

UŚOU 26.10.2022

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE
zastępca przewodniczącego
M. Podhorska-Okołów
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów



Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpl. dnia	25-10-2022
L. dz. RN-BM/	1785

Szczecin, 25 października 2022r.

Dr hab. n. med. Elżbieta Dembowska

Zakład Periodontologii

Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. dent. Barbary Sterczała

pt.: „Ocena skuteczności wybranych metod stymulowania proliferacji fibroblastów dziąsłowych i ich zastosowania w augmentacji dziąsła zrogowaciałego”

Warunkiem prawidłowego funkcjonowania kompleksu śluzówkowo-dziąsłowego są właściwa szerokość i grubość dziąsła zrogowaciałego. Umożliwiają one prawidłowe oczyszczanie zębów z płytki nazębnej oraz stanowią zabezpieczenie przed utratą tkanek brzeżnych przyzębia a także zapobiegają powstaniu recesji dziąsłowych.

Czynniki anatomiczne, wpływające na utratę tkanek miękkich można podzielić na dziąsłowe, kostne i zębowe. Przede wszystkim to cienki fenotyp dziąsłowy jest przyczyną dowierzchołkowej utraty tkanek miękkich i powstawania recesji dziąsłowych.

W ostatnich latach pojawiło się szereg udoskonalonych technik zabiegów chirurgicznych, poprawiających zarówno grubość fenotypu jak i poszerzenie dziąsła zębodołowego. W związku powyższym uważam, że wybór tematu rozprawy jest trafny, badania są celowe i niezmiernie przydatne klinicznie.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska lek. dent. Barbary Sterczała, opracowana pod kierunkiem Promotor Profesor dr hab. n. med. Marzeny Dominiak, stanowi cykl czterech

publikacji pełnotekstowych, pierwsza praca jest kazuistyczna a pozostałe trzy oryginalne, napisane w języku angielskim, opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych, znajdujących się na Liście Filadelfijskiej. Łączna wartość współczynnika oddziaływania (Impact Factor-IF) dla cyklu wymienionych prac wynosi **10,266**.

Wspomniane publikacje uzyskały 250 punktów według wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych ogłoszonego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW). We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem, co potwierdza jej główny udział w przeprowadzeniu badań i przygotowaniu publikacji.

Dysertacja została opracowana na podstawie 4 następujących artykułów, tematycznie spójnych:

1. Augmentacja dziąsła i leczenie recesji mnogich w żuchwie z zastosowaniem hodowli pierwotnej fibroblastów. Opis przypadku. Barbara Sterczała, Jolanta Saczko, Marzena Dominiak. Mag. Stomatol. 2017, 10, s.70-74.
2. The effect of dental gel formulation on human primary fibroblasts- an in vitro study. Barbara Sterczała, Julita Kulbacka, Jolanta Saczko, Marzena Dominiak. Folia Histochem. Cytobiol. 2020, 58, s. 156-161. IF=1,698.
3. Assessment of human gingival fibroblast proliferation after laser stimulation in vitro using different laser types and wavelengths (1064, 980, 635, 450 and 405nm) – preliminary report. Barbara Sterczała, Kinga Grzech-Leśniak, Olga Michel, Witold Trzeciakowski, Marzena Dominiak, Kamil Jurczyszyn. J. Pers. Med. 2021, Vol.11, no.2, art.98. IF= 4,945.
4. Impact of A-PRF+combination with autogenous fibroblasts on the release growth factors, collagen and proliferation and migration of gingival fibroblasts on in vitro study. Barbara Sterczała, Agnieszka Chwiłkowska, Urszula Szwedowicz, Magdalena Kobielarz, Bartłomiej Chwiłkowski, Marzena Dominiak. Materials 2022 , Vol. 15, no.3, art.796. IF=3,623.

Doktorat został napisany przez lek. dent. Barbarę Sterczała zgodnie z przyjętymi wymogami i łącznie liczy 72 strony. Obejmuje kolejno: spis treści, notę informacyjną zawierającą wykaz publikacji stanowiących treść pracy doktorskiej, źródło jej finansowania i opinie Komisji Bioetycznej oraz wykaz skrótów stosowanych w pracy.

Dalsze części pracy to streszczenie, wstęp, cel pracy oraz przedstawienie aktualnej wiedzy na temat substytutów komórkowych i metod aktywacji proliferacji fibroblastów, następnym

rozdział to materiał i metody, wyniki oraz podsumowanie i wnioski oraz piśmiennictwo wraz z załącznikami.

