



akceptuje
Prof. dr hab. med. Marta Cześnikiewicz-Guzik

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

Kraków, 20.08.2025

Ocena rozprawy doktorskiej Pana Lek. dent. Konrad Michałowski pod tytułem „Ocena kliniczna i mikrobiologiczna wpływu tioglikozydów ekstrahowanych z gorczycy białej na stan higieny jamy ustnej”

Recenzent Prof. dr hab. med. Marta Cześnikiewicz-Guzik

Zakład Periodontologii, Profilaktyki i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, UJCM

Rozprawa doktorska lek. dent. Konrada Michałowskiego podejmuje aktualny i innowacyjny temat zastosowania naturalnych związków roślinnych w stomatologii, a konkretnie tioglikozydów obecnych w gorczycy białej (*Sinapis alba*). Właściwości przeciwbakteryjne, przeciwzapalne i przeciwgrzybicze tych związków są dobrze udokumentowane w badaniach przedklinicznych, jednak ich zastosowanie kliniczne w stomatologii do tej pory nie było szeroko badane. Praca ma więc znaczenie nowatorskie, wypełniając istotną lukę w literaturze i otwierając perspektywy translacyjne.

Szczegółowymi celami pracy było:

- 1) Ocena wpływu stosowania eksperymentalnej pasty na parametry płytki (API, PI) oraz parametry zapalenia dziąseł (GI i BoP).
- 2) Ocena skuteczności działania przeciwbakteryjnego, w kontekście zmniejszenia miana bakterii próchnicowych *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. w ślinie.
- 3) Ocena dynamiki i trwałości odpowiedzi terapeutycznej na składniki gorczycy w stosowanej paście
- 4) Analiza sensoryczna dotycząca smaku, zapachu i ewentualnych problemów związanych z codziennym stosowaniem gorczycy w eksperymentalnej paście.



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

Rozprawa liczy 51 stron i obejmuje: streszczenie w języku polskim i angielskim, obszerny wstęp teoretyczny dotyczący gorczycy białej i tioglikozydów, szczegółowe sformułowanie założeń i celów pracy, dwie publikacje oryginalne stanowiące trzon rozprawy, podsumowanie i dyskusję wyników, wnioski końcowe, piśmiennictwo oraz dokumenty formalne: zgody bioetyczne, oświadczenia współautorów.

We wstępie Doktorant szeroko omawia właściwości gorczycy białej, wskazując na obecność bioaktywnych związków takich jak tioglikozydy, flawonoidy i tokoferole. Szczególną uwagę poświęcono izotiocyanianowi allilu (AITC), który w badaniach *in vitro* wykazywał działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne i przeciwgrzybicze. W części literaturowej omówiono również potencjalne ograniczenia stosowania gorczycy, takie jak obecność kwasu erukowego czy alergenów białkowych. Ważnym elementem wstępu jest wskazanie na brak dotychczasowych badań klinicznych nad zastosowaniem gorczycy w stomatologii, co uzasadniało podjęcie tematu.

Pierwsza praca pod tytułem **“Clinical Effect of Thioglycosides Extracted from White Mustard on Dental Plaque and Gingivitis: Randomized, Single-Blinded Clinical Trial”** opublikowana w 2024 roku w *International Journal of Molecular Sciences* obejmuje roczne, randomizowane badanie kliniczne z udziałem pacjentów, u których oceniano wpływ pasty zawierającej ekstrakt z gorczycy na wskaźniki periodontologiczne PI, API, BoP i GI. Zrekrutowano 149 pacjentów, z czego 16 zostało wykluczonych, a 133 zakwalifikowano do badania. Spośród nich 66 pacjentów przydzielono do grupy interwencyjnej stosującej pastę do zębów zawierającą tioglikozydy, a 67 pacjentów do grupy kontrolnej, używającej pasty bez tioglikozydów. Czterech pacjentów utracono w trakcie obserwacji. W trakcie badania pacjenci zostali podzieleni na sześć grup; grupa kontrolna low DMFT-PD (–), grupa kontrolna high DMFT-PD (–), grupa kontrolna high DMFT-PD (+), badana grupa low DMFT-PD (–), badana grupa high DMFT-PD (–), badana grupa high DMFT-PD (+).



