

Lek. dent. Magdalena Jaszczak-Małkowska

PORÓWNANIE FLORY BAKTERYJNEJ WOKÓŁ IMPLANTÓW I ZĘBÓW
WŁASNYCH ORAZ OCENA POZIOMU MMP-9 W ŚLINIE U PACJENTÓW
LECZONYCH IMPLANTOLOGICZNIE.

Wstęp

Całkowity lub częściowy brak zębów jest powszechnym i nieodwracalnym stanem chorobowym. Bezzębnie skutkuje licznymi zmianami zarówno w sferze psychicznej, jak i fizycznej pacjentów. Wobec rosnącej średniej długości życia i coraz większego znaczenia, jakie przypisuje się aspektom estetycznym uzębienia, braki zębów stanowią w krajach rozwiniętych poważny problem społeczny. Doskonałym rozwiązaniem w przypadku wystąpienia braków w uzębieniu są implanty zębowe. Utrata wszczepu śródkostnego jest najpoważniejszym powikłaniem leczenia implanto-protetycznego, prowadzącym do jego niepowodzenia. Najczęstszym czynnikiem przyczynowym prowadzącym do utraty implantów jest przewlekły proces zapalny tkanek wokół wszczepionego implantu zębowego. Początkowe zmiany, określane jako zapalenie błony śluzowej wokół wszczepu, są odwracalne, z czasem jednak dochodzi do nieodwracalnej destrukcji tkanek utrzymujących implant, a następnie do destabilizacji wszczepu i jego utraty. Stan chorobowy, w którym postępująca utrata tkanek prowadzi do zmian, które nie ustępują po eliminacji czynnika przyczynowego, określane jest mianem peri-implantitis. Jednostka ta jest, występującym wokół wszczepów śródkostnych, odpowiednikiem zapalenia przyzębia (periodontitis).

Etiopatogeneza chorób przyzębia jest od lat dokładnie analizowana na podstawie badań eksperymentalnych, histologicznych, mikrobiologicznych i innych. Implanty stomatologiczne, które stanowią protetyczny odpowiednik korzenia zęba, różnią się jednak budową od korzeni zębów własnych, inny charakter ma także ich połączenie z tkankami gospodarza. Stąd pomiędzy periodontitis i peri-implantitis, mimo zasadniczego podobieństwa, istnieją także różnice.

Czynnikiem inicjującym proces zapalny, będący podstawą rozwoju periodontitis i peri-implantitis, są bakterie rezydujące w szczelinie wokół odpowiednio zębów własnych i implantów. Dalszy przebieg obu tych chorób wynika nie tylko z obecności i

działania tych bakterii, ale także reakcji organizmu gospodarza. Rozwijający się stan zapalny wiąże się ze wzrostem aktywności wielu enzymów, w tym enzymów proteolitycznych nazywanych metaloproteinazami macierzy (ang. matrix metalloproteinases, MMP), których główną funkcją jest trawienie białek budujących przestrzenie międzykomórkowe. Nadmierna aktywność metaloproteinaz może wiązać się z degradacją tkanki łącznej, obserwowaną w przebiegu wielu chorób, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, miażdżyca czy zapalenie przyzębia. W odniesieniu do chorób przyzębia najlepiej jest to udokumentowane dla metaloproteinazy 8 (MMP8), natomiast wskazuje się również na znaczenie m.in. MMP-9, którą wiąże się przede wszystkim z resorpcją kości.

Założenia i cel pracy

Z uwagi na trudności związane z leczeniem peri-implantitis oraz konsekwencje tej choroby, obejmujące nie tylko utratę samego wszczepu, ale często również rozległe ubytki kostne, wymagające zaawansowanych zabiegów regeneracyjnych, szczególnie ważne jest dobre poznanie etiopatogenezy peri-implantitis, umożliwiające podejmowanie odpowiednich działań profilaktycznych i leczniczych. Dotychczasowe obserwacje wskazują na pewne różnice pomiędzy przebiegiem peri-implantitis i – znacznie lepiej poznanym i stanowiącym punkt odniesienia – zapaleniem przyzębia.

Dlatego niniejsza praca miała na celu:

1. Ocenę wybranych parametrów periodontologicznych wokół implantów i zębów (obecność płytki nazębnej, obecność krwawienia i głębokość kieszonek).
2. Analizę flory bakteryjnej poddziąsłowej w kieszonkach przyzębnych i wokół implantów.
3. Ocenę poziomu metaloproteinazy 9 (MMP-9) w ślinie u osób w grupie pacjentów leczonych implantologicznie i w grupie kontrolnej.
4. Ocenę korelacji pomiędzy parametrami periodontologicznymi a występowaniem wybranych bakterii w kieszonkach przyzębnych i wokół wszczepów oraz poziomem MMP-9 w ślinie i czynnikami ryzyka chorób przyzębia.

Materiał i metody

Badanie miało charakter kliniczno-kontrolny. W badaniu wzięło udział 66 osób:

33-osobowa grupa badana oraz 33-osobowa grupa kontrolna. Grupę badaną stanowiły

osoby leczone implantologicznie (obecność co najmniej jednego wszczepu śródkostnego obciążonego odbudową protetyczną od co najmniej 3 lat), ze stabilną sytuacją w obrębie tkanek przyzębia. Grupę kontrolną stanowiły osoby zdrowe bez choroby przyzębia i nie leczone implantologicznie.

