

lek. stom. **Andrzej Borowiec**

Zastosowanie testu molekularno-biologicznego PET firmy MIP Pharma Polska w praktyce lekarza periodontologa

Choroby przyzębia towarzyszą człowiekowi od bardzo dawna. Już badania na małpach człekokształtnych z zachowanym uzębieniem wykazały cechy destrukcji w ich przyzębiu.

Zapisy w papirusach z Egiptu (4000 p.n.e.) informują nas, że i w tych czasach występowało rozchwianie zębów i inne zmiany patologiczne (1). Hipokrates (450-357), ojciec współczesnej medycyny, opisał choroby dziąseł i choroby powodujące, że zęby się ruszają (1). Pomimo postępu nauki choroby przyzębia pozostają wielkim problemem współczesnej stomatologii.

Zgodnie z obecnie obowiązującą teorią etiopatogenezy, zapalenie przyzębia rozwija się w wyniku zaburzenia równowagi mikroflory biofilmu płytki nazębnej i mechanizmów obrony gospodarza. Reakcja ta jest modyfikowana przez tzw. czynniki ryzyka. W stanie zdrowia bakterie kolonizujące szczelinę dziąsłową są hamowane przez reakcję obrony gospodarza (układ immunologiczny) i nie wywołują choroby. W wyniku obniżenia odporności, zaniedbań higienicznych, predyspozycji genetycznych, przyjmowania leków i palenia tytoniu bakterie płytki nazębnej doprowadzają do wystąpienia objawów klinicznych chorób zapalenia przyzębia.

Współczesne badania dowodzą, że za powstanie klinicznych objawów *periodontitis* odpowiedzialne są konkretne bakterie, zwłaszcza Gram-ujemne beztlenowe pałeczki, które uważane są za podstawowy

czynnik etiologiczny zapalenia przyzębia (2, 3). Wykazano, że bakterie grupują się w specyficzne kompleksy, co pozwala im lepiej bytować i zwiększa ich odporność na odpowiedź gospodarza.

Badania przeprowadzone przez Socransky pozwoliły na wykazanie w obrębie biofilmu kilku kompleksów bakteryjnych, z których na rozwój chorób przyzębia największy wpływ wydaje się mieć kompleks *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i kompleks czerwony, w którego skład wchodzi trzy gatunki bakterii: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*. Są one zwane markerami zapalenia przyzębia, zaś ich endotoksyny i kolagenazy niszczą bezpośrednio tkanki przyzębia i aktywują układ immunologiczny gospodarza. W końcowym efekcie doprowadzają do destrukcji przyzębia. Do kompleksu pomarańczowego, który warunkuje powstawanie kompleksu czerwonego, należą *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros* i *Fusobacterium nucleatum*.

CHOROBY PRYZĘBIA A INNE SCHORZENIA

Choroby przyzębia są uznawane za choroby społeczne. Z badań epidemiologicznych przeprowadzonych w Europie Zachodniej wyni-