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
W Krakowie

Wydział Lekarski

Grupy kontrolne stosowały pastę do zębów pozbawioną tioglikozydów. Pacjenci nie byli poinformowani o przydziale do grupy badanej lub kontrolnej. Najwyższe wartości badanych parametrów w początkowym badaniu stwierdzono w grupie wysokiego DMFT z chorobą przyzębia (PD+). Początkowe różnice pomiędzy grupami uległy spłaszczeniu po 12 miesiącach, jednak zostały zachowane, co wyraźnie uzasadnia podział pacjentów na kategorie. Poprawa parametrów higieny jamy ustnej była istotna we wszystkich grupach, ale największa w grupach wysokiego DMFT-PD(-) oraz wysokiego DMFT-PD(+). Zależność tę obserwowano we wszystkich mierzonych parametrach. W każdym przypadku najbardziej znaczącą redukcję odnotowano w pierwszych 6 miesiącach badania. Podczas końcowych 6 miesięcy obserwacji trend nadal był widoczny, choć słabszy. Poprawa parametrów higienicznych była wyraźniejsza u pacjentów z chorobą przyzębia w grupie wysokiego DMFT-PD(+) niż w grupie kontrolnej oraz w grupie niskiego DMFT-PD(-), obejmującej osoby ze zdrowymi dziąsłami. Badanie krwawienia przy zgłębnikowaniu (BoP) wykazało poprawę we wszystkich grupach, przy czym największy spadek średnich wartości PoB stwierdzono w grupach stosujących pastę z tioglikozydami. Dodatkowo, musztarda, jak powszechnie wiadomo, ma ostry zapach i smak, co mogło być nieakceptowalne dla części osób. Ze względu na niskie stężenie olejku musztardowego (5%) smak pasty był jednak łagodny, dlatego pacjenci nie zgłaszali zastrzeżeń podczas drugiej i trzeciej wizyty. Praca stanowi mocny dowód kliniczny na skuteczność tioglikozydów w redukcji płytki i zapalenia dziąseł.

Druga publikacja pod tytułem **“The Clinical and Antibacterial Effects of a Herbal Toothpaste Containing White Mustard *Sinapis alba* Extract: A Randomized Clinical Trial”** opublikowana w 2025 roku w *“Dentistry Journal”* przedstawia czterotygodniowe, randomizowane, podwójnie zaślepione badanie kliniczne, w którym oprócz parametrów klinicznych oceniano także działanie przeciwbakteryjne preparatu. Uczestnicy badania zostali zrekrutowani spośród pacjentów poradni stomatologicznej. Pacjenci spełniający kryteria włączenia zostali zakwalifikowani do badania. Podczas pierwszej wizyty



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

(T0) przeprowadzono ocenę kliniczną oraz pobrano próbki śliny do analizy mikrobiologicznej. Następnie, zgodnie ze schematem przydziału, pacjentom rozdano pasty do zębów – eksperymentalną oraz kontrolną. Uczestnikom polecono używać manualnej szczoteczki do zębów i szczotkować zęby techniką zmodyfikowaną Bassa. Instruktaż i trening tej techniki odbyły się podczas wizyty początkowej. Wszystkich pacjentów poproszono o szczotkowanie zębów przypisaną pastą przez 2 minuty, dwa razy dziennie, przez 4 tygodnie. Po 4 tygodniach (T1) pacjenci zostali ponownie wezwani, a następnie zapytani o ewentualne niepożądane zdarzenia w trakcie trwania badania. Oceny kliniczne zostały przeprowadzone przez jednego, zaślepionego i skalibrowanego badacza na początku badania (T0) oraz po 4 tygodniach (T1). Do rejestracji wskaźników użyto sondy periodontologicznej (PCP UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Badano następujące wskaźniki higieny: PI by Silness and Loe (Plaque index) API (Aproxymal Plaque Index) by Lange oraz wskaźniki stanu przyzębia Gingival index (GI) by Loe and Silness, Bleeding on probing (BOP) by Ainamo and Bay. Do badania zakwalifikowano 113 pacjentów (55 kobiet i 58 mężczyzn) w wieku 28–62 lat; średni wiek wynosił $44,3 \pm 16,9$ roku. Łącznie 56 osób losowo przydzielono do grupy eksperymentalnej, a 57 osób do grupy kontrolnej. Czterech uczestników z grupy eksperymentalnej i pięciu z grupy kontrolnej utraciono podczas obserwacji, w związku z czym zostali wykluczeni z ostatecznej analizy. W trakcie badania i po jego zakończeniu nie odnotowano żadnych działań niepożądanych ani efektów ubocznych.

