

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

Ewa Michalak

**Wpływ niechirurgicznego leczenia chorób przyzębia  
na poziom neopteryny w ślinie osób palących i niepalących tytoń**

*Praca doktorska*

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Maria Chomyszyn-Gajewska

Pracę wykonano w Katedrze i Zakładzie Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej Instytutu Stomatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

P.o. Kierownika Katedry Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej IS UJ CM:  
dr hab. n. med. Tomasz Kaczmarzyk, prof. UJ

P.o. Kierownika Zakładu Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej IS UJ CM:  
dr n. med. Dagmara Darczuk

Kraków, 2018 rok

*Promotorowi mojej pracy,  
Pani prof. dr hab. n. med. Marii Chomyszyn-Gajewskiej,  
składam serdeczne podziękowania za opiekę  
w realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej.*

*Szczególne podziękowania należą się  
Pani dr Dorocie Pawlica-Gosiewskiej  
za biochemiczne oznaczenie poziomu neopteryny  
oraz Pani dr Magdalenie Kozela  
za pomoc w opracowaniu statystycznym wyników.*

*Pragnę także podziękować moim Rodzicom  
oraz pracownikom Katedry i Zakładu Periodontologii  
i Klinicznej Patologii jamy Ustnej  
za wiarę w moje możliwości nawet wtedy,  
kiedy sama w sobie wątpiłam.*

# Spis treści

Spis treści.....	3
Lista stosowanych skrótów.....	5
1. Wstęp.....	6
1.1 Definicja zapalenia przyzębia.....	6
1.2 Epidemiologia choroby przyzębia.....	7
1.3 Etiopatogeneza chorób przyzębia.....	9
1.3.1 Mikrobiologia.....	9
1.3.2 Odpowiedź immunologiczno-zapalna.....	10
1.3.3 Czynniki ryzyka zapalenia przyzębia.....	11
1.3.3.1 Niemodyfikowalne czynniki ryzyka zapaleń przyzębia.....	11
1.3.3.2 Modyfikowalne czynniki ryzyka zapaleń przyzębia.....	12
1.4 Klasyfikacja zapaleń przyzębia.....	18
1.5 Diagnostyka zapaleń przyzębia.....	19
1.6 Objawy zapalenia przyzębia.....	20
1.7 Profilaktyka i leczenie zapaleń przyzębia.....	21
1.7.1 Profilaktyka.....	21
1.7.2 Leczenie.....	22
1.8 Ślina.....	23
1.9 Neopteryna.....	23
1.9.1 Tło historyczne.....	23
1.9.2 Budowa neopteryny.....	24
1.9.3 Wytwarzanie neopteryny.....	24
1.9.4 Zastosowanie neopteryny.....	25

2. Cel pracy.....	28
3. Materiał i metoda.....	29
3.1 Materiał.....	29
3.2 Procedura badania.....	31
3.3 Analiza statystyczna.....	35
4. Wyniki badań.....	36
4.1 Prezentacja badanych grup.....	36
4.2 Stan przyzębia badanych grup.....	38
4.2.1 Stan przyzębia badanych grup podczas I badania.....	38
4.2.2 Stan przyzębia badanych grup podczas II badania.....	40
4.2.3 Stan przyzębia badanych grup podczas III badania.....	41
4.3 Neopteryna.....	42
4.3.1 Neopteryna a nałóg palenia papierosów.....	42
4.3.2 Korelacja stężenia neopteryny z wybranymi wskaźnikami.....	43
4.4 Efektywność zastosowanego leczenia.....	44
5. Dyskusja.....	46
5.1 Wpływ niechirurgicznego leczenia <i>periodontitis</i> na poziom neopteryny u palaczy i u osób niepalących.....	46
5.2 Różnice w stanie zdrowia palaczy i osób niepalących na podstawie wybranych wskaźników periodontologicznych.....	48
5.3 Różnice w efektywności zastosowanego leczenia <i>periodontitis</i> u palaczy i u osób niepalących.....	50
5.4 Korelacja poziomu neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi.....	50
6. Wnioski.....	52
7. Streszczenie pracy.....	53
8. Summary.....	55
9. Piśmiennictwo.....	57
10. Aneks.....	70

11. Spis tabel.....	73
12. Spis rycin.....	74

## Lista stosowanych skrótów

- AAP – Amerykańska Akademia Periodontologiczna (ang. *The American Academy of Periodontology*)
- API - wskaźnik płytki bakteryjnej powierzchni stycznych (ang. *Aproximal Plaque Index*)
- BH<sub>4</sub> - 5, 6, 7, 8 – tetrahydrobiopteryna
- BMI - wskaźnik masy ciała (ang. *Body Mass Index*)
- CAL - kliniczna utrata przyczepu łącznotkankowego (ang. *Clinical Attachment Loss*)
- CEJ - połączenie szkliwno-cementowe (ang. *Cemento-Enamel Junction*)
- CPI/CPITN - wskaźnik potrzeb periodontologicznych według Ainamo (ang. *Community Periodontal Index for Treatment Needs*)
- GCF – płyn z kieszonki dziąsłowej (ang. *Gingival Crevicular Fluid*)
- GCH-I - GTP-cyklohydroksylaza I
- GI - wskaźnik dziąsłowy (ang. *Gingival Index*)
- GTP – guanozynotrifosforan (ang. *Guanosine-5'-triphosphate*)
- IgA – immunoglobulina A (ang. *Immunoglobulin A*)
- IgG - immunoglobulina G (ang. *Immunoglobulin G*)
- Il – interleukina (ang. *Interleukin*)
- IFN – interferon (ang. *Interferon*)
- mSBI - zmodyfikowany wskaźnik krwawienia z kieszonek przyzębnych (ang. *Modified Sulcus Bleeding Index*)
- NHANES - *The National Health and Nutrition Examination Survey*
- PD – głębokość kieszonki dziąsłowej według Löe i Silnessa (ang. *Pocket Depth*)
- PGE<sub>2</sub> – prostaglandyna E<sub>2</sub> (ang. *Prostaglandin E<sub>2</sub>*)
- PGI<sub>2</sub> – prostacyklina, epoprostenol (ang. *Prostacyclin, Prostaglandin I<sub>2</sub>*)
- pH - wykładnik jonów wodorowych, wielkość stosowana do określania odczynu roztworu (łac. *potentia hydrogenii*)
- PUW - intensywność próchnicy
- TNF - czynnik martwicy nowotworu (ang. *Tumor Necrosis Factor*)
- GR - reduktaza glutationu (ang. *Glutation Reductase*)

PTX3 - pentraksyna-3 (ang. *Pentraxin 3*)

WZW – wirusowe zapalenie wątroby (ang. *Viral hepatitis*)

# 1. Wstęp

## 1.1 Definicja zapalenia przyzębia

Zapalenie przyzębia (*periodontitis*) to uwarunkowana zapalnie choroba tkanek mocujących zębów, w której dochodzi do destrukcji podłoża kostnego oraz utraty przyczepu łącznotkankowego. W ten sposób powstaje patologiczna kieszonka, która staje się miejscem bytowania bakterii patogennych mogących przyczynić się do dalszej progresji schorzenia (1). Kieszonka przyzębna pogłębia się wraz ze zniszczeniem więzadeł ozębnej i resorpcją wyrostka zębodołowego. Zapalenie rozprzestrzenia się od dziąsła w kierunku głębiej położonych tkanek trzema drogami:

1. przez kość wyrostka zębodołowego
2. przez dziąsło właściwe
3. przez włókna ozębnej.

Wraz z postępem choroby zębów ulega rozchwianiu, a następnie pacjent go traci (2). Progresja choroby zależy od osobniczej podatności gospodarza, jego wrodzonej i nabytej odporności immunologicznej oraz od wpływu czynników środowiskowych, np. stresu czy palenia papierosów (3).