Z udziału w badaniu wyłączone były osoby, które w ciągu 6 miesięcy poprzedzających badanie stosowały antybiotykoterapię (ogólną lub miejscową w obrębie jamy ustnej) lub miały przeprowadzone leczenie periodontologiczne i/lub profesjonalne zabiegi higienizacyjne. Badani nie mogli stosować preparatów z chlorheksydyną w ciągu ostatniego miesiąca poprzedzającego badanie. Wykluczano także pacjentów z nieuregulowanymi chorobami ogólnymi.

Badanie składało się z części ankietowej, klinicznej i laboratoryjnej. Po uzyskaniu świadomej zgody na udział w badaniu, w części ankietowej od wszystkich pacjentów uzyskano dane takie jak: wiek, płeć, wskaźnik masy ciała (BMI), palenie tytoniu, rozpoznane nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, reumatoidalne zapalenie stawów lub osteoporoza, przebyty zawał mięśnia sercowego, przyjmowane leki i wywiad stomatologiczny.

W części klinicznej u pacjentów przeprowadzono badanie periodontologiczne, obejmujące ocenę parametrów klinicznych w sześciu punktach pomiarowych przy każdym zębie i implancie. Badanie obejmowało ocenę głębokości kieszonek (PD), krwawienia (BOP), wskaźnik płytki wg O'Leary (PI) oraz aproksymalny wskaźnik płytki (API).

Badanie bakteriologiczne zostało wykonane z zastosowaniem komercyjnego zestawu PET (MIP Pharma) metodą Real-Time PCR. Próbkę były pobierane przy pomocy sączków papierowych z kieszonki przy implancie, oraz kieszonki zęba własnego o porównywalnej wartości PD. Jeśli było to możliwe, u jednego pacjenta dopuszczano wybór więcej niż jednej pary implant–zęb własny spełniającej ten warunek. Łącznie badaniem objęto ostatecznie 40 par implant–zęb własny. Badanie zostało przeprowadzone w laboratorium firmy MIP-Pharma i obejmowało następujące patogeny: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf), *Treponema denticola* (Td), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Peptostreptococcus micros* (Pm), *Eubacterium*

nodatum (En), *Capnocytophaga gingivalis* (Cg).

W celu oznaczenia poziomu MMP-9 od pacjentów pobrano ślinę niestymulowaną, którą badano przy pomocy metody immunofluorescencji przepływowej. Ta część laboratoryjna została wykonana w Banku Komórek Krwiotwórczych Kliniki Hematologii i Onkologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Analizy statystyczne przeprowadzono w programie PQStat v. 1.4.4. (PQStat Software, Poznań, Polska). Dla zmiennych ilościowych przeprowadzono ocenę zgodności rozkładu z rozkładem normalnym testem Kołmogorova-Smirnova. Ze względu na brak rozkładu normalnego dla części danych ilościowych zdecydowano o stosowaniu w przypadku tych zmiennych testów nieparametrycznych. We wszystkich analizach przyjęto poziom istotności 0,05 ($p < 0,05$).

Wyniki

Badaniu poddano 33 pacjentów obu płci (7 mężczyzn i 26 kobiet) w wieku od 39 do 79 lat, posiadających uzębienie własne oraz wszczepy śródkostne. Średnia wieku wynosiła 57,1 lat. Przeciętna liczba zębów własnych i implantów wynosiła odpowiednio 25 zębów i 2 implanty.

Stan przyzębia badanych był ustabilizowany. Średnia głębokość kieszonek wynosiła 2,4 mm. Większość pacjentów wykazywała dobrą lub przeciętną higienę jamy ustnej (PI < 40%, API < 70%), a średni wskaźnik krwawienia wynosił odpowiednio: w grupie badanej 23,2% i w grupie kontrolnej 16,6%. Na powierzchniach implantów występowało znacznie mniej płytki niż wokół zębów własnych (28,7 vs 39,8%). Jednocześnie wokół implantów stwierdzano istotnie głębsze kieszonki (2,9 vs 2,3 mm), a także nieco wyższy wskaźnik krwawienia dziąseł (27,9 vs 22,6%).

Nie zaobserwowano istotnych różnic w liczebności poszczególnych ocenianych gatunków bakterii pomiędzy parą ząb–implant o zbliżonej głębokości kieszonek u tych samych pacjentów. Żaden z badanych gatunków nie był swoisty wyłącznie dla jednego środowiska. Najczęściej identyfikowanymi gatunkami okazały się być *Capnocytophaga gingivalis* (80,0% zębów, 70,0% implantów), *Treponema denticola* (45,0% i 40,0%), *Tannerella forsythia* (40,0% i 30,0%) oraz *Porphyromonas gingivalis* (30,0% i 27,5%).