Między T0 a T1 w grupie eksperymentalnej zaobserwowano istotną redukcję we wszystkich czterech porównywanych parametrach: PI ($3,68 \pm 1,13$ do $1,83 \pm 0,42$; $p < 0,001$), API ($41,6 \pm 20,5$ do $18,5 \pm 17,3$; $p < 0,001$), GI ($1,89 \pm 0,76$ do $1,45 \pm 0,81$; $p = 0,037$) oraz BoP ($49,3 \pm 15,2$ do $18,7 \pm 13,6$; $p = 0,017$). Podobne, istotne wyniki uzyskano w grupie kontrolnej: PI ($3,78 \pm 0,72$ do $1,25 \pm 0,52$; $p \leq 0,001$), API ($39,2 \pm 19,8$ do $22,2 \pm 18,6$; $p < 0,001$), GI ($1,96 \pm 0,83$ do $1,55 \pm 0,92$; $p = 0,043$) oraz BoP ($52,9 \pm 13,5$ do $26,1 \pm 16,3$; $p = 0,048$).



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
w Krakowie

Wydział Lekarski

Analiza statystyczna z zastosowaniem testu t dla dwóch prób niezależnych wykazała istotne różnice między grupą eksperymentalną i kontrolną oraz między T0 a T1 w zakresie poprawy PI, API, GI i BoP. Wartości p dla obu testów były znacznie niższe od poziomu istotności 0,05.

W aspekcie oceny mikrobiologicznej, na początku badania 55,8% próbek z grupy kontrolnej wykazywało liczebność *Lactobacillus* powyżej 10^5 CFU/mL. W przypadku *Streptococcus mutans* w grupie kontrolnej rozkład był równy – 50% próbek poniżej 10^5 CFU/mL i 50% powyżej 10^5 CFU/mL. W grupie eksperymentalnej 55,8% próbek wykazywało liczebność *Lactobacillus* powyżej 10^5 CFU/mL, natomiast dla *Streptococcus mutans* 51,9% próbek przekraczało poziom 10^5 CFU/mL. Po czterech tygodniach stosowania przypisanych past do zębów zaobserwowano istotne różnice ($p < 0,001$). W grupie kontrolnej 40,4% próbek wykazywało liczebność *Lactobacillus* powyżej 10^5 CFU/mL, a jednocześnie 44,2% próbek *Streptococcus mutans* znajdowało się powyżej poziomu 10^5 CFU/mL. Wyniki potwierdziły statystycznie istotną redukcję kolonii *Streptococcus mutans* i *Lactobacillus* spp. w ślinie pacjentów stosujących pastę z ekstraktem. Obserwowano równocześnie poprawę wskaźników PI i BoP. Badanie to dostarcza pierwszych dowodów in vivo na właściwości przeciwpłychnicowe gorczycy.

W obliczu opisanych wyników, chciałam zapytać o kilka interesujących aspektów opisywanych danych:

1. Krótki czas obserwacji w drugim badaniu – cztery tygodnie – nie pozwala na pełną ocenę skuteczności długoterminowej w aspekcie mikrobiologicznym preparatów gorczycy. Czy planowane jest dłuższe badanie?
2. Dlaczego Autor nie uwzględnił porównania preparatów gorczycy z pastami fluorowymi, będącymi zalecanym standardem według wytycznych EFP?



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

3. Wykorzystane testy CRT nie dają pełnego obrazu mikrobiomu jamy ustnej. Czy planowane są badania molekularne (np. PCR) dla dokładniejszej oceny mikrobiomu?
4. Jak wyjaśnić poprawę wyników w grupach kontrolnych – czy wynikała ona z poprawy higieny samych pacjentów?
5. Czy zawartość tioglikozydów była standaryzowana w używanym preparacie i powtarzalna w obu badaniach?
6. Jak oceniono ryzyko alergiczne związane ze stosowaniem preparatu na bazie gorczycy?