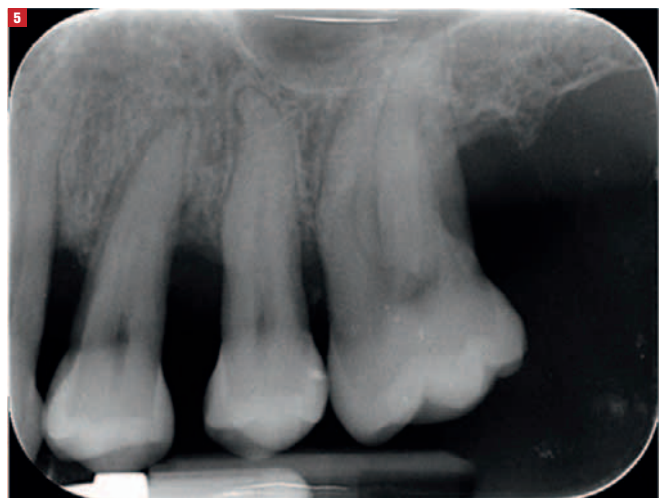
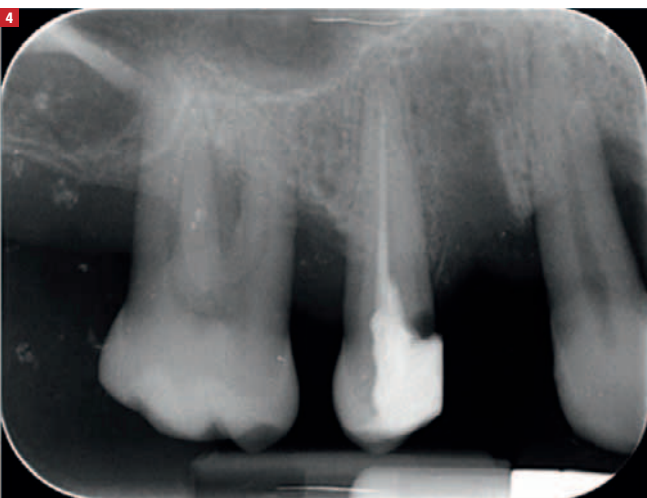
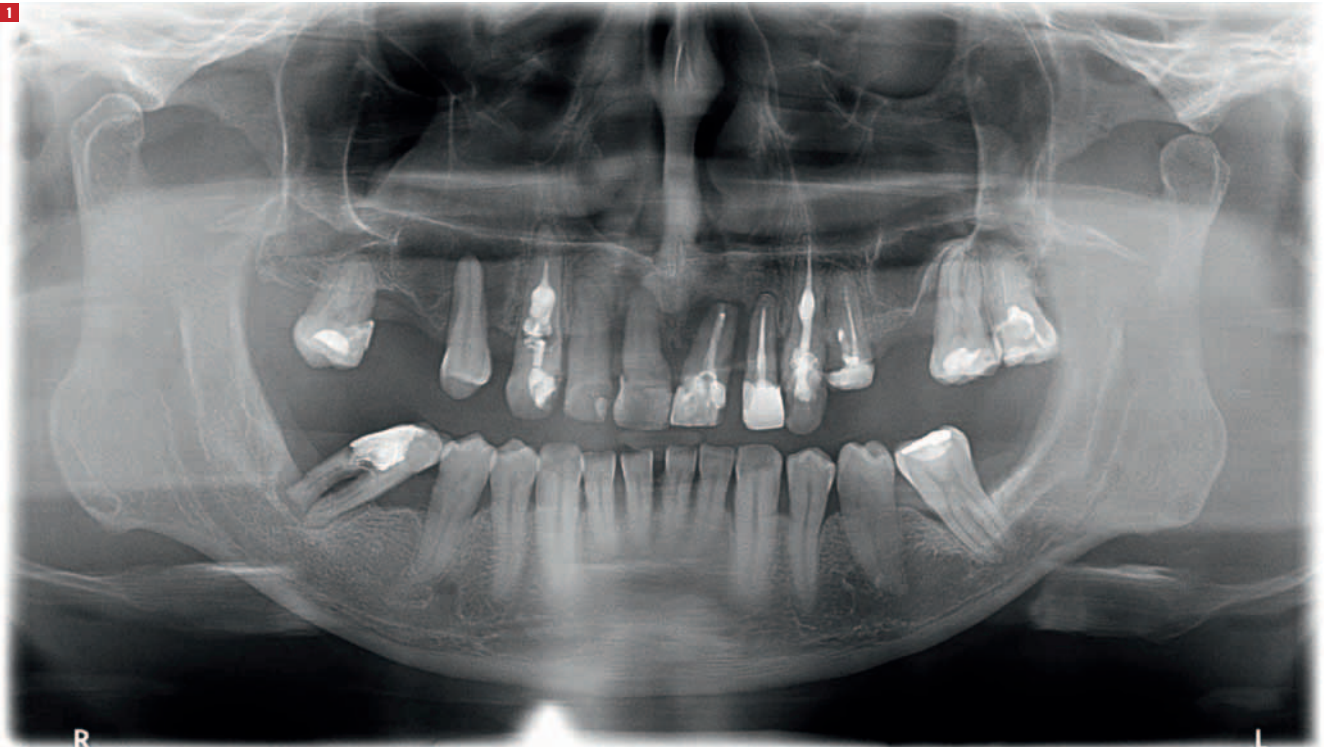
TITLE ▶ Using molecular-biological test PET MIP Pharma in the practice of periodontology