Niektórzy badacze określają chorobę przyzębia jako wrodzone bądź nabyte zmiany patologiczne w tkankach podtrzymujących zębów (dziąsło, cement, kość wyrostka) (4). Inni definiują *periodontitis* jako przewlekłe zakaźne schorzenie spowodowane przede wszystkim przez bakterie. Według oportunistycznej koncepcji infekcji powstanie i przebieg kliniczny zapalenia przyzębia zależą od interakcji pomiędzy drobnoustrojami a tzw. czynnikami gospodarza. Natomiast w modelu patogenezy zapalenia przyzębia wg Page'a i Kornmana główną rolę odgrywa odpowiedź immunologiczno-zapalna oraz wpływ na nią czynników genetycznych. Obecnie uważa się, że rozwój *periodontitis* zależy od współistnienia czynników środowiskowych z wieloma genami (5).

## 1.2 Epidemiologia choroby przyzębia

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) choroby przyzębia stanowią znaczącą składową chorób jamy ustnej. Jednakże uważa się, że programy zdrowotne poszczególnych państw przykładają zbyt małą uwagę do tego schorzenia. Choroba przyzębia, obok próchnicy, jest jedną z głównych przyczyn utraty zębów, zwłaszcza u osób starszych. Następstwa *periodontitis* mają znaczący wpływ na jakość życia, dlatego zapobieganie im powinno stać się ważną częścią narodowych programów zdrowotnych (6). Istnieje potrzeba zwiększenia świadomości społeczeństwa na temat chorób przyzębia i właściwej higieny jamy ustnej. W opiece dentystycznej warto zatem kłaść większy nacisk na profilaktykę i leczenie chorób przyzębia (7). *Periodontitis* jest jedną z dwóch najczęstszych chorób jamy ustnej, które dotyczą populację ludzką na całym świecie. Prowadzone są liczne badania na temat rozpowszechnienia, a także stopnia zaawansowania periodontopatii (8, 9, 10).

Zaawansowana choroba przyzębia obejmuje 5-15% populacji. (11, 12). Choroba przyzębia bez podziału na stopień zaawansowania dotyczy większości (48-70%) badanej populacji (13), przede wszystkim dorosłych i osób starszych. Prowadzi ona do przedwczesnej utraty zębów (14). Szacuje się, że na *periodontitis* cierpi 11-50% mieszkańców Ziemi (14, 15).

Przewlekła choroba przyzębia może pojawić się w każdym wieku, ale najczęściej występuje u dorosłych i seniorów na całym świecie. W niektórych populacjach wskaźnik częstości występowania wynosi 70% (16). W krajach uprzemysłowionych stwierdza się mniejszy stopień zaawansowania chorób przyzębia (2). W badaniu przeprowadzonym w Brazylii odnotowano duże rozbieżności statystyczne w zależności od regionu i statusu socjoekonomicznego. Najgorszy stan przyzębia mieli ludzie w wieku 65-75 lat, u których tylko 1% badanych sekstantów nie wykazywał oznak choroby (17). W Indiach 95% populacji cierpi z powodu chorób przyzębia, a stopień zaawansowania jest związany nie tylko z wiekiem, ale także z podatnością genetyczną i obecnością czynników ryzyka (18). To kraj, gdzie tylko 50% mieszkańców używa szczoteczki do zębów, a jedynie 2% uczęszcza na wizyty do lekarza dentysty (19).