Celem pracy była optymalizacja i ocena metod proliferacji fibroblastów dziąsła zrogowaciałego z zastosowaniem nośników żelowych, fibryny bogato płytkowej oraz fotobiostymulacji laserowej w kontekście augmentacji dziąsła zrogowaciałego.

Materiał stanowiący podstawę opisywanych badań został pobrany od zdrowych dawców z dziąsła podniebienia twardego. Izolację i hodowlę przeprowadzono zgodnie z opatentowaną procedurą Patent No. 381204.

Wyniki badań klinicznych w pierwszej pracy, w której oceniano zastosowanie hodowli pierwotnej autogennych fibroblastów do pokrycia recesji mnogich w zuchwie, stały się inspiracją do poszukiwania efektywniejszych stymulatorów fibroblastów. Doktorantka podjęła próbę oceny wpływu na ich proliferację nośnika żelowego w metodzie fotobiostymulacji (PBM) oraz matrycy fibrynowej A-PRF+. Nowoczesne metody badania aktywności mitochondrialnej fibroblastów wskazują na zwiększoną ekspresję kolagenu III. Oceniano wpływ PBM na fibroblasty stosując trzy różne typy laserów : Nd:YAG (1064nm), laser diodowy (980nm) oraz lampę ledową emitującą długości fali 405, 450 i 635 nm. Gęstość energii wynosiła $3\text{J}/\text{cm}^2$, $25\text{J}/\text{cm}^2$ oraz $64\text{J}/\text{cm}^2$. Najwyższy odsetek aktywności mitochondrialnej (MA) odnotowano w grupie naświetlanej laserem 635nm, o gęstości energii $64\text{J}/\text{cm}^2$ po 48 godzinach oraz w grupie o długości fali 405nm o gęstości energii $25\text{J}/\text{cm}^2$ po 24 godzinach.

W kolejnej pracy wykorzystano bioaktywną membranę w postaci A-PRF+ wraz z wyhodowanymi autogennymi fibroblastami i badano wpływ powstałego preparatu na proliferację fibroblastów. Badano również ilościowe uwalnianie czynników wzrostu, ekspresje kolagenu III oraz stopień gojenia rany w warunkach in vitro i wykazano wzrost proliferacji fibroblastów, wzmożoną ekspresję kolagenu III i zwiększone uwalnianie czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF) i transformującego czynnika wzrostu (TGF β 2).

W mojej opinii metodyka prac została dobrze przemyślana i prawidłowo zaplanowana dla osiągnięcia celu pracy, a ponadto bardzo skrupulatnie opisana w kolejnych pracach.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że:

1. Metoda z zastosowaniem CTG przyniosła o połowę większy przyrost mediany grubości dziąsła (TKT) w porównaniu do grupy badanej. Jednak efekt estetyczny, jak i traumatyczność przeprowadzonego zabiegu w grupie badanej okazały się bardziej optymalne.

2. Weryfikowany żel znacząco stymuluje proliferację fibroblastów, a aktywność mitochondrialna oznaczona testem MTT wzrosła dwukrotnie przy niższych stężeniach żelu (1-25%). Ekspozycja żelu Protefix® na fibroblasty po 24 i 48 godzinach wykazała wysokie powinowactwo do żelu. Wykazano zwiększoną ekspresję kolagenu III, po ekspozycji 1,5 i 25% żelu na fibroblasty.
3. Najwyższy odsetek aktywności mitochondrialnej (MA=122,1%) zaobserwowano w grupie naświetlanej laserem 635nm, z gęstością energii 64J/cm² po 48 godzinach. Najniższy odsetek MA (94%) zaobserwowano w grupie naświetlanej jednocześnie trzema długościami fali (405+450+635nm). Zastosowanie lasera 405nm przy 25J/cm² dało podobne wyniki jak laser 635nm.
4. Matryca A-PRF+ wzbogacona autogennymi fibroblastami wykazywałaa znacząco wyższe wartości uwolnionego VEGF w każdym punkcie czasowym, a po 7 dniach odnotowano znacząco wyższe wartości uwolnionego TGFβ2. Również ekspresja kolagenu była znacznie wyższa w porównaniu do samej matrycy A-PRF+. Test żywotności po 72 h wskazał znaczny wzrost proliferacji fibroblastów po ekspozycji na czynniki uwalnianie z A-PRF+ wzbogacone fibroblastami. Podobnie stopień zamknięcia rany po 48 godzinach był znacząco wyższy dla czynników uwalnianych z samego A-PRF+ i czynników uwalnianych z A-PRF+ w połączeniu z fibroblastami w porównaniu do samych fibroblastów.