SŁOWA KLUCZOWE ▶ test molekularno-biologiczny, periodontologia

STRESZCZENIE ▶ Choroby przyzębia są uznawane za choroby społeczne. Z badań epidemiologicznych przeprowadzonych w Europie Zachodniej wynika, że ok. 70% populacji cierpi z ich powodu.

KEY WORDS ▶ molecular-biological test, periodontology

SUMMARY ▶ Periodontal diseases are considered a social disease. The epidemiological studies conducted in Western Europe show that about 70% of the population suffers from periodontal disease.



► ka, że ok. 70% populacji cierpi z ich powodu. W Polsce jest podobnie lub nawet gorzej, bo odsetek ten jest jeszcze wyższy. Konsekwencje zapalenia przyzębia są odczuwane nie tylko w układzie stomatognatycznym, doprowadzając w konsekwencji do przedwczesnej utraty uzębienia, mają wpływ na cały organizm człowieka. W ostatnich latach opublikowano szereg badań dokumentujących wpływ chorób przyzębia na organizm, w tym na: miażdżycę naczyń, udary mózgu, cukrzycę, ryzyko przedwczesnych porodów. Przewlekłe procesy zapalne związane z przyzęciem wpływają również na odbiór bodźców smakowych.

Związek między chorobami przyzębia a tworzeniem się blaszki miażdżycowej dotyczy tych samych czynników ryzyka i podobnych procesów związanych z mediatorami zapalenia (5). Miażdżycy może powodować zawały serca i prowadzić do udaru mózgu. U pacjentów z chorobami przyzębia zachorowalność na miażdżycę wzrasta o 20%. U osób skarżących się na choroby przyzębia w blaszce miażdżycowej wykazano istnienie tych samych bakterii, które indukują powstawanie blaszek w naczyniach (6). Stwierdzono ścisły związek między cukrzycą a chorobami przyzębia. Powstający w trakcie choroby przyzębia TNF- α zaburza oddziaływanie insuliny na komórki, powodując brak ich reakcji (7). U osób z leczoną chorobą przyzębia doprowadzenie do stabilizacji cukrzycy jest łatwiejsze i szybsze.

Choć współczesne doniesienia nie zawsze to potwierdzają, we wcześniejszych badaniach wykazano wpływ chorób przyzębia na przedwczesne porody i niską masę urodzeniową noworodków (8-10). Badania Hołdy, Galwas i współpracowników potwierdziły, że choroby przyzębia mają również wpływ na zaburzenia

odbierania bodźców smakowych (11). Badania uwidocznily bardzo małą świadomość Polaków dotyczącą znaczenia chorób przyzębia dla całego organizmu oraz konieczności regularnego usuwania złogów nazębnych. Około 80% badanych nie widzi takiej potrzeby (12). W swojej praktyce periodontologicznej spotykam często pacjentów z bardzo zaawansowanym stanem choroby, którzy powinni wcześniej zainteresować się koniecznością leczenia (fot. 1). Ich terapia jest wieloetapowa, często wymaga usuwania zębów i leczenia chirurgicznego. Jednak nawet tak zaawansowane leczenie przyzębia nie daje gwarancji usunięcia skutków choroby (fot. 2).

DIAGNOZA I LECZENIE

W leczeniu chorób przyzębia bardzo ważna jest odpowiednia diagnostyka, a więc prawidłowy i pełny wywiad (predyspozycje genetyczne, palenie tytoniu itp.) oraz badanie fizykalne jamy ustnej przy użyciu sondy perio. Postulat, aby sonda perio znajdowała się i była używana w każdym gabinecie stomatologicznym, niestety do dziś nie został zrealizowany. Uzupełnieniem prawidłowej diagnostyki są zdjęcia RTG pełnego statusu zębowego. Postęp, jaki dokonał się w tej dziedzinie w ostatnich latach, w tym dostępność radiologii cyfrowej, pozwala na prawidłową ocenę stanu przyzębia u pacjentów. Również w ostatnich latach pojawiły się testy

molekularno-biologiczne pozwalające na określenie rodzaju bakterii obecnych u danego pacjenta. Rola bakterii w powstawaniu i przebiegu choroby przyzębia została dokładnie potwierdzona. W testach molekularno-biologicznych można określić liczbę bakterii ogółem w próbce oraz poszczególne typy bakterii i ich ilość (tab. 1).