Wnioski przedstawione są zwięzłe. Są klarowne i odpowiadają postawionym przez Doktoranta celom swojego badania klinicznego.

Doktorant wykazała, że preparaty z ekstraktu gorczycy:

1. Redukcją akumulację płytki bakteryjnej oraz wartości wskaźników klinicznych stanu zapalnego dziąseł.

- Pierwsze badanie wykazało istotne statystycznie zmniejszenie wartości wskaźników PI, API i BoP po 6 miesiącach używania pasty zawierającej ekstrakt z gorczycy „Bamberka”. Trend spadkowy widoczny był do końca badanego okresu, choć z mniejszą dynamiką w drugim półroczu.
- Druga próba potwierdziła statystycznie istotną redukcję wartości wskaźników PI, API, GI i BoP w grupie badanej po miesiącu stosowania.



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
W Krakowie

Wydział Lekarski

2. Mają istotne działanie przeciwbakteryjne wobec drobnoustrojów kariogennych.

- W drugim badaniu, po zastosowaniu pasty z wyciągiem gorczycy, zaobserwowano spadek liczebności kolonii bakterii *Streptococcus mutans* $> 10^5$ CFU/mL z 51,9 % do 19,2 %, natomiast bakterii *Lactobacillus* spp. z 55,8 % do 9,6 %. Redukcja powyższych parametrów nie zaobserwowana została w grupie kontrolnej. Pozwala to sformułować wniosek, że stosowanie wzbogaconej pasty redukuje miano bakterii próchnicowych w jamie ustnej, a tym samym zmniejsza ryzyko próchnicy.

3. Wskazuje przydatność w terapii wspomagającej u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka choroby przyzębia. W badaniu nr 1 u badanych z grupy z wysokimi wartościami wskaźnika DMFT i obecnym zapaleniem dziąseł zaobserwowano największy spadek wartości wskaźników PI, API oraz BoP.

4. Wykazują brak negatywnych wrażeń sensorycznych ze strony pacjentów biorących udział w badaniu pomimo, iż tioglikozydy i glukozylany są odpowiedzialne między innymi za ostry i gorzki smak.

5. Wykazują brak działań niepożądanych, co świadczy o bezpieczeństwie preparatów z ekstraktu gorczycy

Podsumowując rozprawa doktorska Pana Lek. dent. Konrada Michałowskiego pod tytułem „Ocena kliniczna i mikrobiologiczna wpływu tioglikozydów ekstrahowanych z gorczycy białej na stan higieny jamy ustnej” jest oparta na dwóch rzetelnych i dobrze przeprowadzonych badaniach, które cechuje:



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Lekarski

- oryginalność tematu i wypełnienie luki badawczej na temat zastosowania naturalnych preparatów roślinnych w stomatologii.
- wysoka jakość metodologiczna: randomizowane badania kliniczne, z elementami zaślepienia.
- publikacja w czasopismach o uznanym IF.

Sposób przedstawienia wyników jest czytelny i nie budzi zastrzeżeń. Wprowadzone zostały wszystkie konieczne dla dalszego zrozumienia pracy terminy i omówiony aktualny stan wiedzy na podstawie aktualnego piśmiennictwa. Wnioski są logiczne, przejrzyste i spójne z wynikami.

W związku z tym z całą pewnością stwierdzam, iż przekazana mi do oceny rozprawa doktorska Pana Lek. dent. Konrada Michałowskiego pod tytułem „Ocena kliniczna i mikrobiologiczna wpływu tioglikozydów ekstrahowanych z gorczycy białej na stan higieny jamy ustnej” spełnia wszystkie wymogi rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i mam zaszczyt przedstawić Radzie Naukowej Dyscypliny Nauk Medycznych, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego dopuszczenie Pana Lek. dent. Konrada Michałowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Marta Cześnikiewicz-Guzik

Zakład Periodontologii, Profilaktyki i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej

Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum