

Wpływ flory bakteryjnej jamy ustnej na poziom stężenia tlenku azotu u pacjentów użytkujących protezy ruchome całkowite i częściowe – badania wstępne

Influence of oral bacterial flora on the concentration level of nitric oxide in patients using complete and partial removable dentures – a pilot study

Magdalena Wyszyńska¹, Aleksandra Czelakowska², Jacek Kasperski², Maria Łopacińska³, Seyedamirreza Mostafavi⁴, Anna Mertas⁵, Małgorzata Skucha-Nowak⁶

¹ Zakład Materialoznawstwa Stomatologicznego, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Dental Materials Science Department, The Faculty of Medical Sciences, The Silesian Medical University
Kierownik: dr n. med. *Magdalena Wyszyńska*

² Zakład Protetyki Stomatologicznej Katedry Protetyki i Materialoznawstwa Stomatologicznego, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Prosthodontics Department, Chair of Dental Prosthetics and Materials Science
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Jacek Kasperski*

³ Instytut Stomatologii i Medycyny Ogólnej, Katowice

⁴ Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Medical Sciences Department

⁵ Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Chair and Department of Microbiology and Immunology, Medical Sciences Department
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Zenon Czuba*

⁶ Zakład Propedeutyki Stomatologicznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
Department of Dental Propaedeutics
Kierownik: dr hab. n. med. *Małgorzata Skucha-Nowak*, prof. SUM

HASŁA INDEKSOWE:

diagnostyka, markery stanu zapalnego, mikrobiom, NO, tlenek azotu, stan zapalny jamy ustnej

KEY WORDS:

diagnostics, inflammation markers, microbiome, NO, nitric oxide, oral cavity inflammation

Streszczenie

Wprowadzenie. Pomiar stężenia NO w powietrzu wydychanym stosowany jest w diagnostyce i monitorowaniu leczenia zapalenia w jamie ustnej i drogach oddechowych. Wykazano wzrost poziomu tlenku azotu u pacjentów z astmą oskrzelową i u pacjentów z procesami zapalnymi w jamie

Summary

Introduction. The measurement of the concentration of NO in exhaled air is used in the diagnosis and monitoring of treatment of inflammatory processes in the oral cavity and the respiratory tract. An increase of NO level was demonstrated in patients suffering from bronchial

ustnej. NO w powietrzu wydychanym jest czułym wskaźnikiem procesu zapalnego.

Cel pracy. Celem pracy była analiza wpływu różnorodnej flory bakteryjnej jamy ustnej na poziom stężenia NO w wydychanym powietrzu u pacjentów użytkujących ruchome uzupełnienia protetyczne całkowite i częściowe.

Materiał i metody. Badania przeprowadzono wśród pacjentów użytkujących protezy ruchome całkowite i częściowe. Badanie twardych tkanek zęba przeprowadzono za pomocą lusterka i zgłębnika, przy sztucznym oświetleniu. W przypadku tkanek twardych obliczono liczbę PUW. Użyto wskaźnika krwawienia ze szczeliny dziąsłowej GBI. Stan higieny jamy ustnej oceniano na podstawie wskaźnika retencji płytki nazębnej PLI. Błonę śluzową zbadano i sklasyfikowano zgodnie z klasyfikacją zapalenia jamy ustnej wg Newtona, zmodyfikowaną przez Spiechowicza. Czystość protezy oceniano według wskaźnika Budtza-Jørgensena dla płytki protez całkowitych górnych. Stężenie NO zostało zbadane za pomocą urządzenia NIOX MINO (Aerocrine AB, Solna - Sweden). Badanie mikrobiologiczne jamy ustnej zostało przeprowadzone poprzez pobranie wymazu z dna jamy ustnej, a następnie przebadane pod kątem mikrobiologicznym. Uczestnicy zostali zakwalifikowani do badania poprzez wypełnienie ankiety dotyczącej ogólnego stanu zdrowia oraz zostali poddani standardowemu badaniu stomatologicznemu. Do badania włączono osoby zdro-

Wyniki. Fizjologiczny mikrobiom jamy ustnej i brak cech stanu zapalnego tkanek twardych i miękkich jamy ustnej nie powodują wzrostu stężenia NO w wydychanym powietrzu.

Wnioski. Pomiar stężenia NO w wydychanym powietrzu jest korzystną metodą diagnostyczną i monitorującą stan zapalny.

asthma and in patients with inflammatory processes in the oral cavity. NO in the exhaled air is a sensitive indicator of the inflammatory process.

Aim of the study. To analyse the impact of various oral bacterial flora on the level of NO concentration in the exhaled air of patients using removable complete and partial prosthetic restorations.

Material and methods. The study was conducted among patients using complete and partial removable dentures. Hard dental tissues were examined with a dental mirror and a probe in artificial lighting. The DMF index for hard tissues was calculated. The gingival sulcus bleeding index GBI was used. Oral hygiene status was assessed on the basis of the plaque retention (PLI) index. The mucosa was examined and classified according to Newton's classification modified by Spiechowicz. The cleanliness of the prosthesis plate was assessed according to the Budtza-Jørgensen index for the complete upper dentures. The NO concentration was measured with a NIOX MINO device. Microbiological examination of the oral cavity was carried out by taking a swab from the floor of the mouth and examined for microbiology. The study participants were qualified on the basis of a questionnaire on their general health and underwent a standard dental exam. Only healthy individuals were included in the study.

Results. The physiological microbiome of the oral cavity and the absence of inflammation of the hard and soft tissues of the oral cavity do not increase the concentration of NO in the exhaled air.

Conclusions. The measurement of NO concentration in the exhaled air is a beneficial method for diagnosing and monitoring oral inflammatory conditions.

Wstęp

Tlenek azotu (NO) wzbudził zainteresowanie swoją rolą fizjologiczną i patologiczną w organizmie ludzkim. Zainteresowanie stężeniem NO w powietrzu wydychanym jest coraz

większe i coraz więcej jest doniesień na temat jego udziału w różnych funkcjach układu oddechowego.^{1,2} NO jest bezbarwnym i nieorganicznym gazem, o wszechstronnym działaniu, uczestniczy zarówno w procesach patologicznych jak i fizjologicznych. Funkcja NO zależy

od jego stężenia, miejsca wytwarzania i powiązań z innymi cząsteczkami. Aktywne związki azotu mają działanie cytotoksyczne, ale również immunoregulatorowe.³⁻⁷ Pomiar stężenia NO w powietrzu wydychanym znajduje zastosowanie, między innymi w diagnostyce i monitorowaniu leczenia pacjentów z procesem zapalnym w jamie ustnej, drogach oddechowych i układzie pokarmowym. Pomiar stężenia NO w powietrzu wydychanym jest nieinwazyjnym i przyjaznym dla pacjenta badaniem diagnostycznym, szczególnie przydatnym u chorych na astmę oskrzelową. NO w powietrzu wydychanym jest czułym wskaźnikiem procesu zapalnego, szybko reagującym na włączone leczenie lub zaostrzenie choroby.⁸⁻¹¹

Jama ustna stanowi bardzo zróżnicowane i unikalne środowisko dla drobnoustrojów.^{12,13} W jamie ustnej jest ponad 750 gatunków bakterii.^{14,15} Na duże zróżnicowanie mikrobiomu jamy ustnej mają wpływ zastosowane uzupełnienia protetyczne, temperatura, pH, potencjał redoks, zasolenie i ślina, która dostarcza składników odżywczych, usuwa metabolity i zawiera liczne enzymy. Mikrobiom jest również regulowany przez higienę gospodarza¹⁶ i jest związany z mikrobiomem śliny. Stwierdzono, że ślina większości ludzi zawiera następujące rodzaje bakterii: *Streptococci*, *Prevotella*, *Veyronella*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Lothia*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Skaldovia*, *Parascaldovia*, *Arosaldovia*.¹⁷ Utrata zębów i stosowanie uzupełnień protetycznych w dużym stopniu wpływają na zmiany w mikroflorze jamy ustnej. Użytkowanie protez całkowitych stwarza środowisko sprzyjające rozwojowi bakterii i grzybów. Utrata zębów zmniejsza liczbę bakterii beztlenowych. Wiąże się to z lepszym oczyszczaniem śliny oraz redukcją kieszonek dziąsłowych i ubytków próchnicowych. Najkorzystniejsze warunki sprzyjające rozwojowi mikroorganizmów stwarza dośluzowa strona protezy oraz błona śluzowa podniebienia twardego i wyrostków zębodołowych

pokrytych protezą. Zła higiena prowadzi do gromadzenia się resztek pokarmowych, które stają się pożywką dla bakterii i grzybów, a w konsekwencji stanów zapalnych.^{18,19} Tworzywa akrylowe z powodu swojej mikroporowatej struktury sprzyjają również penetracji i kumulacji drobnoustrojów.²⁰ Wypełniacze i plastyfikatory materiału protezy są również wypłukiwane, tworząc odpowiednią przestrzeń do rozwoju mikrobiomu. Ryzyko niekorzystnego wpływu płytowych uzupełnień protetycznych na tkankę leżącą pod nimi wzrasta wraz z dłuższym użytkowaniem protez (starzenie się tworzywa sztucznego, zanik wyrostków zębodołowych).¹⁸ Zmiany zapalne pod płytą protezy mogą mieć charakter zanikowy lub przerostowy. Stosowanie ruchomych uzupełnień protetycznych z tworzyw sztucznych wiąże się również z częstym występowaniem infekcji grzybiczej spowodowanej grzybami drożdżopodobnymi z rodzaju *Candida*.²¹⁻²⁴ Gatunki najczęściej izolowane w jamie ustnej to: *C. dublinensis*, *C. guilliermondii*, *C. plotki*, *C. albicans*, *C. parapsilosa*, *C. krusi*. Infekcje grzybicze dotyczą nawet 11-67% pacjentów z uzupełnieniami protetycznymi. Ich nasilenie i rodzaj zależą nie tylko od indywidualnych predyspozycji pacjenta, ale także od warunków środowiskowych oraz zdolności grzyba do adhezji do komórek gospodarza.²⁵⁻²⁷

Cel pracy

Celem pracy była analiza wpływu różnorodnej flory bakteryjnej na poziom stężenia NO w wydychanym powietrzu u pacjentów użytkujących ruchome uzupełnienia protetyczne całkowite i częściowe.

Materiały i metody

Badaniem objęto pacjentów w wieku od 36 do 67 lat, którzy użytkowali protezy częściowe lub całkowite akrylowe górne i dolne nie dłużej

niż 5 lat i zgłaszali się do kontroli. Pacjentów biorących udział w badaniu podzielono na dwie grupy, pierwsza to 10 osób użytkujących protezy całkowite, druga grupa to 10 osób użytkujących protezy częściowe akrylowe w zakresie powyżej 5 zębów sztucznych. Grupę kontrolną stanowiło 10 pacjentów, nie użytkujących żadnych uzupełnień protetycznych, bez obecności próchnicy i stanu zapalnego błony śluzowej jamy ustnej. Uczestnicy zostali zakwalifikowani do badania poprzez wypełnienie ankiety dotyczącej ogólnego stanu zdrowia oraz zostali poddani standardowemu badaniu stomatologicznemu. Do badania włączono osoby zdrowe, które na stałe nie przyjmowały żadnych leków, nie paliły tytoniu, nie miały objawów zapalenia błony śluzowej jamy ustnej, brak obecności próchnicy oraz miały prawidłową higienę protez. W dniu badania nie stwierdzano żadnych objawów ze strony układu oddechowego, a pacjenci byli co najmniej godzinę po posiłku. Badanie twardych tkanek zębów przeprowadzono za pomocą lusterka i zgłębnika, przy sztucznym oświetleniu. Obliczono liczbę PUW, chociaż wskaźnik ten, nie informuje o rzeczywistej intensywności próchnicy, jest powszechnie stosowany w badaniach epidemiologicznych do porównań między populacjami. Badanie przyzębia przeprowadzono specjalnym cechowanym zgłębnikiem z kulistym zakończeniem o średnicy 0,5 mm, zgodnym ze standardem WHO. Użyto wskaźnika krwawienia ze szczeliny dziąsłowej wg *Ainamo* i *Bay* – GBI. Stan higieny jamy ustnej oceniano na podstawie wskaźnika retencji płytki nazębnej PLI wg *Silnessa* i *Löe*. Błonę śluzową zbadano i sklasyfikowano zgodnie z klasyfikacją zapalenia jamy ustnej wg *Newtona*, zmodyfikowaną przez *Spiechowicza*. Czystość protezy oceniano według wskaźnika *Budtz-Jørgensena* dla płytki protez całkowitych górnych. Stężenie NO zostało zbadane za pomocą urządzenia NIOX MINO (Aerocrine AB, Solna – Sweden). Procedury pomiarowe są szybkie i

łatwe, a wyniki badań są dostępne natychmiast po badaniu. Urządzenie posiada filtr NO, który eliminuje NO obecny w atmosferze. Kontroler przepływu utrzymuje stałą ilość wydychanego powietrza niezależnie od możliwości pacjenta. Każdy pomiar jest sprawdzany, a automatycznie wykonywany test sprawdza poziom izolacji. Zapewnia to powtarzalność i poprawność pomiarów. Pacjent otrzymuje jednorazowy ustnik do badania. System jest bezobsługowy, co oznacza brak skomplikowanych procedur kalibracji czy kosztownych przeglądów. Wyniki podawane są w częściach na miliard (ppb – liczba cząstek NO w jednym miliardzie cząstek gazu, czyli 1 ppb równa się 1 nl/l).²⁸ Badanie mikrobiologiczne jamy ustnej zostało przeprowadzone poprzez pobranie wymazu z dna jamy ustnej, a następnie przebadane pod kątem mikrobiologicznym w laboratorium przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Immunologii w Zabrzu SUM w Katowicach.

Opis metody analizy statystycznej

W analizie statystycznej zastosowane zostały dwa testy nieparametryczne: test U Manna-Whitneya dla dwóch prób niezależnych oraz test Kruskala-Wallisa dla trzech lub więcej niezależnych prób. Przyjęty został poziom istotności równy 0,05. Zatem w przypadku uzyskania p-wartości mniejszych niż 0,05 można wnioskować o istotnych statystycznie różnicach w rozkładach badanych cech w rozważanych grupach.

Wyniki

Zależność poziomu NO od liczby bakterii

Jak się okazuje nie ma istotnych statystycznie różnic w wartościach NO w zależności od liczby bakterii w każdej rozważanej grupie bakterii. Własność ta dotyczy zarówno grupy pacjentów z protezą całkowitą (tab. 1) oraz częściową (tab. 2), ale także grupy kontrolnej (tab. 3) oraz całej grupy bez podziału na

Tabela 1. Wartość NO w zależności od liczby bakterii w grupie „całkowite”

Rodzaj bakterii	Liczba bakterii	N	NO			Test	p-wartość
			Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Średnia rang		
Gram + cocci (ziarenkowce)	1	4	19,00	5,89	3,75	U Manna-Whitneya	0,165808
	2 i więcej	6	28,17	10,32	6,67		
Gram – cocci (ziarenkowce)	0	2	35,50	16,26	8,00	U Manna-Whitneya	0,239986
	1	8	21,75	6,23	4,86		
Gram + rods (prątki)	0	7	22,71	6,52	5,57	U Manna-Whitneya	1,000000
	1	3	28,67	15,95	5,33		
Gram – rods (prątki)	0	7	22,14	6,47	5,14	U Manna-Whitneya	0,648504
	1	3	30,00	15,13	6,33		

Tabela 2. Wartość NO w zależności od liczby bakterii w grupie „częściowe”

Rodzaj bakterii	Liczba bakterii	N	NO			Test	p-wartość
			Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Średnia rang		
Gram + cocci (ziarenkowce)	1	5	26,60	9,94	6,20	U Manna-Whitneya	0,529620
	2 i więcej	5	26,60	16,29	4,80		
Gram – cocci (ziarenkowce)	1	10	26,60	12,72	–	–	–
Gram + rods (prątki)	0	2	17,50	10,61	2,75	Kruskala-Wallisa	0,1485
	1	6	31,50	13,71	7,00		
	2	2	21,00	5,66	3,75		
Gram – rods (prątki)	0	8	29,88	11,97	6,38	U Manna-Whitneya	0,089649
	1	2	13,50	4,95	2,00		

rodzaj protezy (tab. 4). Wszystkie uzyskane p-wartości są większe niż przyjęty poziom istotności.

Zależność poziomu NO od rodzaju protez

Test Kruskala-Wallisa wykazał występowanie istotnych statystycznie różnic w rozkładzie NO w grupach: z protezą całkowitą, z protezą częściową i kontrolnej. Uzyskana p-wartość

(tab. 5) jest mniejsza niż poziom istotności. Uzupełnieniem wyników liczbowych jest wykres pudełkowy (ryc. 1).

Porównania parami dały następujące rezultaty (tab. 6). Nie ma istotnych statystycznie różnic w rozkładzie NO w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie z protezą częściową. Są istotne statystycznie różnice w rozkładzie NO w grupie z protezą całkowitą

T a b e l a 3. Wartość NO w zależności od liczby bakterii w grupie „kontrola”

Rodzaj bakterii	Liczba bakterii	N	NO			Test	p-wartość
			Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Średnia rang		
Gram + cocci (ziarenkowce)	0	4	16,00	4,76	6,38	Kruskala-Wallisa	0,7198
	1	4	14,75	9,57	5,13		
	2	2	13,00	0,00	4,50		
Gram – cocci (ziarenkowce)	0	5	14,80	4,92	5,50	U Manna-Whitneya	1,000000
	1	5	15,00	8,03	5,50		
Gram + rods (prątki)	0	9	15,11	6,62	–	–	–
	1	1	13,00	–	–		
Gram – rods (prątki)	0	8	15,50	6,85	5,69	U Manna-Whitneya	0,786944
	1	2	12,50	3,54	4,75		

T a b e l a 4. Wartość NO w zależności od liczby bakterii bez podziału na grupy

Rodzaj bakterii	Liczba bakterii	N	NO			Test	p-wartość
			Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Średnia rang		
Gram + cocci (ziarenkowce)	0	4	16,00	4,76	10,63	Kruskala-Wallisa	0,5793
	1	13	20,62	9,58	15,08		
	2	9	26,44	14,61	17,89		
	3 i więcej	4	22,50	8,23	16,38		
Gram – cocci (ziarenkowce)	0	7	22,39	10,53	13,14	U Manna-Whitneya	0,431799
	1	23	20,71	12,74	16,22		
Gram + rods (prątki)	0	18	18,33	7,47	12,86	Kruskala-Wallisa	0,1091
	1	10	28,80	13,91	20,15		
	2	2	21,00	5,66	16,00		
Gram – rods (prątki)	0	23	22,52	10,47	16,33	U Manna-Whitneya	0,363377
	1	7	20,29	12,85	12,79		

oraz w grupie kontrolnej. Wykazano (tab. 5), że wartości NO są mniejsze w przypadku grupy kontrolnej. Te same wnioski dotyczą grupy z protezą częściową, a mianowicie

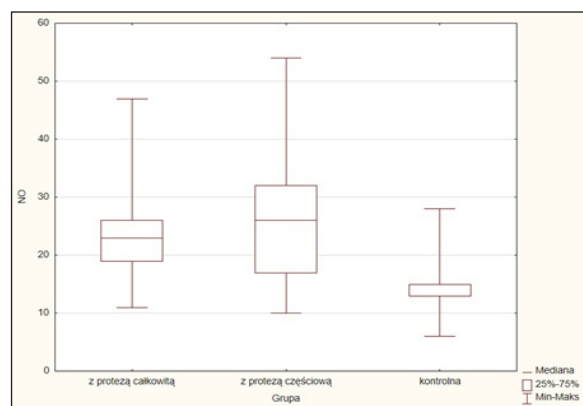
są istotnie statystycznie różnice w rozkładzie NO w grupie z protezą częściową oraz w grupie kontrolnej, gdzie (tab. 5) wartości NO są mniejsze.

Tabela 5. Wartości NO a rodzaj protezy

Grupa	N	NO			Test	p-wartość
		Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Średnia rang		
Z protezą całkowitą	10	24,50	9,65	17,75	Kruskala-Wallisa	0,0319
Z protezą częściową	10	26,60	12,72	19,15		
Kontrolna	10	14,90	6,28	9,60		

Tabela 6. NO a rodzaj protezy – porównania parami (p-wartości testu U Manna-Whitneya)

Badana cecha	Porównywane grupy	z protezą częściową	kontrolna
NO	z protezą całkowitą	0,544593	0,020604
	z protezą częściową	–	0,035463



Ryc. 1. Wartość NO a rodzaj protezy.