Badania wykazały (13), że metody molekularno-biologiczne PCR są tak samo lub nawet dokładniejsze niż metody biologiczne (hodowlane) w przypadku określania bakterii z kieszonek dziąsłowych. Obszerne badania Eick i Pfister na reprezentatywnej grupie pacjentów dowiodły wyższości metody real-time PCR nad zwykłą hodowlą w skuteczności identyfikowania bakterii z kieszonek dziąsłowych (14). Diagnostyka mikrobiologiczna dostarcza następujących informacji:

- umożliwia przewidywanie rozwoju choroby u pacjenta,
- umożliwia postawienie prawidłowej diagnozy,
- potwierdza konieczność zastosowania właściwego antybiotyku w wypadku identyfikacji określonych bakterii,
- umożliwia lepsze zaplanowanie leczenia.

Badania molekularno-biologiczne

Zaletą badań molekularno-biologicznych jest bezproblemowy transport (brak żywych bakterii), szerokie ►

Kompleks	Patogen
Aa kompleks	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
Kompleks czerwony	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Treponema denticola</i> <i>Tannerella forsythia</i>
Kompleks pomarańczowy	<i>Prevotella intermedia</i> <i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Fusobacterium ucleatum</i>
Kompleks skojarzony z pomarańczowym	<i>Eubacterium nodatum</i>
Kompleks zielony	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>

Tab. 1

► spektrum identyfikowanych patogenów, krótki czas badania i oczekiwania na wyniki (w praktyce po 5 dniach na adres e-mail). Wadą jest to, że wrażliwość zidentyfikowanych bakterii na antybiotyki jest tylko szacunkowa (brak żywych bakterii) i nie jest to rzeczywisty antybiogram.

Jednym z takich testów stosowanych przeze mnie w praktyce jest test PET firmy MIP Pharma. To test oparty na systemie real-time PCR pozwalającym na rzeczywiste określenie ilości poszczególnych bakterii w próbce za pomocą fluorescencji. Praktyczny sposób przeprowadzenia testu jest bardzo prosty. Należy wybrać kieszonki najgłębsze lub te, które nie poddają się leczeniu. Przed pobraniem materiału kieszonki należy osuszyć. Dostarczonymi w zestawie sterylnymi sączkami należy pobrać materiał za pomocą sterylnej pęsety. Wprowadzone do kieszonki sączki należy wyjąć po 20 sekundach i umieścić w dołączonych do zestawu pojemnikach lub w jednym pojemniku, gdy zdecydowano się na próbkę zbiorczą. Wypełniony wniosek na badanie należy włożyć do koperty i wysłać pocztą (opłata za przesyłkę uiszczona przez firmę). W przypadku podania adresu e-mail wynik dostarczony jest po pięciu dniach drogą elektroniczną, a zwykle po dziesięciu dniach przesyłką pocztową w wersji papierowej. Otrzymaony raport zawiera dane o ilości bakterii w próbce ogółem oraz poszczególnych bakterii w określonych kompleksach. W swojej praktyce periodontologicznej często korzystam z możliwości wykonania tego testu.