Około 48% mieszkańców USA zapada na choroby przyzębia (21). Podczas badania NHANES III (The National Health and Nutrition Examination Survey) przeprowadzanego w latach 1988–1994 oraz NHANES w latach 1999–2004, oprócz innych parametrów określano również stan przyzębia. Badanie miało na celu ocenę stanu zdrowia i odżywienia mieszkańców USA. Przeprowadzono zarówno badania ankietowe, jak i kliniczne. Na przestrzeni badanych lat zwiększyła się liczba osób z chorobą przyzębia. Nastąpił także wzrost wartości klinicznych wskaźników periodontologicznych takich jak PD (głębokość kieszonki dziąsłowej według Löe i Silnessa ang. *Pocket Depth*) czy CAL (kliniczna utrata przyczepu łącznotkankowego (ang. *Clinical Attachment Loss*) (20). Również we Włoszech choroba przyzębia dotyczy znacznej części społeczeństwa. Zaawansowane lub umiarkowane *periodontitis* ma tam 34,94% mieszkańców. Częściej występuje ono u osób palących oraz w grupie wiekowej powyżej 50. roku życia (21).

Pierwsze badania epidemiologiczne dorosłych Polaków z użyciem wskaźnika CPITN przeprowadzono w roku 1987 pod kierownictwem prof. Zbigniewa Jańczuka. Zdrowe przyzębie stwierdzono tylko u 1% badanych, a kompleksowego leczenia zapaleń przyzębia wymagało 15% pacjentów (22). Następne badanie epidemiologiczne przeprowadził dr Franciszek Szatko w 1990 roku; zdrowe przyzębie stwierdzono wówczas u 9% badanych (23, 24). Kolejne polskie badanie miało miejsce w 1995 roku, również pod kierunkiem prof. Zbigniewa Jańczuka. Wykazano poprawę stanu przyzębia pacjentów w odniesieniu do badania wyjściowego z 1987 roku. Zdrowe przyzębie zaobserwowano u 6,3% badanych, a tylko 5% wymagało kompleksowego leczenia zapaleń przyzębia (25). Wyniki ostatnich ogólnopolskich badań periodontologicznych opublikowano w 2003 roku. Zdrowe przyzębie stwierdzono u 14,1% badanych i tylko 2,2% potrzebowało jego kompleksowego leczenia [26]. Stan przyzębia Polaków w wieku 35–44 lat jest jednym z najgorszych w Europie. W tej grupie wiekowej nastąpiło pogorszenie nawet w odniesieniu do najstarszych badań z 1987 roku. Zaledwie 1% badanych nie ma patologicznych objawów periodontologicznych, natomiast aż 16% to osoby z zaawansowanym zapaleniem przyzębia (24).

W badaniu przeprowadzonym na populacji młodych dorosłych w Polsce w 2012 roku wykazano, że jedynie 0,5% potrzebowało kompleksowego leczenia periodontologicznego (27). Na podstawie wyników badania przeprowadzonego w 2015 roku stwierdzono, że stan przyzębia Polaków w wieku 65–75 lat pogorszył się od początku XXI wieku. Odsetek osób ze wskaźnikiem potrzeb periodontologicznych CPI3 i CPI 4 wyniósł 41,5%, podczas gdy w roku 2002 grupa ta obejmowała 14%, a w roku 2009 – 9,2% badanych. Zmniejszył się natomiast



odsetek osób bezzębnych z 41,6% (2002 rok) czy 43,9% (2009 rok) do 28,9%. W porównaniu z innymi krajami europejskimi lepszy stan przyzębia był odnotowany na Węgrzech (CPI3+4 – 59,9%) czy w Hiszpanii (CPI3+4 – 38%); gorszy natomiast w Grecji (CPI3+4 – 37,2%), Bułgarii (CPI3+4 – 63,2%), Danii (CPI3+4 – 66%) i Niemczech (CPI3+4 – 87,8%) (28).

