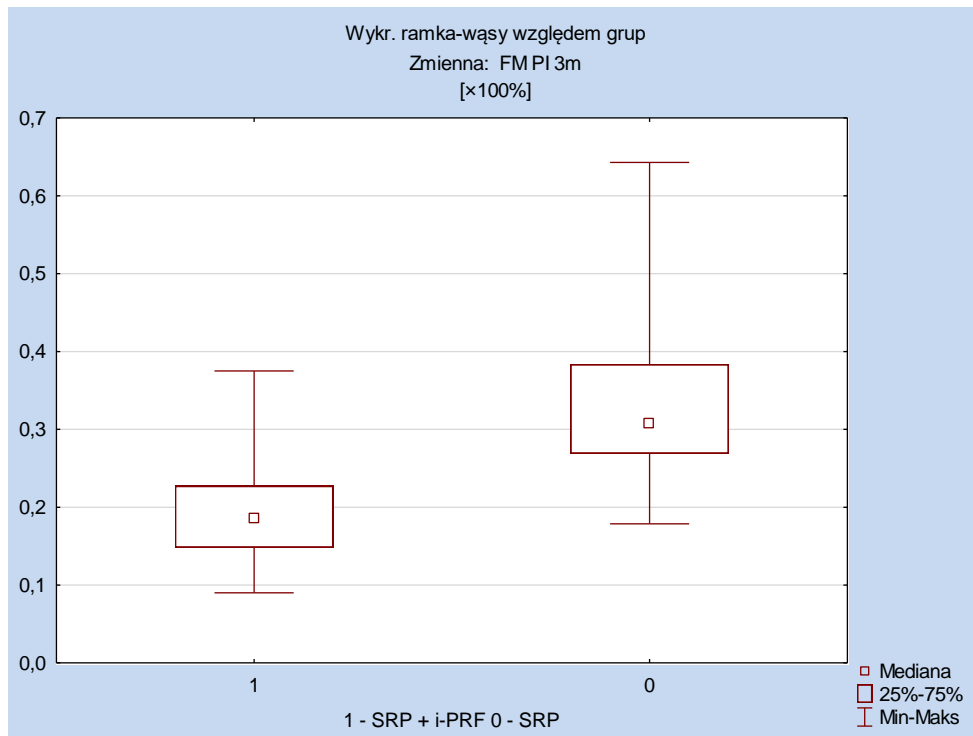




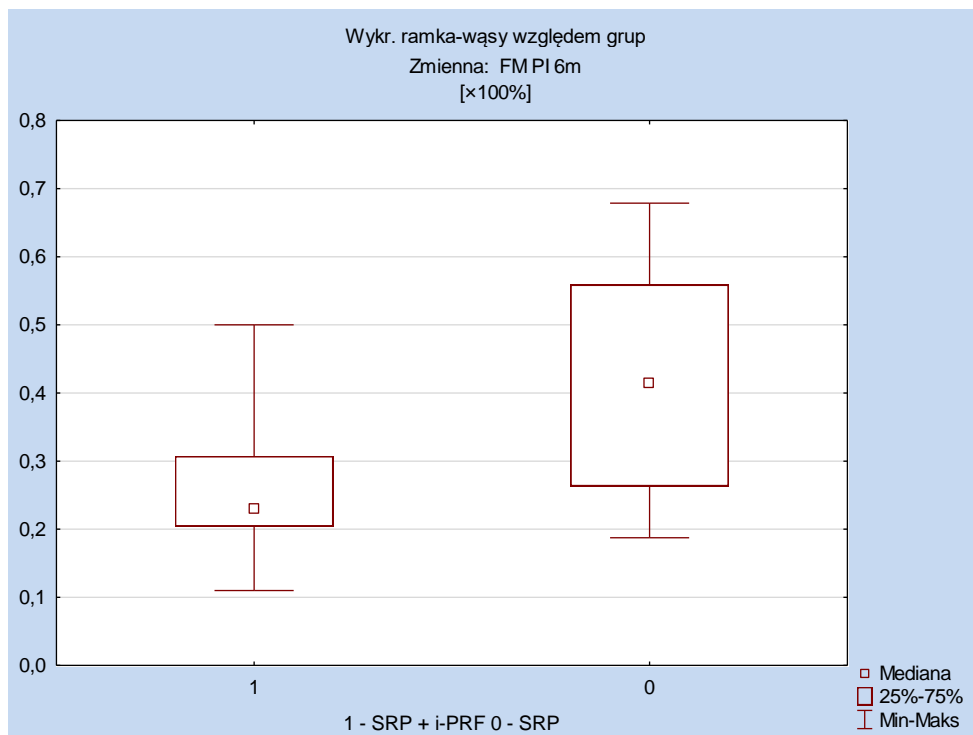
Ryc. 27. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) przed zabiegiem.



Ryc. 28. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) miesiąc po zabiegu.



Ryc. 29. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) 3 miesiące po zabiegu.



Ryc. 30. FM PI (Full Mouth Plaque Index – wskaźnik płytki całej jamy ustnej) 6 miesięcy po zabiegu.

Zaniedbania higieniczne przekładały się także na wartości wskaźnika krwawienia brzeżnego (FM MBI) i po sondowaniu (FM BOP) w badaniu wstępnym. W obu grupach zaobserwowano sukcesywną redukcję wartości obu wskaźników. Zarówno w przypadku krwawienia brzeżnego, jak i krwawienia po sondowaniu różnice jakie dokonały się na przestrzeni sześciu miesięcy były znamienne statystycznie ( $p < 0,000$ ).

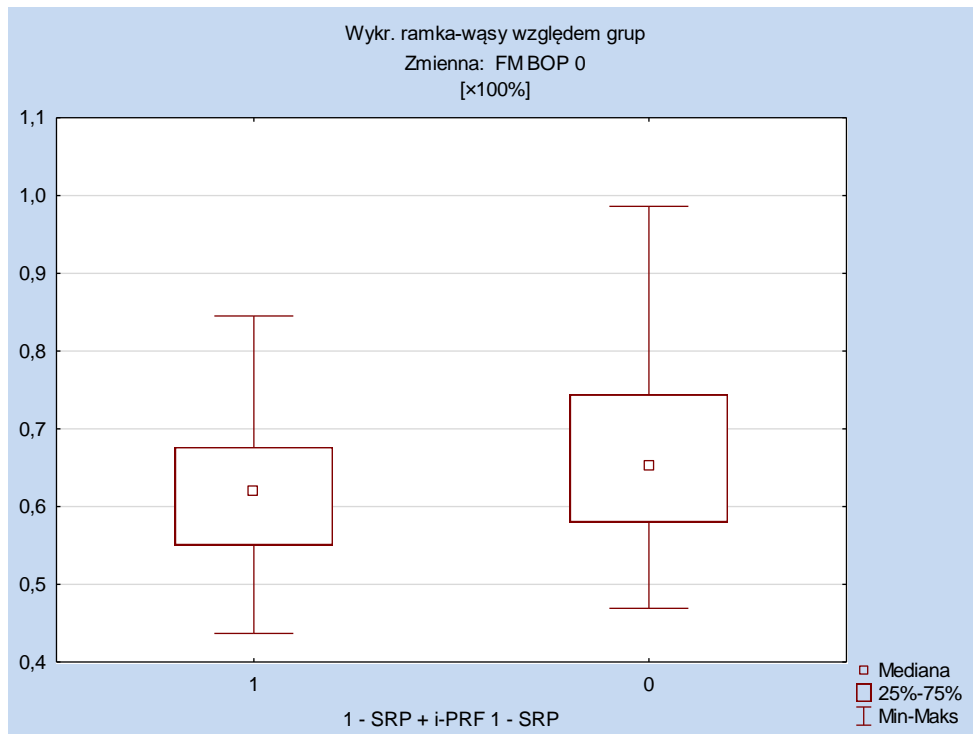
Analiza statystyczna wykazała również istotne różnice pomiędzy grupami. W przypadku wskaźnika krwawienia przy sondowaniu. Różnice takie występowały we wszystkich badaniach kontrolnych ( $p < 0,000$ ). Tabele 12 i 13; Ryciny 19.-22.

	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>FM MBI<sub>0</sub></b>	66,00(±11,00)	65,00(±17,00)	0,379
<b>FM MBI<sub>1M</sub></b>	16,00(±10,00)	25,00(±15,00)	0,065
<b>FM MBI<sub>3M</sub></b>	17,00(±9,00)	28,00(±17,00)	0,071
<b>FM MBI<sub>6M</sub></b>	24,00(±14,00)	32,00(±19,00)	0,193
<b><i>p</i></b>	<b>&lt;0,000</b>	<b>&lt;0,000</b>	

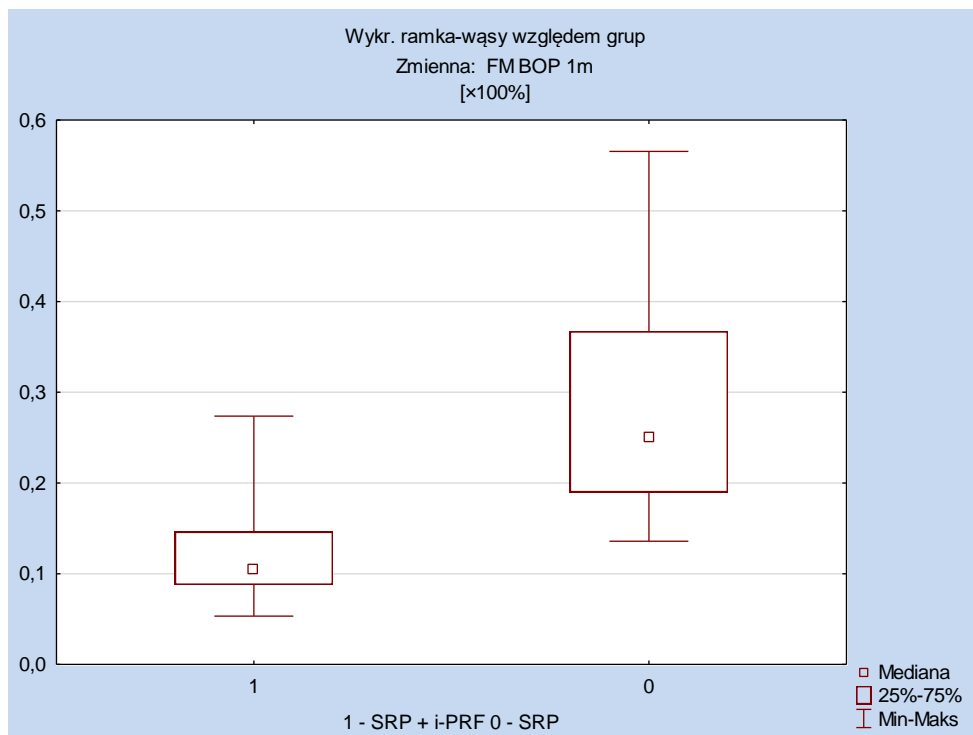
Tabela 12. Wyniki pomiarów FM MBI.

	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>FM BOP<sub>0</sub></b>	63,00(±11,00)	66,00(±12,00)	0,440
<b>FM BOP<sub>1M</sub></b>	12,00(±6,00)	28,00(±11,00)	<b>&lt;0,000</b>
<b>FM BOP<sub>3M</sub></b>	14,00(±5,00)	30,00(±10,00)	<b>&lt;0,000</b>
<b>FM BOP<sub>6M</sub></b>	18,00(±7,00)	35,00(±11,00)	<b>&lt;0,000</b>
<b><i>p</i></b>	<b>&lt;0,000</b>	<b>&lt;0,000</b>	

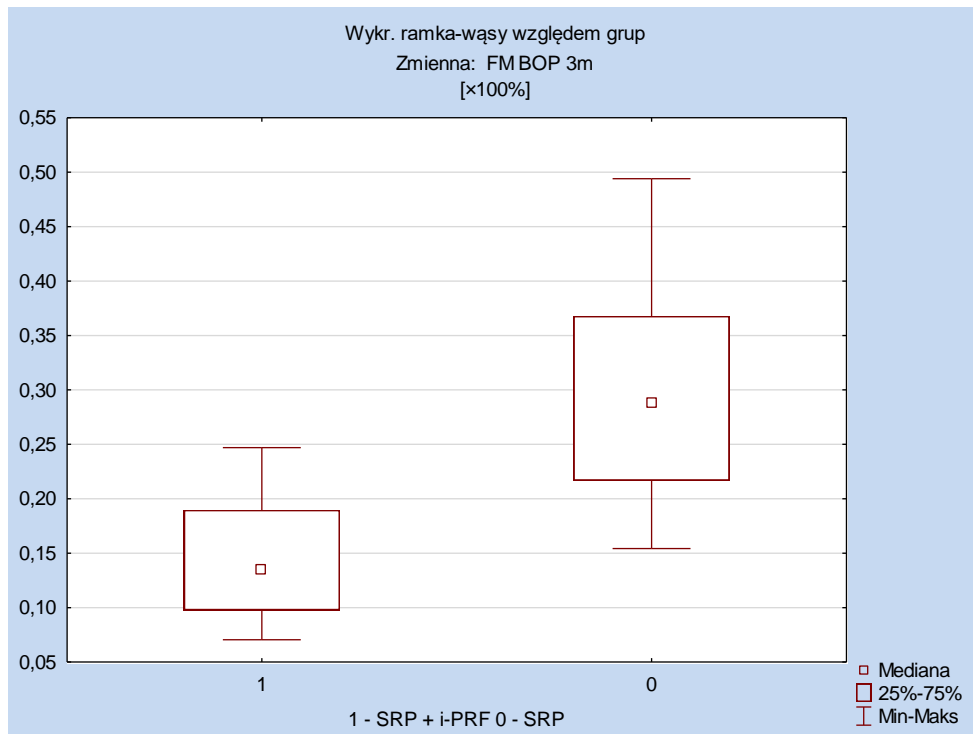
Tabela 13 Wyniki pomiarów FM BOP.



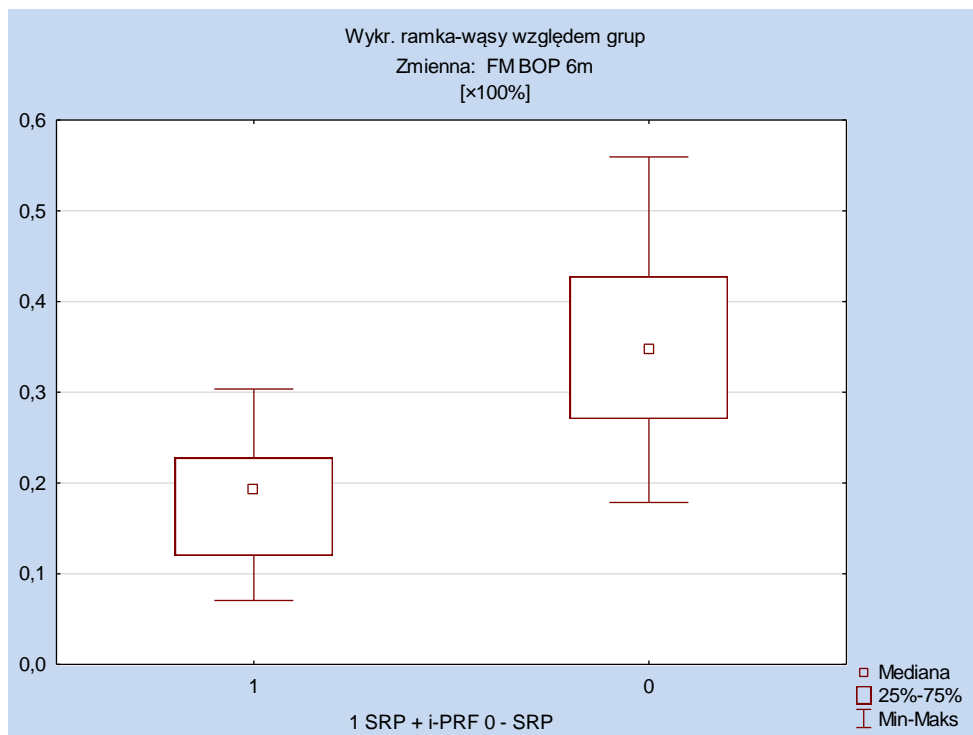
Ryc. 31. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) przed zabiegiem.



Ryc. 32. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) miesiąc po zabiegu.



Ryc. 33. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) 3 miesiące po zabiegu.

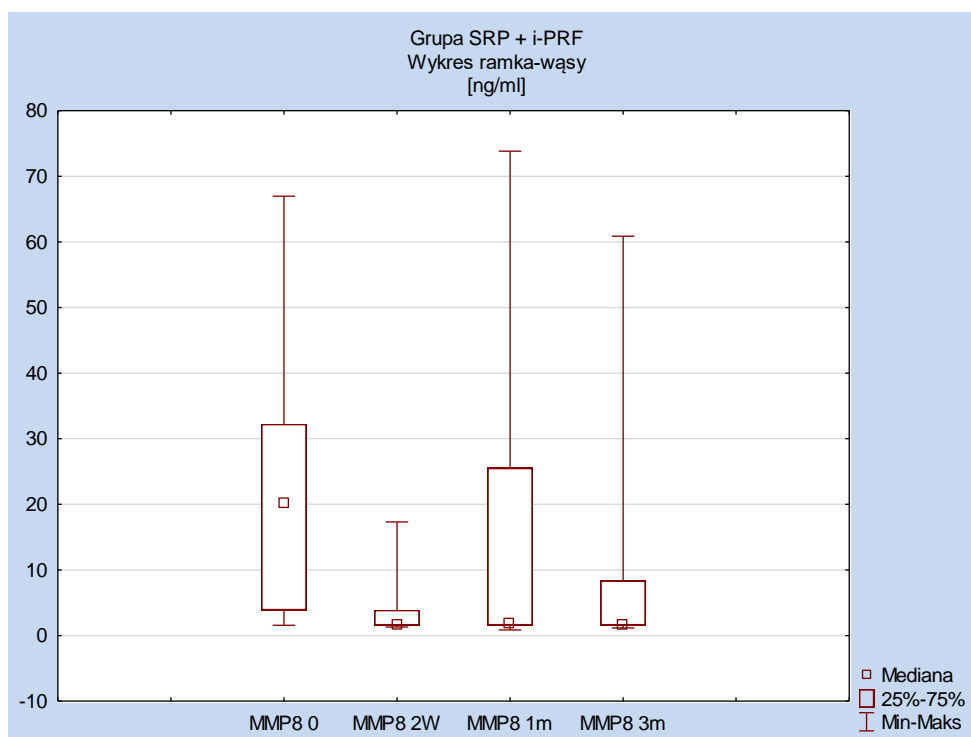


Ryc. 34. FM BOP (Full Mouth Bleeding On Probing – krwawienie przy sondowaniu całej jamy ustnej) 6 miesięcy po zabiegu.

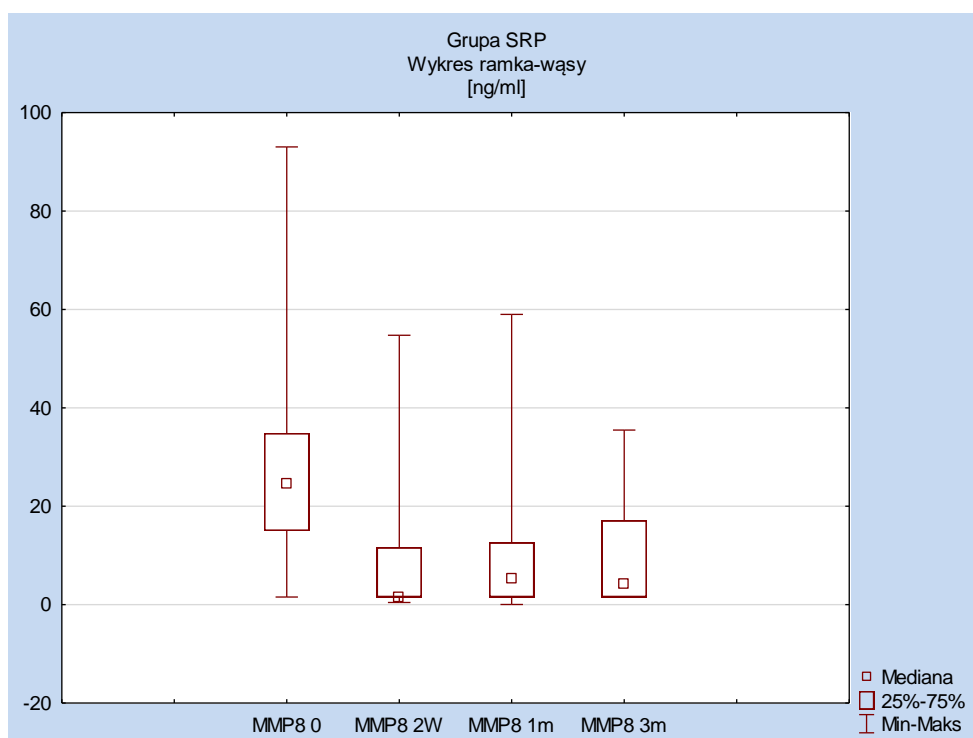
Analiza badań biochemicznych wykazała znamiennej statystycznie spadek poziomu MMP-8 zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej (odpowiednio  $p=0,007$  i  $p=0,009$ ). W grupie badanej doszło do redukcji poziomu MMP-8 z  $23,53(\pm 20,95)$  do  $4,05(\pm 5,00)$  w badaniu po dwóch tygodniach, natomiast w grupie kontrolnej odpowiednio z  $27,74(\pm 21,21)$  do  $10,85(\pm 16,01)$ . Pomimo znacznych różnic poziomu MMP-8 w badaniu po dwóch tygodniach nie osiągnęły one znamiennej statystycznej ( $p=0,208$ ). Spadek poziomu MMP-8 w obu grupach utrzymał się aż do badania po 6 miesiącach. Wyniki przedstawione w Tabeli 14. oraz Rycinach. 23. i 24.

	SRP + i-PRF	SRP	<i>p</i>
MMP-8 <sub>0</sub>	23,53(±20,95)	27,74(±21,21)	0,456
MMP-8 <sub>2T</sub>	4,05(±5,00)	10,85(±16,01)	0,208
MMP-8 <sub>1M</sub>	15,99(±24,63)	12,03(±16,89)	1
MMP-8 <sub>3M</sub>	9,45(±17,07)	9,118(±9,72)	0,125
<i>p</i>	0,007	0,009	

Tabela 14 Wyniki oznaczeń poziomu MMP-8.



Ryc. 35. Poziom MMP-8 w grupie SRP + i-PRF w dniu zabiegu, 2 tygodnie, miesiąc i 3 miesiące po zabiegu.

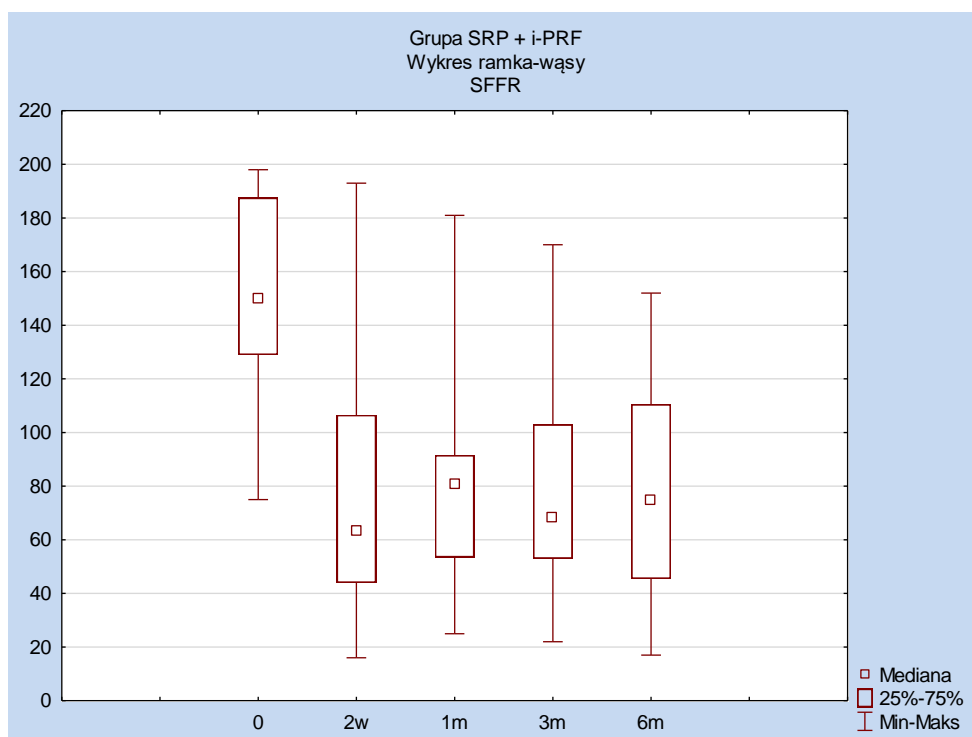


Ryc. 36. Poziom MMP-8 w grupie SRP w dniu zabiegu, 2 tygodnie, miesiąc i 3 miesiące po zabiegu.

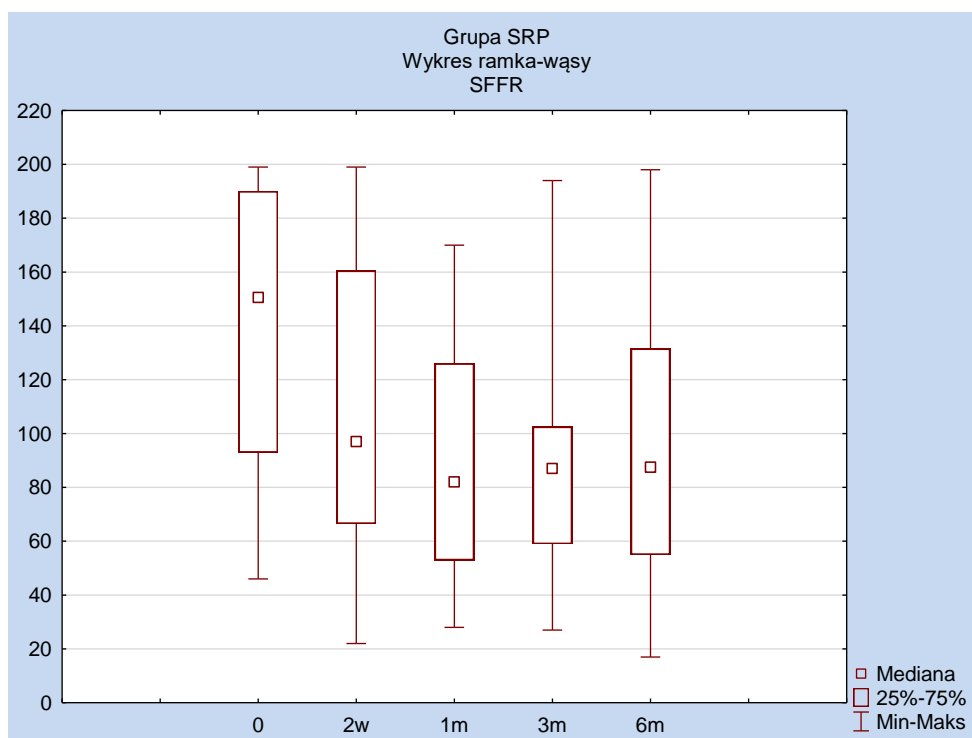
Ilość płynu z kieszonki przyzębnej podany jako SFFR uległ znacznej redukcji zarówno po wykonaniu SRP, jak i po terapii skojarzonej. Zmiany te okazały się istotne statystycznie (odpowiednio  $p=0,015$  i  $p<0,000$ ), choć po zastosowaniu i-PRF różnica ta była większa. Podobnie jak w przypadku oznaczeń MMP-8 nie stwierdzono różnic pomiędzy grupami w żadnym z kolejnych badań kontrolnych. Wyniki przedstawiono w Tabeli 15. oraz na Rycinach 27.-28.

	<b>SRP + i-PRF</b>	<b>SRP</b>	<b><i>p</i></b>
<b>SFFR<sub>0</sub></b>	150,45(±39,72)	140,55(±52,01)	0,694
<b>SFFR<sub>2T</sub></b>	79,70(±48,25)	108,25(±59,01)	0,960
<b>SFFR<sub>1M</sub></b>	78,50(±35,02)	87,53(±44,45)	0,642
<b>SFFR<sub>3M</sub></b>	79,40(±40,91)	90,60(±42,99)	0,409
<b>SFFR<sub>6M</sub></b>	76,25(±38,49)	96,40(±55,86)	0,279
<b><i>p</i></b>	<b>&lt;0,000</b>	<b>0,015</b>	

Tabela 15 Wyniki pomiarów SFFR w kieszonkach.



Ryc. 37. Wyniki pomiarów SFFR przed zabiegiem, 2 tygodnie, miesiąc, 3 miesiące i 6 miesięcy po zabiegu w grupie SRP + i-PRF.



Ryc. 38. Wyniki pomiarów SFFR przed zabiegiem, 2 tygodnie, miesiąc, 3 miesiące i 6 miesięcy po zabiegu w grupie SRP.



## Dyskusja

Celem powyższych badań była ocena skuteczności i-PRF w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia. Oceny tej postanowiono dokonać przez zbadanie stanu klinicznego przyzębia oraz poziomu MMP-8 w płynie kieszonek przyzębnych.

Uzyskane wyniki wykazały istotne zmniejszenie głębokości sondowania w całej jamie ustnej (FM PD) po terapii w obu grupach przy czym w grupie badanej, gdzie zastosowano i-PRF redukcja wskaźnika okazała się istotnie statystycznie większa niż w grupie kontrolnej w badaniu po miesiącu i trzech miesiącach. Obie terapie skutkowały również znamionym zyskiem w położeniu przyczepu klinicznego (FM CAL) oraz zwiększeniem wymiaru recesji dziąsła (FM GR). Redukcja głębokości sondowania w pierwszym okresie obserwacyjnym (0-1m) okazała się być istotnie większa w grupie badanej niż w grupie kontrolnej (odpowiednio:  $0,54 \pm 0,18$ ,  $0,39 \pm 0,19$   $p=0,011$ ). W grupie badanej zaobserwowano również istotnie statystycznie większy, w porównaniu z grupą kontrolną, zysk w położeniu przyczepu klinicznego w pierwszym okresie obserwacji (0-1m) oraz w obserwacjach długoterminowych (0-6m) (odpowiednio  $0,53 \pm 0,16$  do  $0,34 \pm 0,24$ ,  $p=0,003$  oraz  $0,46 \pm 0,33$  do  $0,23 \pm 0,25$ ,  $p=0,38$ ). Warte zauważenia jest, że zmiany dokonały się przy braku istotnych różnic w parametrze recesji dziąsła.

Analiza danych dotyczących głębokości kieszonek powyżej 5 mm wykazała porównywalną redukcję ich ilości zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej. W porównywalny sposób w obu grupach zmieniały się również głębokość sondowania, położenie przyczepu oraz wielkość recesji. Różnice parametrów pomiędzy poszczególnymi badaniami ukazały natomiast istotną statystycznie różnicę w redukcji PD pomiędzy badaniem 0 i 6m w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej (odpowiednio  $1,59 \pm 0,55$  i  $1,25 \pm 0,41$ ,  $p=0,042$ ). Wykazano również znaczną różnicę redukcji PD pomiędzy grupami w pierwszym okresie obserwacji (0-1m), która zbliżyła się do znamionności statystycznej ( $p=0,053$ ). Analiza zysku w położeniu przyczepu klinicznego także ukazała zdecydowanie lepsze wyniki w grupie badanej. Te różnice pomiędzy grupami w przypadku obserwacji krótko- i długoterminowych okazały się istotne statystycznie (odpowiednio 0-3m  $p=0,027$ ; 0-6m  $p=0,014$ ). Ważne, że zmiany tego parametru dokonały się bez istotnych zmian w wielkości recesji dziąsła w grupie, w której zastosowano i-PRF, natomiast w grupie SRP wielkość recesji zwiększyła się w sposób istotny statystycznie ( $p=0,007$ ).

Wskaźniki krwawienia brzeżnego (FM MBI), krwawienia po sondowaniu (FM BOP) oraz wskaźnik płytki (FM PI) uległy istotnej redukcji w trakcie sześciomiesięcznego okresu obserwacji. W przypadku FM PI i FM BOP w badaniach kontrolnych po miesiącu, trzech i sześciu miesiącach stwierdzono znamienne statystycznie różnice pomiędzy grupami na korzyść grupy badanej.

W obu grupach odnotowano istotny statystycznie spadek SFFR oraz stężenia MMP-8 w płynie z kieszonek przyzębnych. Nie wykazano różnic pomiędzy grupami.

Zapalenie przyzębia stanowi poważny problem zdrowia publicznego ze względu na dużą częstość występowania (72). Ze względu na fakt, że może prowadzić do utraty zębów, a przez to do pewnego rodzaju niepełnosprawności, wpływa na zdrowie człowieka, upośledza funkcję żucia i estetykę. W wyniku tego ma negatywny wpływ na ogólny stan zdrowia, jest przyczyną nierówności społecznych i znacząco pogarsza jakość życia pacjentów. Co więcej zapalenie przyzębia odpowiada za znaczny odsetek bezzębia i różnych form dysfunkcji układu stomatognatycznego, przez co generuje znaczne koszty opieki stomatologicznej (41, 72).

SRP jest złotym standardem w leczeniu *Periodontitis*. Choć nie ma obecnie techniki instrumentalnej, która umożliwiałaby całkowitą eliminację biofilmu bakteryjnego, to mechaniczne oczyszczenie powierzchni zęba ze złogów poddziąsłowych bezapelacyjnie powoduje powrót tkanek przyzębia do homeostazy, zmniejszenie stanu zapalnego i poprawę parametrów klinicznych (42, 73). Dane dotyczące efektywności SRP zostały potwierdzone w ostatnim przeglądzie systematycznym zawartym w wytycznych dotyczących leczenia zapalenia przyzębia w stadium od I do III (47). Instrumentacja poddziąsłowa jest efektywna niezależnie od sposobu leczenia, czy też wyboru narzędzi (47). Skutecznym sposobem leczenia okazuje praca zarówno w protokole „full mouth”, jak też kwadrantami, choć jednoczesne opracowanie kieszonek w całej jamie ustnej można rozważyć u pacjentów z niedostateczną kontrolą płytki, w przypadku zaawansowanych form zapalenia przyzębia oraz w przypadku obecności rozległych złogów w nieleczonych kwadrantach ze względu na wyższe ryzyko translokacji periopatogenów (41, 74, 75, 76, 77). Dostępna literatura pokazuje, że redukcja parametrów periodontologicznych jest podobna zarówno po zastosowaniu skalerów ręcznych, dźwiękowych, jak i ultradźwiękowych (41, 78, 79, 80). Praca każdym z wyżej wymienionych narzędzi ma swoje wady i zalety. Niewątpliwą zaletą jest jednak zapewnienie lepszego dostępu do głębszych kieszonek w przypadku stosowania skalerów dźwiękowych i ultradźwiękowych (81, 82). SRP powoduje spłycenie kieszonek o wyjściowej głębokości 4-6 mm o 1,5mm w obserwacjach 6-8 miesięcy. W przypadku

kieszonek głębszych ( $\geq 7$  mm) ta redukcja wnosić może nawet 2,6mm. W obserwacjach 6-8 miesięcznych 74% kieszonek ulega redukcji przy jednoczesnym zmniejszeniu wskaźnika zapalenia BOP o średnio 62% (41). Warto jednak wziąć pod uwagę reakcje tkanek i ich straty po zastosowaniu różnych rodzajów narzędzi. Badania pokazały, że praca narzędziami ultradźwiękowymi jest zdecydowanie delikatniejsza niż dźwiękowymi (83). Zastosowanie skalerów dźwiękowych w okolicy poddziąsłowej wiązało się ze zdecydowanie większymi stratami cementu korzeniowego niż w przypadku skalerów ultradźwiękowych (83). W odniesieniu do reakcji tkanek miękkich na instrumentację poddziąsłową ciekawych informacji dostarczają nam badania Acunzo i wsp. (84). W swoich zrandomizowanych kontrolowanych badaniach klinicznych autorzy przeanalizowali zmiany w położeniu dziąsła u pacjentów z cienkim i grubym fenotypem dziąsła po zastosowaniu kiret regularnych oraz minikiret. Użycie minikiret skutkowało większą redukcją głębokości sondowania i mniejszą utratą dziąsła brzeżnego, wyrażonego mniejszym wymiarem recesji. Użycie regularnych kiret w leczeniu niechirurgicznym skutkowało większym skurczem pozabiegowym tkanek, szczególnie w przypadku cienkiego fenotypu dziąsła (84). Na podstawie wyników uzyskanych w przytoczonych doniesieniach naukowych zdecydowano o metodologii postępowania w badaniach własnych i zastosowano odpowiednio urządzenie ultradźwiękowe z cienkimi końcówkami PS, które dają możliwość pracy na głębokościach nawet do 10mm (EMS Piezon Tip PS, EMS, Nyon, Switzerland) oraz instrumenty ręczne w postaci kiret mikromini typu Gracey (Gracey currettes (SMS), Hu-Friedy, Chicago, IL, USA).

Skuteczność SRP w poprawie parametrów klinicznych została wielokrotnie przebadana. Uzyskane w badaniach własnych wyniki po zastosowaniu SRP pozostają w zgodzie z wynikami innych autorów. Ioannou i wsp. (85) w badaniu klinicznym w grupie 33 osób, porównywali efekty niechirurgicznego leczenia przyzębia z użyciem narzędzi ręcznych oraz narzędzi ultradźwiękowych, gdzie grupą badaną byli pacjenci, u których przeprowadzono oczyszczenie z użyciem narzędzi ultradźwiękowych, a grupą kontrolną pacjenci, u których użyto narzędzi ręcznych. W obu grupach uzyskano redukcję głębokości sondowania po 6 miesiącach na poziomie  $0,9 \pm 0,14$ mm w grupie kontrolnej oraz  $0,4 \pm 0,07$ mm w grupie badanej. Mimo tego, że redukcja PD liczbowo w grupie kontrolnej była większa, różnice pomiędzy grupami nie osiągnęły istotności statystycznej. Zmniejszenie głębokości sondowania w cytowanych badaniach jest podobna do redukcji PD uzyskanej w grupie kontrolnej w badaniu własnym ( $0,35 \pm 0,20$ mm) (85).

Apatzidou i wsp. (74) porównując korzyści płynące z procedury SRP wykonywanej kwadrantami (Q-SRP) i jednoetapowo (FM-SRP) uzyskali również wyniki zbliżone do

wyników w badaniach własnych. W obu grupach zaobserwowano istotny spadek wskaźników klinicznych notując w grupie Q-SRP redukcję parametru PD z  $4,4\pm 0,7$  do  $2,6\pm 0,3$ ; CAL  $5,0\pm 0,9$  do  $3,9\pm 0,9$ ; BOP z  $71,0\pm 19$  do  $13\pm 7,0$  oraz w grupie FM-SRP PD z  $4,4\pm 0,6$  do  $2,6\pm 0,2$ ; CAL z  $5,1\pm 1,0$  do  $4,0\pm 1,0$  oraz BOP z  $68,0\pm 26,0$  do  $10\pm 6,0$ . W badaniu Apatzidou i wsp., w przeciwieństwie do wcześniejszych ustaleń, nie udało się wykazać, że FM-SRP jest skuteczniejszą metodą leczenia zapalenia przyzębia w porównaniu z Q-SRP. Według autorów obie metody okazały się skuteczne. Autorzy badań zasugerowali, że lekarz powinien wybrać metodę leczenia w oparciu o względy praktyczne związane z preferencjami pacjenta i obciążeniem pracą kliniczną (74).

Fonseca i wsp (86) w badaniu oceniającym SRP jako monoterapię, a także w skojarzeniu z azytromycyną i chloheksydyną stwierdzili redukcję głębokości sondowania na poziomie  $0,3 \pm 0,39\text{mm}$  w grupie SRP w badaniu po 6-ciu miesiącach. Petelin i wsp (87) oceniali skuteczność SRP wykonywaną przy użyciu ultradźwięków oraz narzędzi ręcznych. Tu również uzyskano wyniki porównywalne z wynikami własnymi. W obserwacjach 6-cio miesięcznych redukcja PD po SRP z użyciem narzędzi ręcznych wynosiła  $0,4\pm 0,2\text{mm}$ , a w grupie SRP z wykorzystaniem narzędzi ultradźwiękowych  $0,5\pm 0,2\text{mm}$ . Zdecydowanie większą redukcję głębokości sondowania w swoich badaniach osiągnął Obeid i wsp. (79). Tu różnica pomiędzy badaniem początkowym a badaniem po 6 miesiącach wynosiła  $1,6\pm 0,34\text{mm}$ . Swierkot i wsp. (88) dokonali oceny zmian parametrów klinicznych po zastosowaniu Q-SRP, FM SRP oraz FM SRP z użyciem chlorheksydyny. Po 8 miesiącach w grupach Q-SRP i SRP autorzy zaobserwowali redukcję głębokości sondowania wielkości odpowiednio  $0,93\pm 0,79\text{mm}$  oraz  $0,8\pm 0,41\text{mm}$  i  $0,8\pm 0,41\text{mm}$ . Ze względu na fakt, że wyniki we wszystkich trzech grupach były zbliżone, autorzy stwierdzili, że wszystkie metody leczenia są równie skuteczne w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia (88).

Wykonując podstawowe procedury rozważamy wzbogacenie ich o różne dodatkowe czynności mogące poprawić efekt leczniczy. Wytyczne opracowane podczas ostatnich warsztatów Europejskiej Federacji Periodontologii w bardzo precyzyjny sposób przedstawiają zasadność stosowania różnych dodatkowych metod leczniczych. Opracowanie podkreśla znaczenie dowodów naukowych w procesie podejmowania decyzji klinicznych. W praktyce jest źródłem wiedzy dotyczącej różnych interwencji stosowanych na różnych etapach leczenia periodontologicznego opartej na najwyższej jakości literaturze i opinii ekspertów w dziedzinie (72). Według wytycznych zasadne jest stosowanie płukanek antyseptycznych, szczególnie na bazie chlorheksydyny przez ograniczony okres czasu (72). Zasadne jest również stosowanie miejscowo preparatów o przedłużonym uwalnianiu zawierających

chlorheksydyne lub antybiotyki (72). Ze względu na ogólnoustrojowe skutki uboczne, efekty dla zdrowia publicznego, a także w obawie o zdrowie samego pacjenta rutynowe stosowanie antybiotykoterpii ogólnej jako uzupełnienie poddziałkowego oczyszczania u pacjentów z zapaleniem przyzębia nie jest zalecana (72). Aczkolwiek można rozważyć zastosowanie antybiotykoterpii ogólnej wspomagająco w leczeniu szczególnej kategorii pacjentów np. u młodych dorosłych z uogólnionym zapaleniem przyzębia w stadium III choroby.

W odniesieniu do laseroterapii, czy też terapii fotodynamicznej, jako dodatku do SRP w literaturze podkreślany jest korzystny jej wpływ na gojenie przyzębia poprzez ablację złogów poddziałkowych, dekontaminację powierzchni korzeni oraz wywierane działanie przeciwbakteryjne. Jednak różnice w metodologii badań, a także konieczność dodatkowych znacznych nakładów finansowych stawiają pod znakiem zapytania zasadność ich stosowania (72). Najnowsze wytyczne nie zalecają również miejscowego i/lub ogólnego stosowania różnych modulatorów odpowiedzi zapalnej gospodarza tj.: statyny, niskie dawki doksycykliny, bisfosfoniany, niesterydowe leki przeciwzapalne, metformina, nienasycone kwasy tłuszczowe omega-3, a także probiotyki.

Wytyczne Europejskiej Federacji Periodontologii nie ujmują jednak zastosowania koncentratów płytkowych tj.: fibryna bogatopłytkowa (PRF) w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia. A temat PRF jest niezwykle interesujący. Publikowanych jest obecnie wiele prac przedstawiających wykorzystanie różnych form tego preparatu w medycynie i różnych dziedzinach stomatologii (89). Ozsagir i wsp. (90) w badaniach split-mouth porównywali iniekcje z użyciem PRF do zwiększania szerokości dziąsła skeratynizowanego (KTW- keratinised tissue width) u pacjentów z cienkim fenotypem dziąsła. Zastosowanie PRF poprawiło wymiar KTW w sposób znamieny statystycznie. Izol i Uner w 2019 badali wpływ i-PRF na efekt pokrycia recesji z zastosowaniem przeszczepów błony śluzowej z podniebienia. Autorzy odnotowali lepsze wyniki oraz większy przyrost tkanek w grupie gdzie zastosowano i-PRF (91). Turner i wsp. (92) badali zasadność stosowania PRF w zabiegach pokrycia recesji z użyciem CTG. Autorzy udokumentowali znacząco większą redukcję wymiaru recesji oraz większy przyrost dziąsła skeratynizowanego w grupie pacjentów, u których zastosowano dodatkowo i-PRF. Sharma i Pradeep (93) porównywali zastosowanie PRF przy chirurgicznym leczeniu ubytków trójściennych OFD (Open Flap Debridement) i zanotowali znacznie większą redukcję PD oraz zysk CAL w przypadku zastosowania OFD z PRF niż samego OFD.

W czasie powstawania planów własnej pracy badawczej literatura światowa uboga była w dane dotyczące zastosowania i-PRF w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia.

Uzyskane w badaniach własnych wyniki w pewnym zakresie można odnieść do publikacji, które ukazały się w czasie trwania badań własnych, choć ich metodologia i wyniki nie są homogenne.

Gizem Torumtay Cin i wsp. (94) w badaniu u 17 pacjentów z 34 głębokimi kieszonkami przyzębnymi porównali w modelu split-mouth terapię z wykorzystaniem i-PRF w leczeniu niechirurgicznym. Autorzy wykazali skuteczność terapii uzyskując istotną statystycznie redukcję PD po stronie badanej (z  $7.76 \pm 0.75$  do  $5.76 \pm 0.97$  po miesiącu,  $5.47 \pm 1.07$  po 3 miesiącach i  $5.41 \pm 1.08$  po 6 miesiącach) względem strony kontrolnej (z  $7.71 \pm 0.68$  do  $6.47 \pm 0.87$  po miesiącu,  $6.18 \pm 0.80$  po 3 miesiącach i  $6.06 \pm 1.03$  po 6 miesiącach). Analiza danych ukazała również znamienne statystycznie różnice pomiędzy stronami w zysku położenia przyczepu klinicznego (strona badana z  $8.24 \pm 0.83$  do  $6.42 \pm 0.95$  po 6 miesiącach, względem  $8.29 \pm 0.58$  do  $7.71 \pm 0.84$  po 6 miesiącach po stronie kontrolnej). Po stronie badanej wartości recesji dziąseł (GR) były istotnie niższe w porównaniu ze stroną kontrolną. Dodatkowo autorzy wykorzystując test ELISA oznaczyli poziom czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego (VEGF), TNF- $\alpha$  i interleukiny 10 (IL-10) w próbkach płynu dziąsłowego (GCF). Próbki materiału pobierane były przed zabiegiem, po 7 i 14 dniach. W 14. dniu po stronie badanej stężenie VEGF i IL-10 było istotnie wyższe niż po stronie kontrolnej, a stężenie TNF- $\alpha$  znacznie niższe po stronie testowej w 7. i 14. dniu. Uzyskane wyniki pozwoliły autorom wywnioskować, że zastosowanie i-PRF jako uzupełnienie niechirurgicznego leczenia przyzębia poprawia efekt kliniczny i skuteczność SRP. Co więcej zmiany w poziomie VEGF, IL-10 oraz TNF- $\alpha$  wskazują na rolę i-PRF w ograniczaniu stanu zapalnego w tkankach przyzębia i przejściu do fazy naprawy. Wyniki uzyskane przez Gizem Torumtay Cin i wsp. pokrywają się w pewnym zakresie w wynikami badań własnych. Co prawda uzyskane redukcje głębokości sondowania, jak i zyski w położeniu przyczepu nie były tak duże, jak w badaniach autorów, jednak, podobnie jak u nich, okazały się one istotne statystycznie. Wytłumaczeniem takiej sytuacji najprawdopodobniej jest fakt różnicy w wyjściowych wartościach parametrów.

Vučković i wsp. (95) w badaniu typu split-mouth u 24 pacjentów z co najmniej 2 kieszonkami o głębokości sondowania  $\geq 5$  wykazali skuteczność terapii SRP + i-PRF w porównaniu do SRP. Badanie kontrolne wykonano 3 miesiące po zabiegu. Autorzy udokumentowali spadek CAL z  $1,97 \pm 0,75$  do  $1,07 \pm 0,44$  po stronie badanej oraz z  $1,81 \pm 0,66$  do  $1,48 \pm 0,55$  po stronie kontrolnej. Średnia głębokość sondowania po stronie badanej uległa zmniejszeniu z  $3,68 \pm 0,72$  do  $1,73 \pm 0,64$ , a po kontrolnej z  $3,68 \pm 0,89$  do  $2,31 \pm 0,73$ . Różnica pomiędzy stronami w badaniu po trzech miesiącach była istotna statystycznie

( $p=0,006$ ). Autorzy zaobserwowali również znamienne spadki wskaźnika BOP po obu stronach, jednak redukcja parametru po stronie badanej była istotnie większa niż po stronie kontrolnej ( $p<0,000$ ). Choć badania zostały wykonane na ograniczonej liczbie pacjentów, pozwoliło to wnioskować autorom o skuteczności i-PRF w połączeniu z SRP w niechirurgicznym leczeniu zapalenia przyzębia (95).

Albonni i wsp. (96) przeprowadzili kontrolowane, zrandomizowane badania w modelu split-mouth na grupie 15 pacjentów z Zapaleniem przyzębia. U pacjentów została przeprowadzona procedura SRP i następnie po stronie badanej podano do kieszonek i-PRF, a po stronie kontrolnej sól fizjologiczną. Obserwacje trwały 3 miesiące. Autorzy wykazali istotną statystycznie redukcję wartości parametru PD w badaniu po 3 miesiącach. Głębokość sondowania po stronie badanej zmniejszyła się z  $4,93\pm 0,98$  do  $3,79\pm 0,98$ , natomiast po stronie kontrolnej z  $4,90\pm 0,96$  do  $3,86\pm 1,09$ . Chociaż zmiany w czasie były istotne statystycznie, to nie odnotowano znamienych różnic pomiędzy stronami. W przypadku wskaźnika CAL tendencja była podobna. Tu również zauważono istotny statystycznie zysk w położeniu przyczepu, jednak nie stwierdzono różnic pomiędzy stronami w badaniu po trzech miesiącach (96). Na podstawie uzyskanych wyników autorzy wywnioskowali, że zastosowanie i-PRF nie wnosi żadnych korzyści do leczenia niechirurgicznego zapalenia przyzębia. Rozbieżności w wynikach pomiędzy cytowanymi badaniami i badaniami własnymi można tłumaczyć różnicami w metodologii. Należy zauważyć, że badania zostały przeprowadzone na zasadniczo małej grupie, która dodatkowo była niehomogenna. W badanej grupie znaleźli się pacjenci z płytkimi i bardzo głębokimi kieszonkami, a analizy przeprowadzono na całości grupy, bez podziału na kieszonki płytke i głębokie. Analizy w badaniach własnych przeprowadzono z wyszczególnieniem kieszonek o głębokościach powyżej 5mm, które stanowią zdecydowanie większy problem terapeutyczny niż kieszonki płytke (77, 97, 98). Co więcej według Matulienė i wsp. (99) kieszonki 5mm w porównaniu z kieszonkami o głębokości 3mm stanowią czynnik ryzyka utraty zębów z współczynnikiem wynoszącym 7.7. W odróżnieniu od badań własnych, Albonni i wsp. przeprowadzili badania na grupie pacjentów, do której włączali również osoby palące. Musimy zwrócić tu uwagę na fakt, że palenie tytoniu jest jednym najlepiej opisanych czynników ryzyka progresji zapalenia przyzębia. Związek palenia tytoniu z chorobą przyzębia jest bardzo dobrze udokumentowany (100, 101). Jest to po płytce nazębnej drugi najsilniejszy właściwy czynnik ryzyka. Wiąże się z wielokrotnym wzrostem ryzyka utraty przyczepu klinicznego oraz kości wyrostka zębodołowego. Ciężkość zapalenia przyzębia zależy od liczby wypalanych papierosów, a także czasu trwania nałogu (100, 101). Od wielu lat podkreślany jest też w literaturze wpływ

palenia na wyniki leczenia periodontologicznego, zarówno niechirurgicznego, jak i chirurgicznego. W licznych badaniach odnotowano statystycznie gorsze wyniki kliniczne wyrażone mniejszą redukcją głębokości sondowania i mniejszymi zyskami w położeniu przyczepu w grupie pacjentów palących w porównaniu do niepalących (77, 102, 103, 104).