Różnice między liczbą bakterii a rodzajem protez

Test Kruskala-Wallisa wykazał istotne statystycznie różnice w liczbie bakterii dla grup: Gram+ (cocci), Gram- (cocci) oraz Gram+ rods, w trzech grupach: z protezą całkowitą, z protezą częściową i kontrolnej. Nie wykazał natomiast istotnych różnic w liczbie bakterii z grupy Gram- rods w trzech badanych grupach. Wyniki przedstawiają tabela 7 oraz rysunki 2-5.

Porównania parami dały następujące rezultaty (tab. 8). Nie ma istotnych statystycznie różnic w liczbie bakterii z grupy „Gram+ (cocci)” w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie z protezą częściową. Są istotne statystycznie różnice w liczbie bakterii z grupy „Gram+ (cocci)” w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie kontrolnej. Zauważono (tab. 7), że bakterii tych jest mniej w przypadku grupy kontrolnej. Te same wnioski dotyczą grupy z protezą częściową, a mianowicie są istotne statystycznie różnice w liczbie bakterii z grupy „Gram+ (cocci)” w grupie z protezą częściową oraz w grupie kontrolnej, gdzie bakterii tych jest mniej (tab. 7).

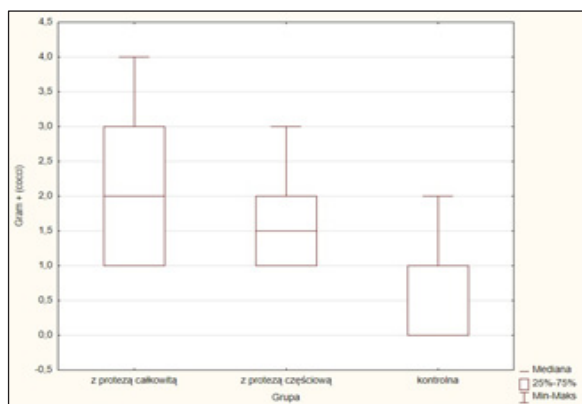
Nie ma istotnych statystycznie różnic w liczbie bakterii z grupy „Gram- (cocci)” w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie z protezą częściową. Nie ma istotnych statystycznie różnic w liczbie bakterii z grupy „Gram- (cocci)” w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie kontrolnej. Są istotne statystycznie różnice w liczbie bakterii z grupy „Gram- (cocci)” w grupie z protezą częściową oraz w grupie

T a b e l a 7. Liczba bakterii a rodzaj protezy

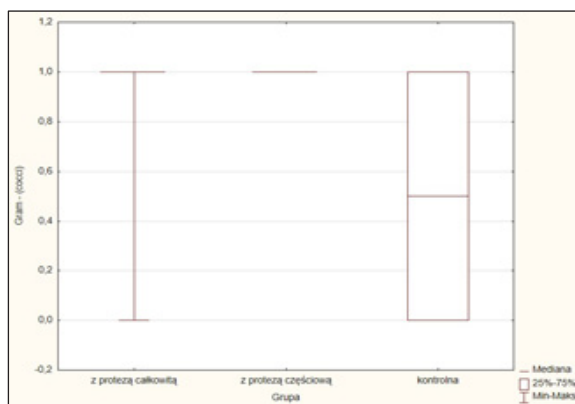
Rodzaj bakterii	Porównywane grupy	N	Liczba bakterii			Test	p-wartość
			Średnia arytmetyczna	Odchylenie standardowe	Średnia rang		
Gram + cocci (ziarenkowce)	z protezą całkowitą	10	2,00	1,05	19,60	Kruskala-Wallisa	0,0232
	z protezą częściową	10	1,60	0,70	17,10		
	kontrolna	10	0,80	0,79	9,80		
Gram – cocci (ziarenkowce)	z protezą całkowitą	10	0,80	0,42	16,00	Kruskala-Wallisa	0,0326
	z protezą częściową	10	1,00	0,00	19,00		
	kontrolna	10	0,50	0,53	11,50		
Gram + rods (prątki)	z protezą całkowitą	10	0,30	0,48	13,70	Kruskala-Wallisa	0,0035
	z protezą częściową	10	1,00	0,67	21,90		
	kontrolna	10	0,10	0,32	10,90		
Gram – rods (prątki)	z protezą całkowitą	10	0,30	0,48	16,50	Kruskala-Wallisa	0,8352
	z protezą częściową	10	0,20	0,42	15,00		
	kontrolna	10	0,20	0,42	15,00		

T a b e l a 8. Liczba bakterii a rodzaj protezy – porównania parami (p-wartości testu U Manna-Whitneya)

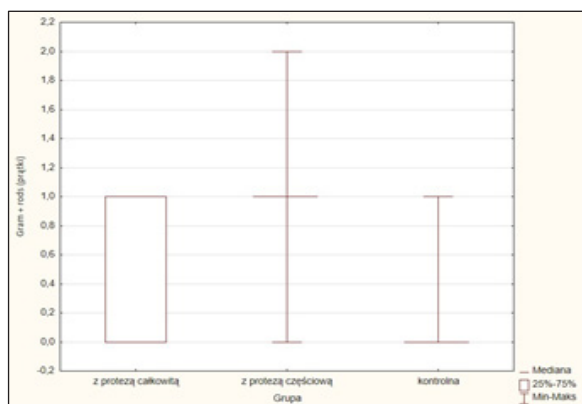
Badany rodzaj bakterii	Porównywane grupy	z protezą częściową	kontrolna
Gram + cocci (ziarenkowce)	z protezą całkowitą	0,472676	0,021135
	z protezą częściową	–	0,039437
Gram – cocci (ziarenkowce)	z protezą całkowitą	0,472676	0,273037
	z protezą częściową	–	0,013653
Gram + rods (prątki)	z protezą całkowitą	0,037636	0,472676
	z protezą częściową	–	0,002562



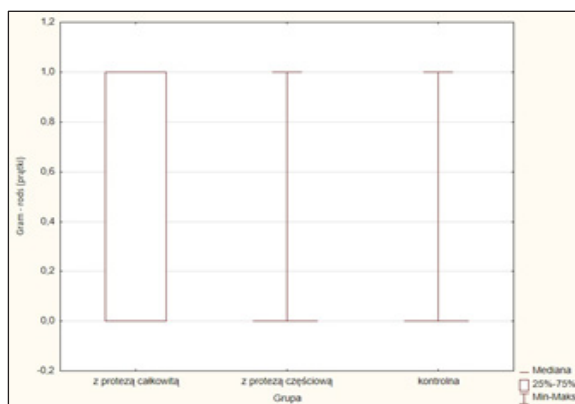
Ryc. 2. Liczba bakterii a rodzaj protezy, bakterie Gram+ cocci (Ziarenkowce).



Ryc. 3. Liczba bakterii a rodzaj protezy, bakterie Gram- cocci (Ziarenkowce).



Ryc. 4. Liczba bakterii a rodzaj protezy, bakterie Gram+ (Prątki).



Ryc. 5. Liczba bakterii a rodzaj protezy, bakterie Gram- (Prątki).

kontrolnej. Okazało się (tab. 7), że bakterii tych jest mniej w przypadku grupy kontrolnej.

Są istotne statystycznie różnice w liczbie bakterii z grupy „Gram+ rods (prątki)” w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie z protezą częściową. Zauważono (tab. 7), że bakterii tych jest mniej w przypadku grupy z protezą całkowitą. Nie ma istotnych statystycznie różnic w liczbie bakterii z grupy „Gram+ rods (prątki)” w grupie z protezą całkowitą oraz w grupie kontrolnej. Są istotne statystycznie różnice w liczbie bakterii z grupy „Gram+ rods (prątki)” w grupie z protezą częściową oraz w grupie kontrolnej. Zaobserwowano (tab. 7), że bakterii tych jest mniej w przypadku grupy kontrolnej.

Dyskusja

W ostatnich latach uznano za nową metodę służącą do monitorowania procesu zapalnego – ocena stężenia NO w wydychanym powietrzu. Podwyższony poziom NO stwierdza się w różnych stanach patologicznych, tj.: astma oskrzelowa, alergiczny nieżyt nosa, eozynofilowe zapalenie oskrzeli, zespół Churg-Straussa, u osób atopowych, a także w zaburzeniach oddychania w czasie snu.^{29,30} Wzrost syntezy NO w przypadkach stanu zapalnego tkanek przyzębia wykazali również AC. Batista i wsp. Pobierali oni wycinki błony śluzowej objętej przewlekłym

zapaleniem przyzębia. Poziom NO był istotnie statystycznie wyższy u pacjentów ze stanem zapalnym.³¹ Również takie schorzenia jamy ustnej, takie jak liszaj płaski, afty nawracające powodują wzrost stężenia NO w wydychanym powietrzu. Wykazali to w swoich badaniach Masaru Ohashi i wsp.³² Podobnie jak w przypadku liszaja płaskiego czy aft nawracających dzieje się w zespole Behceta, który badali Mukaddera Kocak i wsp. Autorzy przedstawili istotnie wyższy poziom NO u pacjentów cierpiących na zespół Behceta.³³ Przeprowadzone poprzednie badania własne wykazały duży wpływ obecności procesu próchnicowego, stanu zapalnego przyzębia oraz braku higieny jamy ustnej na poziom stężenia NO w wydychanym powietrzu.³⁴ Zależność taka również została wykazana wśród pacjentów bezzębnych. Stan higieny protez oraz błony śluzowej podłoża protetycznego znacznie wpływał na oznaczenie w powietrzu markera stanu zapalnego. W przypadku stomatopatii protetycznych wartości NO wynosiły średnio 49 ppb,³⁴ natomiast w przedstawionych w tej pracy badaniach własnych średnie wartości NO były niższe i wynosiły u pacjentów z protezami całkowitymi 24,50 ppb, a z protezami częściowymi 26,60 ppb. Wyszyńska i wsp. opisali przypadek znacznie podwyższonego poziomu NO u pacjenta z zaawansowanym periimplantitis. Po eliminacji ognisk zapalnych w jamie ustnej i przeprowadzonym leczeniu, stężenie NO w wydychanym powietrzu spadło.³⁵ Publikacja dotycząca metod oznaczania poziomu NO w powietrzu pomogła zobrazować fizjologię NO i jego udział w wielu ważnych procesach zachodzących w organizmie człowieka.³⁶ W wielu procesach fizjologicznych NO odgrywa ważną rolę w układach anatomicznych człowieka, a poziom NO wzrasta w przypadkach, gdy występuje stan zapalny. Przedstawione w tej pracy wyniki wskazują, m.in. zależności pomiędzy liczbą bakterii a rodzajem użytkowanych protez. Pacjenci

użytkujący protezy ruchome całkowite i częściowe mają większą liczbę bakterii z grupy Gram+ Cocci, w obrębie której wyizolowano: *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lentus*. Podobna sytuacja jest w przypadku bakterii Gram-Cocci z jedną różnicą, w przypadku protez całkowitych i nie użytkowania w ogóle żadnych uzupełnień protetycznych liczba bakterii Gram-Cocci jest podobna. Gram+ Rods są natomiast bardziej liczne w przypadku użytkowania protez częściowych, wyizolowano: *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium dentium*, *Actinomyces israeli*, *Actinomyces naeslundii*, *Clostridium tertium*, *Clostridium clostridiforme*, które wchodzi w skład fizjologicznej flory bory bakteryjnej jamy ustnej. NO na którym koncentrują się przeprowadzone badania, jest istotnie statystycznie wyższy u pacjentów użytkujących protezy całkowite i protezy częściowe niż w grupie kontrolnej. Taki wynik może wskazywać na obecność bardziej różnorodnej flory bakteryjnej, związanej z użytkowaniem akrylowych protez osiadających. Wartości NO są niższe w przypadku grupy kontrolnej w przeprowadzonych porównaniach.

Brak doniesień w piśmiennictwie dotyczących zależności pomiędzy NO w wydychanym powietrzu a mikrobiomem jamy ustnej u pacjentów użytkujących protezy ruchome nie pozwala na obszerną dyskusję. Potwierdza to jednak konieczność przeprowadzenia dalszych badań i wzbogacenie piśmiennictwa w tej tematyce.

Wnioski

1. W przypadku obecności fizjologicznej flory bakteryjnej jamy ustnej i braku cech

stanu zapalnego u pacjentów z uzębieniem naturalnym poziom NO w wydychanym powietrzu pozostaje niski.

2. U pacjentów użytkujących protezy ruchome zarówno częściowe, jak i całkowite poziom NO jest wyższy.

Piśmiennictwo

1. *Sokołowska M, Włodek L*: Dobre i złe strony tlenu azotu. *Folia Cardiol* 2001; 8, 5: 467-477.
2. *Bartosz G*: Druga twarz tlenu, wolne rodniki w przyrodzie. Warszawa: PWN; 2003.
3. *Beckman J*: Biochemistry of nitric oxide and peroxynitrite. Kubek P wyd. Nitric Oxide: A modulator of cell-cell interactions in the microcirculation. Landes Company, Austin, Texas, USA 1995; 1-18.
4. *Moncada S, Higgs AE*: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
5. *Khasawneh S, al-Wahadni A*: Control of denture plaque and mucosal inflammation in denture wearers. *J Ir Dent Assoc* 2002; 48, 4: 132-138.
6. *Kelm M*: Nitric oxide metabolism and breakdown. *Biochem. Biophys. Acta* 1999; 1411: 273-289.
7. *Marsh N, Marsh AA*: Short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. *Clin. Experimen. Pharmacol Physiol* 2000; 27: 313-319.
8. *Kumor M, Przybyłowski T, Maskey-Warzęchowska M* i wsp.: Powtarzalność pomiaru stężenia tlenu azotu w powietrzu wydechowym (FENO) przeprowadzonego z wykorzystaniem zestawu NIOX u zdrowych osób. *Pneumonol Alergol Pol* 2004; 72: 395-399.
9. *Maniscalco M, Lundberg JO*: Hand-held nitric oxide sensor NIOX MINO® for the monitoring of respiratory disorders. *Expert Rev Respir Med* 2010; 4, 6: 715-721.
10. *Korn S, Telke I, Kornmann O, Buhl R*: Measurement of exhaled nitric oxide: comparison of different analysers. *Respirology* 2010; 15, 8: 1203-1208.
11. *Selby A, Clayton B, Grundy J* i wsp.: Are exhaled nitric oxide measurements using the portable NIOX MINO repeatable? *Respir Res* 2010; 23: 11-43.
12. *Avila M, Ojcius DM, Yilmaz O*: The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA Cell Biol* 2009; 28, 405-411.
13. *Strużycka I*: The oral microbiome in dental caries. *Pol J Micro* 2014; 63: 127-135.
14. *He X, Shi W*: Oral microbiology: past, present and future. *J Oral Science* 2009; 2: 47-58.
15. *Jenkinson HF, Lamont RJ*: Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends Microbiol* 2005; 12: 589-595.
16. *Nelson KE*: Metagenomics of the human body. Springer Science + Business Media. London, 2011.
17. *Beighton D, Gallagher J*, et al.: Isolation and identification of Bifidobacteriaceae from human saliva. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74, 6457-6460.
18. *Kraszewska KB, Preferansow EM, Sierpińska T*: Wpływ oddziaływania protez częściowych osiadających na tkanki podłoża jamy ustnej – przegląd polskiego piśmiennictwa. *Protet Stomatol* 2020; 70(2): 204-209.
19. *Frączak B, Biskup M, Ey-Chmielewska H, Sobolewska E, Szoplińska M, Zawojski R*: Stan błony śluzowej i higieny u pacjentów użytkujących uzupełnienia protetyczne stałe i ruchome na podstawie badań klinicznych i ankietowych. *Protet Stomatol* 1995; XLV, 1: 17-19.
20. *Mierzwińska-Nastalska E, Jaworska-Zaremba M, Błachnio S, Tańska M, Borsuk-Nastaj B, Spiechowicz E*: Profilaktyka stanów zapalnych błony śluzowej jamy ustnej u użytkowników uzupełnień protetycznych – kliniczna i laboratoryjna ocena preparatu Corega Tabs. *Protet Stomatol* 2008; LVIII, 3: 183-193.