Uzyskane wyniki badań, lek. dent. Barbara Sterczała przedstawiła w sposób czytelny, syntetyczny i dobrze udokumentowany. Przeprowadzone badania oraz analiza uzyskanych wyników znalazły odzwierciedlenie w 4 wnioskach sformułowanych przez Autorkę:

1. Istnieje potrzeba wprowadzenia nowych protokołów stymulowania proliferacji fibroblastów dziąsła zrogowaciałego w augmentacji tkanki miękkiej w różnych przypadkach klinicznych.
2. Testowany, in vitro, żel jako nośnik dla autogennych fibroblastów, ma własności proliferacyjne dla fibroblastów oraz regeneracyjne w przypadku niewielkiego deficytu tkanki miękkiej jak otarcia wynikające z użytkowania protez czy aparatów ortodontycznych. Z powodzeniem może być stosowany po zabiegach z zakresu chirurgii śluzówkowo-dziąsłowej do stymulacji gojenia miejscowego.
3. Fotobiomodulacja, zwłaszcza w zakresie długości fali 635nm i 405nm, istotnie wpływa na proliferację fibroblastów dziąsła, dlatego może skutecznie przyspieszać procesy gojenia.

4. Fibryna bogatopłytkowa A-PRF+ wzbogacona autogennymi fibroblastami jest innowacyjnym preparatem znacząco wpływającym na augmentację dziąsła zrogowaciałego, co szczególnie jest istotne u pacjentów z utrudnionym procesem gojenia tkanek.

Za najbardziej wartościowe uważam wnioski 3 i 4, które wskazują na możliwości stosowania alternatywnych metod w rekonstrukcji tkanek miękkich. Zwraca uwagę nowatorski aspekt zwiększonego potencjału regeneracyjnego połączenia A-PRF+ z wyhodowanymi fibroblastami pacjenta.

Z obowiązku recenzenta chciałabym zwrócić uwagę, że w pracy pierwszej stosowano pomiary parametrów przyzębia zgłębnikiem Williamsa (kalibrowany pierwsze 3 mm co 1mm i dalej już co 3 mm). Może warto rozważyć w następnych pracach aby do tych pomiarów zastosować sondę periodontologiczną wyskalowaną co 1mm. Powyższe uwagi w niczym nie umniejszają zasadniczej, merytorycznej wartości dysertacji, gdyż wszystkie 4 prace zostały prawidłowo zaplanowane, opublikowane i opisane w niniejszej pracy doktorskiej.

Przedstawiona praca wskazuje na bardzo dobre przygotowanie lek. dent. Barbary Sterczała do pracy naukowo-badawczej. Doktorantka w unikatowy sposób zaprojektowała wieloetapowe badanie metod stymulowania proliferacji fibroblastów dziąsłowych i ich zastosowanie w augmentacji dziąsła zrogowaciałego.

Założenia i tezy tej oryginalnej pracy zostały rzetelnie i wnikliwie opracowane, a sformułowane wnioski świadczą o umiejętnościach logicznej analizy. Wyniki badań zostały opublikowane w recenzowanych, wysoko punktowanych czasopismach, co dodatkowo podkreśla nowatorstwo, znaczenie oraz wymierny aspekt praktyczny uzyskanych wyników.

W związku z powyższym uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa lek. dent. Barbary Sterczała pt. „Ocena skuteczności wybranych metod stymulowania proliferacji fibroblastów dziąsłowych i ich zastosowania w augmentacji dziąsła zrogowaciałego” spełnia warunki określone w art.13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65 poz.595 z późniejszymi zmianami). Na tej podstawie przedkładam Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. dent. Barbary Sterczała do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie na dużą wartość merytoryczną pracy, potwierdzoną publikacjami w czasopismach z Listy Filadelfijskiej o wysokim czynniku oddziaływania (IF=10,266), wnioskuję o przyjęcie pracy z wyróżnieniem.

4043279

Dr hab. n. med. ELŻBIETA DEMBOWSKA
specjalista stomatologii ogólnej
periodontologii i protetyki
tel. 801 58 44 54

5

Elżbieta Dembowska