Analiza korelacji między stanem miejscowym tkanek otaczających zęb/implant a występowaniem poszczególnych gatunków bakterii ujawnia istotne różnice między tymi dwoma środowiskami. W przypadku zębów własnych obecność niektórych z bakterii patogennych dla przyzębia – takich jak *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* i *Prevotella intermedia* – wykazywała istotną statystycznie i silną korelację ze stanem klinicznym: ilością płytki nazębnej, występowaniem krwawienia i głębokością kieszonek. W przypadku implantów takich zależności praktycznie nie obserwowano. Jedynym gatunkiem, którego liczebność wykazywała dodatnią korelację z krwawieniem wokół implantów, były bakterie *Treponema denticola*.

Bakterie bytujące w kieszonkach przyzębnych wykazywały także więcej powiązań ze stanem ogólnym jamy ustnej. Obecność gatunków takich jak *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros* i *Capnocytophaga gingivalis* korelowała z poziomem higieny w całej jamie ustnej, wskaźnikiem krwawienia i średnią głębokością kieszonek. Liczebność *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis* była istotnie wyższa w grupie osób palących. *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* i *Eubacterium nodatum* występowały liczniej u mężczyzn, *Prevotella intermedia* stwierdzano ponadto w większej liczebności u osób z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym.

W przypadku tkanek wokół implantów spektrum bakterii korelujących z ogólnym stanem jamy ustnej było węższe. Występowanie oznak stanu zapalnego w jamie ustnej wiązało się z liczniejszym występowaniem jedynie *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* i *Capnocytophaga gingivalis*. W tkankach wokół implantów u osób palących stwierdzano większą liczebność *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Treponema denticola*. Liczba bakterii gatunków *Porphyromonas gingivalis* i *Treponema denticola* w tkankach wokół wszczepów rosła również z wiekiem.

Porównując stężenie MMP-9 w ślinie u osób leczonych implantologicznie i grupy kontrolnej nie stwierdzono między nimi istotnych statystycznie różnic. Stwierdzono natomiast dodatnią korelację pomiędzy poziomem MMP-9 a średnią wartością

wskaźnika krwawienia i średnią głębokością kieszonek. Nie obserwowano zależności między stężeniem MMP-9 a występowaniem czynników ryzyka chorób przyzębia. Stężenie MMP-9 nie korelowało również z obecnością swoistych bakterii wokół zębów własnych, natomiast stwierdzono dodatnią korelację z liczbą bakterii *Prevotella intermedia* wokół implantów.

Podsumowanie

Badanie własne potwierdziło obserwacje innych autorów, wskazujące na słabszą adhezję bakterii i mniejsze odkładanie płytki na powierzchni implantów w porównaniu do tkanek własnych. Jednocześnie jednak już niewielka ilość płytki powoduje wokół implantów silniejszą reakcję w postaci pogłębiania się kieszonek i obecności krwawienia. Dlatego uzasadnione jest oczekiwanie, że w przypadku implantów trudniej jest uniknąć w dłuższej perspektywie stanu zapalnego tkanek otaczających niż w przypadku naturalnych zębów.

Bakterie są uważane za kluczowy czynnik w etiopatogenezie chorób przyzębia. Skład i rola poszczególnych gatunków w przypadku zapalenia przyzębia są już dość dobrze zbadane. W badaniu własnym autorka stwierdziła obecność w szczelinach dziąsłowych wokół implantów większości oznaczanych gatunków patogennych dla przyzębia, ich częstość występowania ani liczebność nie odbiegały znacząco od płynu szczeliny dziąsłowej wokół zębów własnych. Jednak – w przeciwieństwie do naturalnego uzębienia – w przypadku implantów stan kliniczny tkanek okołowoszczepowych jedynie w niewielkim stopniu korelował z występowaniem swoistych gatunków bakterii. Wydaje się więc, że nie można w prosty sposób przełożyć wiedzy na temat znaczenia poszczególnych gatunków bakterii i ich kompleksów, opisanych m.in. przez Socransky'ego, w etiopatogenezie zapalenia przyzębia, na zapalenie błony śluzowej wokół implantów i peri-implantitis.

Badanie dotyczące poziomu metaloproteinazy 9 w ślinie nie wykazało natomiast różnic pomiędzy grupą pacjentów leczonych implantologicznie w stosunku do grupy kontrolnej, zatem wydaje się, że leczenie z użyciem wszczepów śródkostnych nie modyfikuje aktywności tego enzymu. Jednocześnie potwierdzono istnienie korelacji pomiędzy poziomem metaloproteinazy 9 – mniej przebadanej w kontekście chorób przyzębia niż należąca do tej samej rodziny metaloproteinazą 8 – a stanem klinicznym

tkanek przyzębia: krwawieniem i głębokością sondowania.

Uzyskane przez autorkę badania mogą wskazywać na jedno ze źródeł odmienności przebiegu peri-implantitis w stosunku do zapalenia przyzębia, jakim jest odmienna reakcja tkanek na patogenne bakterie, mimo bardzo podobnego składu gatunkowego płynu szczeliny wokół implantów i szczeliny dziąsłowej. Dokładna rola poszczególnych gatunków bakterii w etiopatogenezie chorób tkanek okołowszczepowych wymaga z pewnością dalszych badań.