21. *Mierzwińska-Nastalska E, Rusiniak K, Gontek R, Okoński P*: Wpływ higieny uzupełnień protetycznych na powstawanie infekcji grzybiczej błony śluzowej jamy ustnej. *Nowa Stomat* 2000; 14: 52-55.
22. *Slotwińska SM, Pierzynowska E, Foik T*: Występowanie grzybów z rodzaju *Candida* w jamie ustnej u pacjentów z zapaleniem dziąseł i zapaleniem przyzębia. *Nowa Stomat* 2000; 13: 51-54.
23. *Dorocka-Bobkowska B, Konopka K*: Powstawanie biofilmu *Candida* i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych – przegląd piśmiennictwa. *Dent Med Probl* 2003; 40: 405-410.
24. *Mierzwińska-Nastalska E, Rusiniak K, Gontek R, Okoński P*: Wpływ higieny uzupełnień protetycznych na powstawanie infekcji grzybiczej błony śluzowej jamy ustnej. *Nowa Stomatol* 2000; 5, 4: 52-55.
25. *Kaczala M, Gmyrek J, Mnichowska-Polanowska M, Giedrys-Kalemba S*: Patomechanizm zakażenia *Candida* w stomatopatiach protetycznych. *Czas Stomatol* 2008; 61, 12: 886-893.
26. *Majewski S, Loster B, Wiśniewska G*: Procedura diagnostyczna i terapeutyczna w przypadkach stomatopatii protetycznych – na podstawie badań własnych i długoczasowych obserwacji klinicznych. *Implantoprotetyka* 2003; 4, 3: 27-34.
27. *Dorocka-Bobkowska B, Szumala-Kąkol A*: Tlenowa flora bakteryjna jamy ustnej pacjentów ze stomatopatią protetyczną – doniesienie wstępne. *Protet Stomatol* 2003; 53, 2: 90-96.
28. *Amaral R, Jácome C, Almeida R, SáSousa A, Pinho B, Guedes R, Jacinto T, Fonseca J*: Reproducibility of the Vivatmo pro measurements for exhaled nitric oxide values. *Eur Respir J* 2019; 54: PA3909.
29. *Przybyłowski T, Bielicki P, Kumor M* i wsp.: Tlenek azotu w powietrzu wydechowym u chorych na obturacyjny bezdech podczas snu. *Pneumonol. Alergol Pol* 2006; 74: 21-25.
30. *Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E* i wsp.: High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1995; 1: 370-373.
31. *Batista AC, Silva TA, Chun JH, Lara VS*: Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Dis* 2002; 8: 254-260.
32. *Ohashi M, Iwase M, Nagumo M*: Elevated production of salivary nitric oxide in oral mucosal diseases. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 355-359.
33. *Kocak M, Erbas D, Karabulut AA, Ozturk G, Eksioglu M*: Behcet's disease and nitric oxide production. *Int J Dermatol* 2003; 42: 244-248.
34. *Wyszyńska M, Czelakowska A, Rój R, Zajac M, Mielnik M, Kasperski J, Skucha-Nowak M*: Measurement of the Level of Nitric Oxide in Exhaled Air in Patients Using Acrylic Complete Dentures and with Oral Pathologies. *Coatings* 2021; 11: 169.
35. *Wyszyńska M, Rosak P, Czelakowska A, Białożył-Bujak E, Kasperski J, Łopaciński M, Al Khatib N, Skucha-Nowak M*: Pilot Study of Use of Nitric Oxide in Monitoring Multiple Dental Foci in Oral Cavity – A Case Report. *Healthcare* 2022; 10: 195.
36. *Wyszyńska M, Nitsze-Wierzba M, Czelakowska A, Kasperski J, Żywiec J, Skucha-Nowak M*: An Evidence-Based Review of Application Devices for Nitric Oxide Concentration Determination from Exhaled Air in the Diagnosis of Inflammation and Treatment Monitoring. *Molecules* 2022; 27: 4279.

Zaakceptowano do druku: 4.08.2023 r.

Adres autorów: 40-088 Katowice, ul. Poniatowskiego 15.

© Zarząd Główny PTS 2023.