PRZYPADEK 1

Pacjentka, lat 39, zgłosiła się do leczenia w naszej poradni z rozpoznaniem: przewlekłe zapalenie przyzębia średniozaawansowane. W wywiadzie brak było informacji

o występowaniu chorób przyzębia u członków rodziny. Pacjentka ogólnie zdrowa, bez dolegliwości, niepaląca papierosów. W badaniu wewnątrzustnym stwierdzono prawidłową higienę i ruchomość zębów, obecność niewielkich złogów kamienia poddziąsłowego, liczne pogłębione kieszonki dziąsłowe w zakresie zębów siecznych szczęki o głębokości 3-5 mm. W badaniu wskaźnik API wyniósł 26%. Błona śluzowa jamy ustnej bez zmian patologicznych. Pacjentka w wywiadzie podała pojawiający się okazjonalnie wysięk ropny z kieszonek dziąsłowych i powtarzające się stany zapalne dziąseł. Przeprowadzono instruktaż higieny jamy ustnej. Wykonano mechaniczne usunięcie złogów nazębnych z polerowaniem powierzchni korzeni w obrębie całego uzębienia.

Na następnej wizycie, po 14 dniach zdecydowano o przeprowadzeniu testu PET MIP Pharma. Pobrano materiał z kieszonek dziąsłowych i wysłano do analizy. W wyniku wykazano zwiększoną liczbę patogenów z kompleksu Aa ($1,2 \times 10^4$) oraz liczne patogeny należące do kompleksu czerwonego ($6,3 \times 10^4$). Ze względu na obecność bakterii z kompleksu Aa zdecydowano się na zastosowanie doustnie antybiotykoterapii zgodnie z otrzymanym wynikiem. Zalecono przyjmować amoksyycylinę 1000 mg co 12 h przez 7 dni. Zalecono również stosowanie osłonowo kapsułek z probiotykiem. Wykrycie bakterii kompleksu Aa w próbce jest wskazaniem do zastosowania celowanej antybiotykoterapii. Bakterie tego typu mają zdolność zasiedlania tkanek miękkich przyzębia i miejsc niedostępnych dla mechanicznego oczyszczenia. Zastosowanie antybiotykoterapii pomaga osiągnąć sukces w leczeniu. U pacjentki po antybiotykoterapii nastąpiła znaczna poprawa, brak powtarzających się stanów zapalnych i wysięku z kie-

szonek dziąsłowych. Pacjentka pozostaje w dalszym ciągu w leczeniu specjalistycznym w naszej poradni (fot 3, s. 96).

PRZYPADEK 2

Pacjent, lat 48, leczony od kilku lat z powodu choroby przyzębia, skierowany do naszej poradni po kolejnym zaostrzeniu choroby i pogorszeniu stanu z rozpoznaniem przewlekłego zapalenia przyzębia. W wywiadzie brak informacji o chorobach przyzębia u członków najbliższej rodziny. Pacjent ogólnie zdrowy, niepalący papierosów. W badaniu wewnątrzustnym stwierdzono stan zapalny dziąseł, liczne pogłębione kieszonki dziąsłowe, o głębokości 3-6 mm, z wysiękiem krwisto-ropnym i zwiększoną ruchomością zębów siecznych żuchwy. U pacjenta stwierdzono przeciętną higienę jamy ustnej, liczne ogniska złogów poddziąsłowych. Wskaźnik API w badaniu wyniósł 30%. Zmodyfikowany wskaźnik SBI wyniósł 71%. Błona śluzowa jamy ustnej bez zmian patologicznych. U tego pacjenta wykonano instruktaż profesjonalnej higieny jamy ustnej.

Po zabiegu usunięcia złogów nazębnych z polerowaniem powierzchni korzeni, na następnej wizycie, po 14 dniach zdecydowano się wykonać test PET MIP Pharma, w wyniku którego otrzymano zwiększoną liczbę patogenów kompleksu Aa ($6,6 \times 10^4$). Dodatkowo wykazano znaczną liczbę patogenów kompleksu czerwonego: Pg $1,1 \times 10^6$ i Td $1,5 \times 10^5$. Również i w tym przypadku ze względu na obecność bakterii z kompleksu Aa zdecydowano się na włączenie celowanej antybiotykoterapii. Pacjentowi zalecono amoksyycylinę 1000 mg co 12 h przez 7 dni oraz dodatkowo, ze względu na dużą liczbę patogenów, metronidazol 500 mg co 8 h przez 7 dni. Zalecono również stosowanie osłonowo kapsułek z probiotykiem. Po zastosowaniu leczenia

nastąpiła znaczna poprawa. Brak wyсіęku z kieszonek, brak dolegliwosci bólowych, ruchomość zębów prawidłowa. Pacjent pozostaje w dalszym ciągu w specjalistycznym leczeniu w naszej poradni zgodnie z algorytmem kompleksowego leczenia (fot. 4, 5, s. 96).

PODSUMOWANIE

Dostarczone wyniki pomagają w podjęciu właściwej decyzji dotyczącej leczenia oraz zastosowania ewentualnej antybiotykoterapii, co skutkuje wyborem leczenia najkorzystniejszego dla danego pacjenta. Śledzenie postępu nauki pozwala na korzystanie z tak zaawansowanej technologii w zwykłym gabinecie stomatologicznym, co znacznie ułatwia diagnostykę, a co za tym idzie pozwala skuteczniej leczyć naszych pacjentów. □

Poradnia chorób przyzębia i błon śluzowych
NZOZ SANDENT w Sanoku

Piśmiennictwo

- Mitsis F., Taramidis G.: *Alveolar bone loss on neolithic man remains on 38 skulls of Khirokita`s (Cyprus) inhabitants*. „J. Clin. Periodontol.”, 1995, 22, 788-793.
- Papapanou P.N.: *Epidemiology of periodontal diseases: an update*. „J. Int. Acad. Periodontol.”, 1999, 1, 4; 110-116.
- Riviere G.R., Smith K.S., Tzagaroulaki E., Kay S.L., Zhu X., DeRouen T.A., Adams D.F.: *Periodontal status and detection frequency of bacteria at sites periodontal health and gingivitis*. „J. Periodontol.”, 1996, 67, 2, 109-115.
- Socransky S.S.: *Microbial complexes in subgingival plaque*. „J. Clin. Periodontol.”, 1998, 25, 134-144.
- Czerniuk M.R., Górka R., Filipiak K.J., Opolski G.: *Inflammatory response to acute coronary syndrome in patients with coexistent periodontal disease*. „J. Periodontol.”, 2004, 75, 7, 1020-1026.
- Zaremba M., Górka R., Suwalski P., Kowalski J.: *Evaluation of the incidence of periodontitis-associated bacteria in the atherosclerotic plaque of coronary blood vessels*. „J. Periodontol.”, 2007, 78, 2, 322-327.
- Stawicka-Wychowańska R., Wychowański P.: *Cukrzyca i jej wpływ na przyzębie – na podstawie piśmiennictwa*. „Nowa Stomatologia”, 2004, 26-39.
- Żurek A.: *Zapalenie przyzębia a powikłania w przebiegu ciąży*. „Por. Stomatol.”, 2005, 9, 30-36.
- Konopka T., Rutkowski M.: *Zapalenie przyzębia jako czynnik ryzyka porodu przedwczesnego – przegląd piśmiennictwa*. „Dent. Med. Prob.”, 2002, 2, 259-264.
- Borakowska-Siennicka M. i wsp.: *Wpływ bakterii beztlenowych kieszonki przyzębnej na poród przedwczesny i niską masę urodzeniową noworodka*. „Stomatolog. Współcz.”, 2005, 12, 6, 33-38.
- Hałda M., Galwas A., Żurek J., Bąk M.: *Wpływ chorób przyzębia na odbiór wrażeń smakowych*. „Mag. Stom.”, 2005, 7-8, 28-32.
- Kopciwicz K., Zaremba M., Czerniuk M.R.: *Zdrowe przyzębie warunkiem zdrowia ogólnego*. „Mag. Stomatol.”, 2010, 2, 36-43.
- Boutaga K., van Vinkelhoff A.J., Vandembroucke-Grauls Ch., Savelkoul P.: *Comparison of Real-Time PCR and Culture for detection of Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque samples*. „Journal Of Clinical Microbiology”, 2003, 11, 4950-4954.
- Eick S., Pfister W.: *Comparison of microbial cultivation and commercial PCR based method for detection periodontopathogenic species in subgingival plaque samples*. „J. Clinical Periodontology”, 2002, 29, 638-644.