Shunmuga i wsp. (105) w zrandomizowanych badaniach kontrolnych w modelu split-mouth u 26 pacjentów z zapaleniem przyzębia i współistniejącą cukrzycą typu II porównali terapię SRP z dodatkowym zastosowaniem i-PRF. W 6-cio miesięcznych obserwacjach uzyskali istotną redukcję głębokości sondowania oraz krwawienia po sondowaniu. Autorzy zaobserwowali również statystycznie istotny zysk w położeniu przyczepu klinicznego. Średnie wartości PD i CAL spadły z  $6,30 \pm 1,25$  i  $7,48 \pm 1,75$  na początku badania do  $3,48 \pm 1,34$  i  $4,39 \pm 1,67$  po 6 miesiącach po stronie kontrolnej i z  $6,57 \pm 1,56$  i  $7,61 \pm 1,69$  do  $3,39 \pm 1,23$  i  $4,26 \pm 1,81$  po 6 miesiącach po stronie badanej ( $p \leq 0,001$ ). Autorzy nie stwierdzili istotnych statystycznie różnic pomiędzy stronami. Porównywalnie do badań własnych zauważalny był istotny spadek parametrów PD i CAL, jednak różnice między grupami były tu nieistotne statystycznie, choć liczbowo mniejsze. Należy zauważyć, że badanie zostało wykonane na grupie pacjentów cierpiących na metaboliczną chorobę, cukrzycę typu II, która jest czynnikiem ryzyka zapalenia przyzębia. Ponadto związek cukrzycy z chorobą przyzębia jest dwukierunkowy. Cukrzyca wpływa na zasięg i progresję zapalenia przyzębia. Dowody naukowe potwierdzają również, że nieprawidłowa kontrola glikemii wiąże się z nasileniem zapalenia w przyzębiu. Z drugiej strony jednak kontrola glikemii i przestrzeganie reżimu dietetycznego ułatwia ograniczenie zmian w przyzębiu. Co więcej u pacjentów ze współistniejącymi cukrzycą i zapaleniem przyzębia obserwuje się więcej powikłań sercowo-naczyniowych niż u pacjentów z cukrzycą i przyzębiem zdrowym (100). U pacjentów z cukrzycą zaobserwować można zwiększoną stymulację procesów zapalnych. Wyrażone jest to podwyższonymi poziomami cytokin prozapalnych tj.: PGE2 i IL-1 $\beta$  w tkankach przyzębia w porównaniu z osobami zdrowymi (106). Z drugiej strony odpowiedź zapalna jest niewydolna, gdyż możemy obserwować zaburzenia przylegania neutrofilów, ich chemotaksji i fagocytozy. Zaburzone zostają procesy gojenia. Pojawia się też więcej receptorów dla końcowych produktów zaawansowanej glikacji (RAGE), co przekłada się na intensywniejszy rozwój powikłań cukrzycy tj.: choroby sercowo-naczyniowe, czy choroby nerek (107-110).

Narendran i wsp. (111) w badaniu split-mouth na grupie 16 pacjentów z zapaleniem przyzębia i kieszonkami  $\geq 5$  mm i  $\leq 7$  mm w zębach jednokorzeniowych wykazali korzystny wpływ zastosowania PRF (L-PRF) na poprawę parametrów PD i CAL po zabiegu SRP w



badaniach po 60 i 90 dniach. Autorzy udokumentowali spadek PD po stronie kontrolnej z  $6.18 \pm 0.66$  do  $3.93 \pm 1.12$  i po stronie badanej z  $6.37 \pm 0.50$  do  $3.06 \pm 0.77$ . Różnice między stronami okazały się istotne statystycznie. Niestety dużym ograniczeniem badań była wielkość próby, gdyż ujęto tu jedynie 32 kieszonki. Co więcej, włączono jedynie kieszonki przy zębach jednokorzeniowych, podczas gdy uzyskanie porównywalnych wyników przy zębach wielokorzeniowych jest zdecydowanie trudniejsze (97).

Parwani i wsp. (112) w swoich badaniach dotyczących niechirurgicznego zapalenia przyzębia zastosowali PRF w stałej postaci. Badania zostały wykonane w modelu split-mouth. Do badań zakwalifikowano 13 pacjentów z 26 kieszonkami głębokości 5-6mm. U wszystkich pacjentów przeprowadzono procedurę SRP. Po zakończeniu procedury oczyszczania poddziąsłowego po stronie badanej do kieszonek na szwach materacowych wprowadzono błony z PRF. W obserwacjach sześciotygodniowych autorzy stwierdzili statystycznie lepsze wyniki kliniczne po stronie, gdzie zastosowano PRF w stosunku do strony kontrolnej. Doszło do większego zysku CAL (SRP+PRF:  $2,69 \pm 0,63$ ; SRP:  $4,15 \pm 0,69$ ;  $p=0.001$ ), redukcji PD (SRP+PRF:  $2,62 \pm 0,65$ ; SRP:  $3,85 \pm 0,80$ ;  $p=0.001$ ), i mniejszego wzrostu GR (SRP+PRF:  $0,46 \pm 0,62$ ; SRP:  $0,81 \pm 0,72$ ;  $p=0.21$ ).

Ze schematu wyżej wymienionych badań wyłamuje się również praca Al-Rihaymee i wsp. (113). Autorzy wybrali model split-mouth, a w badaniu wzięło udział 14 pacjentów, jednak tu po testowej stronie zastosowano PRF w stałej postaci uzyskany poprzez wirowanie przez 10min z prędkością 3000rpm. Po trzech miesiącach zaobserwowano poprawę parametrów klinicznych zarówno po stronie gdzie zastosowano samo SRP, jak i SRP w połączeniu z PRF. Głębokości sondowania po stronie badanej zmniejszyły się z  $5,429 \pm 0,646$  do  $2,107 \pm 0,289$ , a po stronie kontrolnej z  $4,929 \pm 0,730$  do  $3,036 \pm 0,535$ . Co więcej, różnice pomiędzy stronami były znamienne statystycznie. Na tej podstawie autorzy wywnioskowali, że zastosowanie PRF w dodatku do procedury SRP przyczynia się do poprawy parametrów klinicznych (113).

Znaczna część cytowanych dowodów naukowych potwierdza zasadność zastosowania i-PRF w niechirurgicznym leczeniu przyzębia. Znaczna ich część również potwierdza znaczenie i-PRF w ograniczaniu procesów zapalnych w przyzębiu. Badania własne zgadzają się z cytowanymi badaniami w tym obszarze. Jeden aspekt parametrów periodontologicznych może jednak podważać skuteczność i-PRF. W badaniach własnych stwierdzono różnice istotne statystycznie pomiędzy grupami w zakresie wskaźnika higieny (PI). Podobne

tendencje w różnicach wskaźnika higieny stwierdzi również inni autorzy (112). Nie odnieśli się jednak do tego faktu w dysksji.

Ogólnie przyjmuje się, że istnieje silny związek między higieną jamy ustnej a zdrowiem przyzębia. Warto jednak zauważyć, że chociaż istnieje słaby związek między poziomem płytki naddziąsłowej a postępowaniem zapalenia przyzębia, wykazano, że bez odpowiedniej higieny jamy ustnej wyników leczenia nie da się utrzymać. Jest tak, ponieważ płytka naddziąsłowa prowadzi do powstania płytki poddziąsłowej, co z kolei prowadzi do nasilenia zapalenia w przyzębiu. Mając powyższe na uwadze, różnice statystyczne we wskaźniku higieny powinny w pierwszej kolejności przełożyć się na podobne różnice we wskaźniku krwawienia brzeżnego, który jest powiązany przyczynowo ze wskaźnikiem płytki. Dopiero te zmiany prowadziłyby do zmian w wartościach wskaźnika krwawienia po sondowaniu. Takiej tendencji jednak w badaniach własnych nie obserwowano. FM MBI uległ redukcji w obu grupach w sposób znamieny statystycznie, jednak pomiędzy grupami takiej znamienności nie stwierdzono. Możemy zatem przypuszczać, że różnice statystyczne w FM BOP wynikają z przeciwzapalnego działania i-PRF.

Warto też zauważyć, że pomimo istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w poziomie parametrów klinicznych tj.: FM PI i FM BOP, nie przełożyło się to na znaczącą różnicę w poziomach MMP-8 między grupami. Jeżeli zapalenie i poziom płytki miałyby wpłynąć na głębokości sondowania, to powinno przełożyć się to również na poziomy MMP8. Fakt ten może potwierdzać znaczenie PRF w gojeniu tkanek przyzębia.

Wszystkie cytowane badania oceniające skuteczność i-PRF wykonywane były w modelu split-mouth na grupie pacjentów nie większej niż 26 osób. Badania własne jako pierwsze przeprowadzono w modelu dwóch grup równoległych i na znacznie większej grupie pacjentów. Oczywiście model typu split-mouth ma swoje zalety. Chyba najistotniejszą jest fakt, że każdy pacjent pełni rolę własnej kontroli, w rezultacie usunięta zostaje duża część zmienności międzyosobniczej. W przypadku zastosowania tego modelu miejsca u każdego pacjenta objętego interwencją powinny być jednakowe. Może to stanowić problem w przypadku specjalności stomatologicznych, np jak endodoncja, periodontologia czy stomatologia zachowawcza, gdzie bardzo często występują klinicznie istotne różnice pomiędzy stronami uzębienia. Ponadto w przypadku stosowania preparatów dokieszonkowo należy mieć na uwadze fakt, że mamy do czynienia z ciągłą produkcją płynu, który następnie

przedostaje się do jamy ustnej. Nie możemy więc mieć pewności, że preparat podany w jednym miejscu w pewnym stopniu nie oddziałuje też innym.

Warto zauważyć, że tylko w jednej z przedstawionych pracy zdecydowano się na oznaczenie parametrów biochemicznych (IL-10, VEGF, TNF- $\alpha$ ). Ich stężenia w GCF potwierdziły przejście stanu zapalenia w stan gojenia. Badania własne jako pierwsze oceniają również poziom MMP-8, jako wskaźnika efektywności leczenia zapalenia przyzębia po użyciu i-PRF. Parametry biochemiczne mogą być pomocne w identyfikowaniu jednostek chorobowych a także skali ich zaawansowania. Jednym z najbardziej specyficznych dla zapalenia przyzębia jest MMP-8.

Rai i wsp. (114) w badaniu śliny 53 pacjentów oznaczając poziom MMP-8 stwierdzili, że może on być biomarkerem wczesnego etapu zapaleń w przyzębiu. Poziom MMP-8 u pacjentów zdrowych wynosił  $95,2 \pm 70,2$  ng/ml, podczas gdy u chorych  $428,6 \pm 332,4$  ng/ml. Podobnie Gursoy i wsp. (115) oznaczając stężenie MMP-8 w ślinie 230 pacjentów, potwierdzili użyteczność tej metody przy oznaczaniu ryzyka utraty kości wyrostka zębodołowego. U zdrowych pacjentów poziom MMP-8 wynosił  $318,5 \pm 2,039$  ng/ml, a u pacjentów z chorobą przyzębia  $770,8 \pm 2,537$  ng/ml. Gupta i wsp. (116) również badali poziom MMP-8 w ślinie u pacjentów cierpiących na zapalenie przyzębia. Poziom MMP-8 u pacjentów zdrowych wynosił  $190,91 \pm 143,89$ , a u pacjentów ze zmianami w przyzębiu  $348,76 \pm 202,1$ . Redukcję poziomu MMP-8 w ślinie po zabiegu SRP odnotowali również Nardi i wsp. (117). W grupie pacjentów, u których wykonano SRP średni poziom MMP-8 przed zabiegiem wyniósł  $82,26 \pm 54,41$  ng/ml. W badaniu kontrolnym po 3 miesiącach został zredukowany do  $32,33 \pm 27,76$  ng/ml. Powyższe badania ukazują, że poziom MMP-8 jest wyraźnie podwyższony u pacjentów z zapaleniem przyzębia, a oznaczenie poziomu tego enzymu może pomóc w rozpoznaniu zaawansowania procesu zapalnego w przyzębiu (114, 115, 116). Jednak oznaczanie go w ślinie świadczyć może o procesie uogólnionym. Nie możemy wykluczyć wpływu chorób ogólnoustrojowych na skład śliny, a co za tym idzie na wyniki diagnostyki periodontologicznej (29). Jeżeli marker ten trzeba wykorzystać do monitorowania miejscowego procesu zapalnego, należy oznaczać poziom MMP-8 w płynie szczeliny dziąsłowej (GCF).

Arias-Bujada i wsp. (28) w metaanalizie biomarkerów molekularnych w GCF opisali MMP-8 jako przewidywalną metodę monitorowania zmian zapalnych w przyzębiu. Czulość tego parametru mieściła się na poziomie 76,7%, a swoistość na poziomie 92%. Autorzy uznali go za najbardziej użyteczny klinicznie i skuteczny parametr w diagnostyce przyzębia u osób ogólnie zdrowych, niezależnie od tego czy pacjenci są palaczami tytoniu. Zmniejszenie

poziomu MMP-8 świadczy o redukcji stanu zapalnego w tkankach przyzębia i zahamowaniu destrukcji macierzy pozakomórkowej (30). Ten artykuł przeglądowy potwierdza zasadność oznaczenia MMP-8 w badaniu GCF, co również potwierdzają wyniki oznaczeń w badaniach własnych. Przed zabiegiem u pacjentów w obu grupach poziom MMP-8 w GCF był wyższy. W grupie badanej wynosił  $23,53 \pm 20,95$  ng/ml, a w kontrolnej  $27,74 \pm 21,21$  ng/ml. Po 3 miesiącach uzyskano wyniki odpowiednio na poziomie  $9,45 \pm 17,07$  ng/ml oraz  $9,118 \pm 9,72$  ng/ml. Spadek parametru w obu grupach był istotny statystycznie, natomiast nie wykazana została istotna statystycznie różnica między grupami. Mäntylä (118) w badaniu dotyczącym oznaczania poziomu MMP-8 w GCF testem immunofluorometrycznym do zastosowania w gabinecie (chair-side), oznaczyła u osób zdrowych MMP-8 na poziomie  $100 \pm 65$  ng/ml, u osób z zapaleniem dziąseł  $470 \pm 395$  ng/ml, a u chorych na zapalenie przyzębia  $1850 \pm 1735$  ng/ml. W grupie chorych z *periodontitis* w badaniu kontrolnym po SRP powtórzono test, poziom kolagenazy spadł do  $970 \pm 875$  ng/ml. Podobnie parametry kliniczne PD i CAL u pacjentów z zapaleniem przyzębia uległy zmniejszeniu kolejno z  $6,9 \pm 1,0$  mm i  $6,1 \pm 2,8$  mm do  $4,0 \pm 1,9$  mm i  $4,8 \pm 2,6$  mm. W kolejnym swoim badaniu autorzy (117) porównując poziom MMP-8 w GCF u pacjentów palących i niepalących przed SRP oraz po terapii stwierdzili istotny spadek poziomu MMP-8 tylko w grupie osób niepalących. Tu poziom enzymu zmalał z  $3997 \pm 3126$  ng/ml do  $2076 \pm 2140$  ng/ml ( $p < 0,000$ ). W grupie palaczy poziomy MMP-8 były większe przed i po zabiegu w stosunku do grupy osób niepalących. Redukcja wynosiła z  $1268 \pm 2126$  ng/ml do  $975 \pm 1171$  ng/ml i nie stwierdzono tu istotności statystycznej (119). Literatura nie dostarcza nam zbyt wielu informacji na temat zmian w poziomie MMP-8 po zastosowaniu PRF. Według naszej wiedzy nie ma doniesień naukowych oceniających MMP-8 po niechirurgicznym leczeniu przyzębia w połączeniu z PRF. Eren i wsp. (120) dokonali oceny poziomu MMP-8, TIMP-1 (inhibitor tkankowy metaloproteazyn-1) i IL-1 $\beta$  w płynie szczeliny dziąsłowej po zabiegu pokrycia pojedynczych recesji. W grupie badanej zastosowano PRF, natomiast w kontrolnej CTG. W badaniu po 10 dniach poziom MMP-8 był znacząco niższy w grupie pacjentów, u których zastosowano PRF w porównaniu z grupą kontrolną ( $p < 0,05$ ). W badaniu po 1, 3 i 6 miesiącach nie stwierdzono różnic statystycznych pomiędzy grupami. Zaprezentowane wyniki ukazały, że PRF mogą promować wczesne gojenie przez zwiększanie poziomu TIMP-1 i redukcję poziomu MMP-8 i IL-1 $\beta$ . Tendencja zmian poziomu MMP-8 w cytowanych badaniach jest podobna do odnotowanej w badaniach własnych. Analiza ukazała istotną statystycznie redukcję poziomu enzymu w obu grupach i choć liczbowo spadek ten był większy w grupie badanej, w której zastosowano

PRF (z  $23,53 \pm 20,95$  do  $4,05 \pm 5,00$ ), to w porównaniu do grupy kontrolnej (z  $27,74 \pm 21,21$  do  $10,85 \pm 16,01$ ) różnice te nie osiągnęły znamienności statystycznej.

Patogeny przyzębia wywołują odpowiedź immunologiczną gospodarza, która powoduje niszczenie przyzębia poprzez promowanie uwalniania różnych mediatorów stanu zapalnego i cytokin w tkankach przyzębia. Sprawne rozpoczęcie fazy regeneracji po ustąpieniu fazy prozapalnej jest kluczowe dla ograniczenia uszkodzenia tkanek, a jej rozregulowanie może uniemożliwić naprawę struktur przyzębia (94). Gojenie tkanek przyzębia po leczeniu periodontologicznym zależy od rekrutacji wymaganych typów komórek i obecności odpowiednich mediatorów niezbędnych do stymulacji komórek naprawczych. Pierwsze dwa tygodnie są czasem krytycznym dla gojenia nabłonka (121). Czynniki wzrostu i liczne mediatory uwalniane z sieci fibrynowej PRF przyczyniają się do procesu gojenia w przyzębiu poprzez regulację głównych szlaków syntezy kolagenu i naprawy tkanek (122). Wyniki uzyskane przez Gizem Torumtay Cin i wsp. (94) potwierdziły korzystny wpływ i-PRF na procesy gojenia w przyzębiu. Podanie i-PRF zwiększyło poziom VEGF i IL-10 oraz spowodowało obniżenie poziomu TNF- $\alpha$  w GCF, co przełożyło się na ograniczenie procesu zapalnego i indukowanie fazy naprawy w tkankach. Doniesienia naukowe potwierdzają wpływ PRF na stymulację angiogenezy, proliferacji, migracji, adhezji i różnicowania wielu komórek, a także aktywację sygnalizacji komórkowej. Co więcej potwierdzono zdolność PRF do ograniczania zapalenia, supresji osteoklastogenezy i zwiększenia ekspresji wielu czynników wzrostu w komórkach mezenchymalnych (56,123). Prace opublikowane w ostatnim czasie udokumentowały także wpływ i-PRF na polaryzację makrofagów z fenotypu pro-zapalnego M1 do fenotypu przeciw-zapalnego M2, a co za tym idzie potwierdziły zdolność i-PRF do ograniczania stanu zapalnego nie tylko w szlaku cytokinowym (124).

W literaturze pojawiły się także doniesienia o działaniu przeciwbakteryjnym i-PRF. Pham i wsp. (125) w badaniu *in vitro* na próbkach pobranych od 60 pacjentów (20 pacjentów zdrowych, 20 z zapaleniem dziąseł i 20 z zapaleniem przyzębia) wykazali zdolność A-PRF+ i i-PRF do inhibicji tworzenia biofilmu. Badanie prowadzone było przez 48h i cały czas wykazywało aktywność preparatów bogatopłytkowych. Badania wykazały, że najbardziej skuteczny przeciw bakteriom *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* był i-PRF pobrany od osób z zapaleniem przyzębia (125). Następnie ci sami autorzy zastosowali ten sam model badań, by sprawdzić działanie preparatów bogatopłytkowych w stosunku do *Porphyromonas gingivalis* (126). Tu również i-PRF wykazało się największą aktywnością przeciwbakteryjną.

Kour i wsp. (127) porównywali działanie przeciwbakteryjne trzech koncentratów bogatopłytkowych: PRP, PRF i i-PRF. Wyniki badań ukazały, że i-PRF wykazywał największą strefę inhibicji w stosunku do *P.g.*, natomiast PRP w stosunku do *A.a.*

### Ograniczenia

Niewątpliwym ograniczeniem badań własnych jest wielkość badanej grupy. Zasadne byłoby przeprowadzenie podobnego badania na znacznie większej liczbie pacjentów, jednak z powodu ograniczeń finansowych, jak i czasowych nie było to możliwe. Pierwotne plany zakładały również zbadanie materiału biologicznego w kontekście zmian innych biomarkerów zapalenia w przyzębiu, aczkolwiek możliwości finansowe i organizacyjne były ograniczone. Warte rozważenia byłoby również rozszerzenie badań o grupę pacjentów palących. Problem palenia wśród pacjentów z zapaleniem przyzębia jest dość powszechny, a my klinicyści wciąż nie jesteśmy w stanie w efektywny sposób nakłonić naszych pacjentów do rzucenia nałogu. Mając na uwadze wpływ palenia na stan przyzębia i zaburzenia gojenia, zasadne wydaje się być poszukiwanie sposobów na skuteczne ograniczanie jego skutków. Dodatkowym aspektem jest brak placebo w badaniu – pacjenci świadomi bycia w grupie kontrolnej mogli czuć mniejszą dyscyplinę, a tym samym być mniej zmotywowani do postępowania zgodnie z zaleceniami w zakresie utrzymania idealnej higieny jamy ustnej. Potencjalnie jest to wytłumaczeniem istotnych statystycznie różnic w wartościach FM PI pomiędzy grupami. Skuteczne zastosowanie placebo wymagałoby pobrania krwi od każdego pacjenta z grupy kontrolnej. Ze względu na to, że pobrany materiał należałoby zutylizować, narażając pacjenta na postępowanie nie dające korzyści od takiej procedury odstąpiono.

## Wnioski

1. Zabieg usunięcia kamienia z wygładzeniem powierzchni korzeni wpływa korzystnie na status periodontologiczny pacjentów z zapaleniem przyzębia.
2. Zastosowanie i-PRF po zabiegach usunięcia kamienia z wygładzeniem powierzchni korzeni może prowadzić do dodatkowej poprawy periodontologicznych parametrów klinicznych.
3. Zabieg usunięcia kamienia z wygładzeniem powierzchni korzeni wpływa na redukcję poziomu metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 8 w płynie kieszonki pacjentów z zapaleniem przyzębia.
4. Dodatkowe zastosowanie i-PRF po zabiegach usunięcia kamienia z wygładzeniem powierzchni korzeni nie powoduje dodatkowej redukcji poziomu metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 8 w płynie kieszonki pacjentów z zapaleniem przyzębia.

## Piśmiennictwo

1. Górńska R, Konopka T. Periodontologia współczesna. Wydanie: I. Med Tour Press; 2013. s. 15-39;55-272
2. Wolf HF, Rateitschak EM i KH: Periodontologia. Lublin 2012. s. 1-5
3. Lang, N. P., & Bartold, P. M. (2018). Periodontal health. In *Journal of periodontology* (Vol. 89, pp. S9–S16). NLM (Medline) <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0517>
4. Baehni P, Tonetti MS; Group 1 of the European Workshop on Periodontology. Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: a call for action--consensus view 1. Consensus report of the 1st European Workshop on Periodontal Education. *Eur J Dent Educ*. 2010 May;14 Suppl 1:2-3. doi: 10.1111/j.1600-0579.2010.00619.x. PMID: 20415971.
5. Bartold PM. Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. *Unlearning learned concepts.Peri-odontol 2000*. 2013;62:203–217.
6. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque –induced gingival conditions.*J Periodontol*. 2018;89(Suppl 1):S17–S27.
7. Abdulkareem AA, Al-Taweel FB, Al-Sharqi AJB, Gul SS, Sha A, Chapple ILC. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis to dysbiosis. *J Oral Microbiol*. 2023 Apr 2;15(1):2197779. doi: 10.1080/20002297.2023.2197779. PMID: 37025387; PMCID: PMC10071981.
8. Wolff LF, Aeppli DM, Pihlstrom B, Anderson L, Stoltenberg J, Osborn L, Hardie N, Shelburne C, Fischer G.: Natural distribution of 5 bacteria associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 699-706.
9. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent JR, Socransky SS.: Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and Periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 346-353.
10. Torresyap G, Haffajee AD, Uzel NG, Socransky SS.: Relationship between periodontal pocket sulfide levels and subgingival species. *J Clin Periodontol* 2003;30:1003-1010.
11. Socransky SS, Haffajee AD.: Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* 2005; 38: 135-187.
12. van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U.: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal



- pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol*. 2002; 29: 1023-1208.
13. Dosseva-Panova VT, Popova CL, Panov VE. Subgingival microbial profile and production of proinflammatory cytokines in chronic periodontitis. *Folia Med (Plovdiv)*. 2014 Jul-Sep;56(3):152-60. doi: 10.2478/folmed-2014-0022. PMID: 25434071
  14. Taylor JJ. Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000*. 2010 Oct;54(1):160-94. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00344.x. PMID: 20712639
  15. Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000*. 2010 Feb;52(1):163-206. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00321.x. PMID: 20017801
  16. Sorsa T, Tervahartiala T, Stenman M, Suomalainen K, Mañntyla P. Chair-side diagnostic point-of-care MMP tools in periodontitis and peri-implantitis. *Nordic Dentistry*. Copenhagen: Quintessence Int, Schou L; 2004. p. 79–95.
  17. Sorsa T, Mantyla P, Ronka H, Kallio P, Kallis GB, Lundqvist C, et al. Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1999;878:130–40.
  18. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer*. 2002 Mar;2(3):161-74. doi: 10.1038/nrc745. PMID: 11990853
  19. Wojtowicz-Praga SM, Dickson RB, Hawkins MJ. Matrix metalloproteinase inhibitors. *Invest New Drugs*. 1997;15(1):61-75. doi: 10.1023/a:1005722729132. PMID: 9195290.
  20. Borkakoti N. Structural studies of matrix metalloproteinases. *J Mol Med (Berl)*. 2000;78(5):261-8. doi: 10.1007/s001090000113. PMID: 10954198.
  21. A. Wawrzycka- Kaflik, M. Pełka, G. Broniarczyk- Dyla. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowe inhibitory- charakterystyka biochemiczna i znaczenie kliniczne. *Dermatologia Estetyczna*. 9(4), 2007, (209-217)
  22. Löffek S, Schilling O, Franzke CW. Series "matrix metalloproteinases in lung health and disease": Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. *Eur*

- Respir J. 2011 Jul;38(1):191-208. doi: 10.1183/09031936.00146510. Epub 2010 Dec 22. PMID: 21177845
23. Fanjul-Fernández M, Folgueras AR, Cabrera S, López-Otín C. Matrix metalloproteinases: evolution, gene regulation and functional analysis in mouse models. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Jan;1803(1):3-19. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.07.004. Epub 2009 Jul 23. PMID: 19631700
24. Tallant C, Marrero A, Gomis-Rüth FX. Matrix metalloproteinases: fold and function of their catalytic domains. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Jan;1803(1):20-8. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.04.003. Epub 2009 Apr 15. PMID: 19374923
25. Ye S. Putative targeting of matrix metalloproteinase-8 in atherosclerosis. *Pharmacol Ther*. 2015 Mar;147:111-22. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.007. Epub 2014 Nov 14. PMID: 25448039.
26. Luchian I, Goriuc A, Sandu D, Covasa M. The Role of Matrix Metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in Periodontal and Peri-Implant Pathological Processes. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 4;23(3):1806. doi: 10.3390/ijms23031806. PMID: 35163727; PMCID: PMC8837018
27. Zalewska, E.A.; Ławicka, R.; Grygorczuk, P.; Nowosielska, M.; Kicman, A.; Ławicki, S. Importance of Metalloproteinase 8 (MMP-8) in the Diagnosis of Periodontitis. *Int. J. Mol.Sci*. 2024, 25, 2721. <https://doi.org/10.3390/ijms25052721>
28. Arias-Bujanda, N., Regueira-Iglesias, A., Balsa-Castro, C., Nibali, L., Donos, N., & Tomás, I. (2019). Accuracy of single molecular biomarkers in gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. In *Journal of Clinical Periodontology* (Vol. 46, Issue 12, pp. 1166–1182). Blackwell Munksgaard. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13188>
29. Arias-Bujanda, N., Regueira-Iglesias, A., Balsa-Castro, C., Nibali, L., Donos, N., & Tomás, I. (2020). Accuracy of single molecular biomarkers in saliva for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. In *Journal of Clinical Periodontology* (Vol. 47, Issue 1, pp. 2–18). Blackwell Munksgaard. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13202>
30. Chen H.Y., Cox S.W., Eley B.M., Mäntylä P., Rönkä H., Sorsa T.: Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 366-369

31. Cole A.A., Chubinskaya S., Schumacher B., Huch K., Cs-Szabo G., Yao J., Mikecz K., Hasty K.A., Kuettner K.: Chondrocyte matrix metalloproteinase-8. *The Journal of Biological Chemistry* 1996; 271 (18); 3: 11023-11026
32. Kiili M., Cox S.W., Chen H.W., Wahlgren J., Maisi P., Eley B.M., Salo T., Sorsa T.: Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 224-23
33. Luo KW, Wei Chen, Lung WY, Wei XY, Cheng BH, Cai ZM, Huang WR. EGCG inhibited bladder cancer SW780 cell proliferation and migration both in vitro and in vivo via down-regulation of NF- $\kappa$ B and MMP-9. *J Nutr Biochem.* 2017 Mar;41:56-64. doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.12.004. Epub 2016 Dec 20. Erratum in: *J Nutr Biochem.* 2024 Jan;123:109530. PMID: 28040581.
34. Golub L.M., Lee H.M., Greenwald R.A., Ryan M.E., Sorsa T., Salo T., Giannobile W.V.: A matrix metalloproteinase inhibitor reduces bone-type collagen degradation fragments and specific collagenases in gingival crevicular fluid during adult periodontitis. *Inflamm Res* 1997; 46: 310-319
35. Ingman T., Sorsa T., Michaelis J., Konttinen Y.T.: Immunohistochemical study of neutrophil- and fibroblast-type collagenase and stromelysin-1 in adult periodontitis. *Scand J Dent Res* 1994; 102: 342-9
36. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, Rayburn LA, Tran HM, Singh AK, Giannobile WV. Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J Periodontol.* 2009 Mar;80(3):436-46. doi: 10.1902/jop.2009.080480. PMID: 19254128; PMCID: PMC5695217.
37. Charles, K.; Honibald, E.; Reddy, N.; Palani, A.; Ramamurthy, R.; Sankaralingam, T. Role of Matrix Metalloproteinases (MMPS) in Periodontitis and Its Management. *J. Indian Acad. Dent. Spec. Res.* 2014, 1, 65–69.
38. Carra MC, Detzen L, Kitzmann J, Woelber JP, Ramseier CA, Bouchard P. Promoting behavioural changes to improve oral hygiene in patients with periodontal diseases: A systematic review. *J Clin Periodontol.* 2020 Jul;47 Suppl 22:72-89. doi: 10.1111/jcpe.13234. PMID: 31912530
39. Ramseier CA, Woelber JP, Kitzmann J, Detzen L, Carra MC, Bouchard P. Impact of risk factor control interventions for smoking cessation and promotion of healthy

- lifestyles in patients with periodontitis: A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22:90-106. doi: 10.1111/jcpe.13240. PMID: 31912512
40. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T, Sculean A, Tonetti MS; EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22(Suppl 22):4-60. doi: 10.1111/jcpe.13290. Erratum in: *J Clin Periodontol*. 2021 Jan;48(1):163. PMID: 32383274; PMCID: PMC7891343
  41. Suvan, J., Leira, Y., Moreno Sancho, F. M., Graziani, F., Derks, J., & Tomasi, C. (2020). Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. In *Journal of Clinical Periodontology* (Vol. 47, Issue S22, pp. 155–175). Blackwell Munksgaard. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13245>
  42. Slot DE, Valkenburg C, Van der Weijden GAF. Mechanical plaque removal of periodontal maintenance patients: A systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22:107-124. doi: 10.1111/jcpe.13275. PMID: 32716118.
  43. Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol* 1996;1(1): 443–90
  44. Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol* 2000 2004;36:121-45
  45. Brayer WK, Mellonig JT, Dunlap RM, Marinak KW, Carson RE. Scaling and root planing effectiveness: the effect of root surface access and operator experience. *J Periodontol*. 1989 Jan;60(1):67-72. doi: 10.1902/jop.1989.60.1.67. PMID: 2646421.
  46. Rabbani GM, Ash MM Jr, Caffesse RG. The effectiveness of subgingival scaling and root planing in calculus removal. *J Periodontol*. 1981 Mar;52(3):119-23. doi: 10.1902/jop.1981.52.3.119. PMID: 7014822.
  47. Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky SS, Haffajee AD. Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1984 Aug;11(7):448-58. doi: 10.1111/j.1600-051x.1984.tb01344.x. PMID: 6378986.
  48. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1981 Feb;8(1):57-72. doi: 10.1111/j.1600-051x.1981.tb02024.x. PMID: 6972954.
  49. Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1984 Jan;11(1):63-76. doi: 10.1111/j.1600-051x.1984.tb01309.x. PMID: 6363463

50. Caruana A, Savina D, Macedo JP, Soares SC. From platelet-rich plasma to advanced platelet-rich fibrin: biological achievements and clinical advances in modern surgery. *Eur J Dermatol* 2019;13(2):280–6. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1696585>.
51. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:638–46. [https://doi.org/10.1016/s1079-2104\(98\)90029-4](https://doi.org/10.1016/s1079-2104(98)90029-4)
52. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res* 2006;17:212–9. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2005.01203.x>. [4] Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001;10:225–8. <https://doi.org/10.1097/00008505-200110000-00002>
53. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001;10:225–8. <https://doi.org/10.1097/00008505-200110000-00002>
54. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immun Ageing* 2013;10(1):23. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-10-23>
55. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Corso MD, Dohan DM. Introducing Choukroun’s platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu. *J Implant Adv Clin Dent*. 2009;1(6):22–31.
56. Miron RJ, Gruber R, Farshidfar N, Sculean A, Zhang Y. Ten years of injectable platelet-rich fibrin. *Periodontol* 2000. 2024 Feb;94(1):92-113. doi: 10.1111/prd.12538. Epub 2023 Nov 30. PMID: 38037213.
57. Choukroun, J.; Adda, F.; Schoeffler, C.; Vervelle, A. PRF: An opportunity in peri-implantology (in French). *Implantodontie* 2000,42, 55–62
58. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(3):37–44. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.008>
59. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun’s platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*. 2009;27(1):63–9. doi: 10.1080/08977190802636713

60. Choukroun, Joseph & Adda, F. & Schoeffler, C. & Vervelle, A.. (2001). Une opportunit?? en paro-implantologie: Le PRF. *Implantodontie*. 42. 55-62.
61. Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang BS, Nally M, Lanata N, Wang HL, Quirynen M. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*. 2018 Mar;29(2):171-184. doi: 10.1080/09537104.2017.1293812. Epub 2017 Apr 24. PMID: 28437133.
62. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol*. 2014;40(6):679–89. doi: 10.1563/aaidjoi-D-14-00138
63. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig*. 2016;20(9):2353–60. doi: 10.1007/s00784-016-1719-1
64. Chattopadhyay S, Raines RT. Review collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers*. 2014;101(8):821–33. doi: 10.1002/bip.22486
65. Mourão CF, Valiense H, Melo ER, Mourão NB, Maia MD. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Rev Col Bras Cir*. 2015;42(6):421–3. doi: 10.1590/0100- 69912015006013
66. Chatterjee A, Debnath K. Comparative evaluation of growth factors from platelet concentrates: An in vitro study. *J Indian Soc Periodontol*. 2019 Jul-Aug;23(4):322-328. doi: 10.4103/jisp.jisp\_678\_18. PMID: 31367128; PMCID: PMC6628779.
67. Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Trandafilovic M, Stojanovic P. Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications. *Open Med (Wars)*. 2021 Mar 22;16(1):446-454. doi: 10.1515/med-2021-0259. PMID: 33778163; PMCID: PMC7985567.
68. Mourão CF, Valiense H, Melo ER, Mourão NB, Maia MD. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Rev Col Bras Cir*. 2015;42(6):421–3. doi: 10.1590/0100- 69912015006013
69. Shashank B, Bhushan M. Injectable Platelet-Rich Fibrin (PRF): The newest biomaterial and its use in various dermatological conditions in our practice: A case

- series. *J Cosmet Dermatol*. 2021 May;20(5):1421-1426. doi: 10.1111/jocd.13742. Epub 2020 Oct 12. PMID: 32996229
70. O'Leary, T. J., Drake, R. B., & Naylor, J. E. (1972). The plaque control record. *Journal of Periodontology*, 43, 38. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a28739>
71. Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal*, 25, 229–235.
72. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T, Sculean A, Tonetti MS; EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22(Suppl 22):4-60. doi: 10.1111/jcpe.13290. Erratum in: *J Clin Periodontol*. 2021 Jan;48(1):163. PMID: 32383274; PMCID: PMC7891343.
73. Adriaens PA, Adriaens LM. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000* 2004;36:121–45
74. Apatzidou DA, Kinane DF. Quadrant root planing versus same-day full-mouth root planing. I. Clinical findings. *J Clin Periodontol*. 2004 Feb;31(2):132-40. doi: 10.1111/j.0303-6979.2004.00461.x. PMID: 15016039.
75. Lang NP, Tan WC, Krähenmann MA, Zwahlen M. A systematic review of the effects of full-mouth debridement with and without antiseptics in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8 Suppl):8-21. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01257.x. PMID: 18724838.
76. Graziani F, Cei S, Orlandi M, Gennai S, Gabriele M, Filice N, Nisi M, D'Aiuto F. Acute-phase response following full-mouth versus quadrant non-surgical periodontal treatment: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2015 Sep;42(9):843-852. doi: 10.1111/jcpe.12451. Epub 2015 Oct 1. PMID: 26309133.
77. Tomasi C, Wennström JL. Full-mouth treatment vs. the conventional staged approach for periodontal infection control. *Periodontol 2000*. 2009;51:45-62. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00306.x. PMID: 19878469.
78. Loos B, Kiger R, Egelberg J. An evaluation of basic periodontal therapy using sonic and ultrasonic scalers. *J Clin Periodontol*. 1987 Jan;14(1):29-33. doi: 10.1111/j.1600-051x.1987.tb01509.x. PMID: 3543066.
79. Obeid PR, D'Hoore W, Bercy P. Comparative clinical responses related to the use of various periodontal instrumentation. *J Clin Periodontol*. 2004 Mar;31(3):193-9. doi: 10.1111/j.0303-6979.2004.00467.x. PMID: 15016023.

80. Christgau M, Palitzsch KD, Schmalz G, Kreiner U, Frenzel S. Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):112-24. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02417.x. PMID: 9495610.
81. Kocher T, Gutsche C, Plagmann HC. Instrumentation of furcation with modified sonic scaler inserts: study on manikins, part I. *J Clin Periodontol*. 1998 May;25(5):388-93. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02460.x. PMID: 9650875.
82. Beuchat M, Busslinger A, Schmidlin PR, Michel B, Lehmann B, Lutz F. Clinical comparison of the effectiveness of novel sonic instruments and curettes for periodontal debridement after 2 months. *J Clin Periodontol*. 2001 Dec;28(12):1145-50. doi: 10.1034/j.1600-051x.2001.281209.x. PMID: 11737512.
83. Ritz L et al An in vitro investigation on the loss of root substance in scaling with various instruments. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 643–647.
84. Acunzo R, Gorbunkova A, Rezzolla M, Bellucci G, Rasperini G. Short-term effect of regular vs mini curettes on periodontal tissue according to phenotype: a randomized control clinical trial. *Int J Esthet Dent*. 2021 Aug 17;16(3):364-374. PMID: 34319670.
85. Ioannou I, Dimitriadis N, Papadimitriou K, Sakellari D, Vouros I, Konstantinidis A. Hand instrumentation versus ultrasonic debridement in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial. *J Clin Periodontol*. 2009 Feb;36(2):132-41. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01347.x. PMID: 19207889.
86. Fonseca, D. C., Cortelli, J. R., Cortelli, S. C., Miranda Cota, L. O., Machado Costa, L. C., Moreira Castro, M. V., Costa, F. O. (2015). Clinical and microbiologic evaluation of scaling and root planing per quadrant and one-stage full-mouth disinfection associated with azithromycin or chlorhexidine: A clinical randomized controlled trial. *Journal of Periodontology*, 86(12), 1340–1351. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150227>
87. Petelin M, Perkič K, Seme K, Gašpirc B. Effect of repeated adjunctive antimicrobial photodynamic therapy on subgingival periodontal pathogens in the treatment of chronic periodontitis. *Lasers Med Sci*. 2015 Aug;30(6):1647-56. doi: 10.1007/s10103-014-1632-2. Epub 2014 Jul 24. PMID: 25056413.
88. Swierkot, K., Nonnenmacher, C. I., Mutters, R., Flores-de-Jacoby, L., & Mengel, R. (2009). One-stage full-mouth disinfection versus quadrant and full-mouth root



- planing. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(3), 240–249. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01368.x>
89. Shahram Ghanaati, Carlos Herrera-Vizcaino, Sarah Al-Maawi, Jonas Lorenz, Richard J Miron, Katja Nelson, Frank Schwarz, Joseph Choukroun, Robert Sader; Fifteen Years of Platelet Rich Fibrin in Dentistry and Oromaxillofacial Surgery: How High is the Level of Scientific Evidence?. *J Oral Implantol* 1 December 2018; 44 (6): 471–492. doi: <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-17-00179>
  90. Ozsagir ZB, Saglam E, Sen Yilmaz B, Choukroun J, Tunali M. Injectable platelet-rich fibrin and microneedling for gingival augmentation in thin periodontal phenotype: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2020;47(4):489–99.
  91. Izol BS, Üner DD. A new approach for root surface biomodification using injectable platelet-rich fibrin (I-PRF). *Med Sci Monit*. 2019;25:4744-4750.
  92. Ucak Turer O, Ozcan M, Alkaya B, Surmeli S, Seydaoglu G, Haytac MC. Clinical evaluation of injectable platelet-rich fibrin with connective tissue graft for the treatment of deep gingival recession defects: a controlled randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2020;47:72-80
  93. Sharma A, Pradeep AR. Treatment of 3-wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet-rich fibrin: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2011 Dec;82(12):1705-12. doi: 10.1902/jop.2011.110075. Epub 2011 Apr 5. PMID: 21513477.
  94. Torumtay Cin, G., Lektetur Alpan, A., & Çevik, Ö. (2024). Efficacy of injectable platelet-rich fibrin on clinical and biochemical parameters in non-surgical periodontal treatment: a split-mouth randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 28(1). <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05447-8>
  95. Vučković, M., Nikolić, N., Milašin, J., Đorđević, V., Milinković, I., Asotić, J., Jezdić, Z., Janković, S., & Aleksić, Z. (2020). The effect of injectable platelet-rich fibrin use in the initial treatment of chronic periodontitis. *Srpski Arhiv Za Celokupno Lekarstvo*, 148(5–6), 280–285. <https://doi.org/10.2298/SARH190925022V>
  96. Albonni H, El Abdelah AAAD, Al Hamwi MOMS, Al Hamoui WB, Sawaf H. Clinical effectiveness of a topical subgingival application of injectable platelet-rich fibrin as adjunctive therapy to scaling and root planing: a double-blind, split-mouth, randomized, prospective, comparative controlled trial. *Quintessence Int*. 2021 Jul 20;52(8):676-685. doi: 10.3290/j.qi.b1492019. PMID: 34076375.

97. Tomasi C, Leyland AH, Wennström JL. Factors influencing the outcome of non-surgical periodontal treatment: a multilevel approach. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 682–690. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01111.
98. Tomasi C, Abrahamsson KH, Apatzidou D. Subgingival instrumentation. *Periodontol* 2000. 2023 May 10. doi: 10.1111/prd.12485. Epub ahead of print. PMID: 37162295.
99. Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, et al. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol*. 2008;35(8):685-695.
100. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000 2013; 62: 59–94.
101. Johnson GK, Guthmiller JM. The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol* 2000 2007; 44: 178–194.
102. Labriola A, Needleman I, Moles DR. Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol* 2000 2005; 37: 124–137.
103. Heasman L, Stacey F, Preshaw PM, McCracken GI, Hepburn S, Heasman PA. The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 241–253.
104. Patel RA, Wilson RF, Palmer RM. The effect of smoking on periodontal bone regeneration: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2012; 83: 143–155.
105. Shunmuga, P. D., Tadepalli, A., Parthasarathy, H., Ponnaiyan, D., Cholan, P. k, & Ramachandran, L. (2023). Clinical evaluation of the combined efficacy of injectable platelet-rich fibrin along with scaling and root planing in the non-surgical periodontal therapy of stage III and grade C periodontitis patients having type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Clinical Advances in Periodontics*. <https://doi.org/10.1002/cap.10266>
106. Salvi GE, Yalda B, Collins JG, Jones BH, Smith FW, Arnold RR, Offenbacher S. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus populations. *J Periodontol* 1997; 68: 127–135.
107. Bagdade JD, Stewart M, Walters E. Impaired granulocyte adherence. A reversible defect in host defense in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes* 1978; 27: 677–681.

108. Marhoffer W, Stein M, Maeser E, Federlin K. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetes. *Diabetes Care* 1992; 15: 256–260.
109. Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. Receptor for AGE (RAGE) and its ligands cast into leading roles in diabetes and the inflammatory response. *J Mol Med* 2009; 87: 235–247.
110. Takeda M, Ojima M, Yoshioka H, Inaba H, Kogo M, Shizukuishi S, Nomura M, Amano A. Relationship of serum advanced glycation end products with deterioration of periodontitis in type 2 diabetes patients. *J Periodontol* 2006; 77: 15–20.
111. Narendran N, Anegundi RV, Shenoy SB, Chandran T. Autologous platelet-rich fibrin as an adjunct to non-surgical periodontal therapy-A follow up clinical pilot study. *Wound Repair Regen.* 2022 Jan;30(1):140-145. doi: 10.1111/wrr.12979. Epub 2021 Oct 22. PMID: 34687113.
112. Parwani, S.R.; Thakare, K.S.; Kawadkar, K.P.; Soni, N.J.; Parwani, R.; Dadlani, H.; Chaudhary, D.S.;Pahuja, D.; Spagnuolo, G.; Armogida,N.G. Platelet-Rich Fibrin in Non-Surgical Periodontal Therapy: A Split-Mouth Randomized Controlled Clinical Trial. *Dent. J.* 2024,12, 135. <https://doi.org/10.3390/dj12050135>
113. Al-Rihaymee S, Sh Mahmood M. The efficacy of non-surgical platelet-rich fibrin application on clinical periodontal parameters and periostin level in periodontitis: Clinical trial. *J Cell Mol Med.* 2023 Feb;27(4):529-537. doi: 10.1111/jcmm.17675. Epub 2023 Jan 23. PMID: 36691719; PMCID: PMC9930425.
114. Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci.* 2008 Mar;50(1):53-6. doi: 10.2334/josnusd.50.53. PMID: 18403884.
115. Gursoy UK, Könönen E, Huumonen S, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen AL, Sorsa T. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2013 Jan;40(1):18-25. doi: 10.1111/jcpe.12020. Epub 2012 Oct 19. PMID: 23078613.
116. Gupta N, Gupta ND, Gupta A, Khan S, Bansal N. Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Front Med.* 2015 Mar;9(1):72-6. doi: 10.1007/s11684-014-0347-x. Epub 2014 Aug 6. PMID: 25098434.

117. Nardi, G. M., Cesarano, F., Papa, G., Chiavistelli, L., Ardan, R., Jedlinski, M., Mazur, M., Grassi, R., & Grassi, F. R. (2020). Evaluation of salivary matrix metalloproteinase (MMP-8) in periodontal patients undergoing non-surgical periodontal therapy and mouthwash based on ozonated olive oil: A randomized clinical trial. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijerph17186619>
118. Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, Sorsa T. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodont Res*. 2003 Aug;38(4):436-9. doi: 10.1034/j.1600-0765.2003.00677.x. PMID: 12828663.
119. Mäntylä P, Stenman M, Kinane D, Salo T, Suomalainen K, Tikanoja S, Sorsa T. Monitoring periodontal disease status in smokers and nonsmokers using a gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8-specific chair-side test. *J Periodont Res*. 2006 Dec;41(6):503-12. doi: 10.1111/j.1600-0765.2006.00897.x. PMID: 17076774.
120. Eren G, Tervahartiala T, Sorsa T, Atilla G. Cytokine (interleukin-1beta) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *J Periodont Res* 2016; 51: 481–488.
121. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjo UM (2006) Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol* 2000 41:30–47. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00157.x>
122. Mohan SP, Jaishangar N, Devy S, Narayanan A, Cherian D, Madhavan SS (2019) Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in periodontal regeneration: a review. *J Pharm Bioallied Sci* 11:S126–S130. [https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS\\_41\\_19](https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_41_19)
123. Strauss FJ, Nasirzade J, Kargarpour Z, Stahli A, Gruber R. Effect of platelet-rich fibrin on cell proliferation, migration, differentiation, inflammation, and osteoclastogenesis: a systematic review of in vitro studies. *Clin Oral Investig*. 2020;24:569-584
124. Nasirzade J, Kargarpour Z, Hasannia S, Strauss FJ, Gruber R. Platelet-rich fibrin elicits an anti-inflammatory response in macrophages in vitro. *J Periodontol*. 2020;91:244-252.
125. Pham TAV, Tran TTP. Antimicrobial effect against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* of advanced and injectable platelet-rich fibrin from patients

with periodontal diseases versus periodontally healthy subjects. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2023 Mar-Apr;13(2):332-336. doi: 10.1016/j.jobcr.2023.02.011. Epub 2023 Mar 7. PMID: 36937558; PMCID: PMC10018549.

126. Pham TAV. Comparison of Antimicrobial Activity against *Porphyromonas gingivalis* between Advanced Platelet-Rich Fibrin and Injectable Platelet-Rich Fibrin. *Int J Biomater.* 2023 Mar 27;2023:9194868. doi: 10.1155/2023/9194868. PMID: 37021086; PMCID: PMC10070028.

127. Kour P, Pudukalkatti PS, Vas AM, Das S, Padmanabhan S. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and injectable platelet-rich fibrin on the standard strains of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Contemp Clin Dent* 2018;9:S325-30.

## Załączniki

**KOMISJA BIOETYCZNA  
PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM W BIAŁYMSTOKU**  
ul. Jana Kilińskiego 1  
15-089 Białystok  
tel. 85 748 54 07  
komisjabioetyczna@umb.edu.pl

---

Białystok, 17.02.2022 r.

Uchwała nr: APK.002.122.2022

Na podstawie art. 29 ust. 2 i 14 ustawy dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (t.j. Dz. U z 2020, poz. 514 ze zm.), Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku, po zapoznaniu się z projektem badania zgodnie z zasadami GCP/ Guidelines for Good Clinical Practice /- **w y r a ż a z g o d ę** na prowadzenie tematu badawczego: „Ocena wpływu PRF na stan kliniczny przyzębia oraz stężenia wybranych parametrów gojenia w GCF pacjentów z zapaleniem przyzębia” przez dr hab. Annę Skurską wraz z zespołem badawczym z UMB.

Planowany okres realizacji od 17.02.2022 r. do III.2023 r.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej przy UMB

prof. dr hab. Otylia Kowal-Bielecka

*Pouczenie:*

1. Odwołanie od uchwały komisji bioetycznej wyrażającej opinię może wnieść:

1) wnioskodawca;

2) kierownik podmiotu, w którym eksperyment medyczny ma być przeprowadzony;

3) komisja bioetyczna właściwa dla ośrodka, który ma uczestniczyć w wieloośrodkowym eksperymencie medycznym.

2. Odwołanie, o którym mowa w ust. 1, wnosi się za pośrednictwem komisji bioetycznej, która podjęła uchwałę, do Odwoławczej Komisji Bioetycznej w terminie 14 dni od dnia doręczenia uchwały wyrażającej opinię.

Załącznik 1. Zgoda komisji Bioetycznej