## 1.3 Etiopatogeneza chorób przyzębia

W 1965 roku Loë i wsp. przeprowadzili eksperyment, w którym wykazali, że bakterie wywołują periodontopatię, a ich eliminacja prowadzi do wyleczenia zapalenia dziąseł. Do dziś obowiązuje teoria ekologicznej płytki nazębnej Marsha, w której wystąpienie jak i przebieg *periodontitis* zależy od interakcji pomiędzy biofilmem a czynnikami gospodarza i środowiskiem. W 1997 roku Page i Korman zaproponowali model zapalenia przyzębia z główną rolą odpowiedzi immunologiczno-zapalnej, na którą mają wpływ czynniki genetyczne. Obecnie przyjmuje się teorię, że *periodontitis* zależy od współdziałania czynników środowiskowych z czynnikami genetycznymi. Według tej teorii podatność na tę chorobę to zależność od wielu *loci* genowych, które w połączeniu z działaniem patogenów w jamie ustnej i z innymi czynnikami środowiskowymi prowadzą do powstania zapalenia przyzębia (29).

### 1.3.1 Mikrobiologia

Biofilm bakteryjny to wielodrobnoustrojowa i złożona struktura, która może powstawać zarówno na powierzchni zębów, jak i znajdujących się w jamie ustnej materiałów stomatologicznych. Ma większą odporność na czynniki zewnętrzne niż pojedyncze kolonie bakterii. Bezpośrednio po szczotkowaniu tworzy się osłonka nabyta składająca się z glikoprotein śliny, do której przyczepiają się pierwsze bakterie. Następuje namnażanie Gram-dodatnich paciorkowców i pałeczek. Do pogrubienia płytki nazębnej dochodzi dzięki produkcji polisacharydów przez paciorkowce, a także namnażania się i przyczepiania kolejnych gatunków bakterii. Z biegiem czasu w płytce zwiększa się liczba beztlenowców. Powstały biofilm naddziąsłowy chroni patogeny przed czynnikami antybakteryjnymi śliny oraz środkami do higieny jamy ustnej. W płytce dochodzi do krystalizacji soli mineralnych ze śliny i tworzenia się kamienia naddziąsłowego, który tworzy się w wyniku nieprawidłowej higieny jamy ustnej. Do czynników predysponujących należą stłoczenia zębów, aparaty ortodontyczne, ubytki próchnicowe, nieprawidłowo wykonane wypełnienia oraz uzupełnienia protetyczne. Wraz z pogłębieniem się kieszonki przyzębnej dochodzi do powstania płytki poddziąsłowej składającej się głównie z Gram-ujemnych pałeczek i krętków. Również poddziąsłowo następuje mineralizacja i

powstawanie kamienia nazębnego. Bakterie obecne w płytce niszczą bezpośrednio i pośrednio tkanki przyzębia oraz hamują odpowiedź immunologiczno-zapalną. Periopatogeny wykazują chorobotwórczość tylko w przypadku podatności gospodarza. Dochodzi do zmiany składu ilościowego i jakościowego mikroflory jamy ustnej – do dysbiozy. W kieszonkach następuje zamiana Gram-dodatnich tlenowych symbiontów na Gram-ujemne beztlenowe periopatogeny, tj. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* i *Fusobacterium nucleatum* (29).

Choroba przyzębia rozwija się w wyniku zakłócenia równowagi pomiędzy drobnoustrojami płytki nazębnej a mechanizmami obronnymi gospodarza, które modyfikowane są przez czynniki ryzyka. W zdrowym organizmie człowieka bakterie kontrolowane są przez mechanizmy obronne i nie powodują destrukcji tkanek przyzębia. Istnieją następujące bariery ochronne zabezpieczające przed działaniem bakterii płytki i ich metabolitów:

- 1) ciągłość błony śluzowej
- 2) stałe złuszczenie powierzchniowych warstw nabłonka powodujące usuwanie bakterii z powierzchni błony śluzowej
- 3) mechanizmy obronne śliny
  - ciągły przepływ śliny powodujący wypłukiwanie bakterii
  - lizozym przyczyniający się do rozkładu ścian komórkowych (przede wszystkim bakterii Gram-dodatnich)
  - laktoferyna wiążąca żelazo niezbędne do rozwoju wielu gatunków bakterii
  - sIgA neutralizująca egzotoksyny bakteryjne oraz mająca działanie opsonizujące i aglutynujące
- 4) odporność nieswoista (wrodzona):
  - działalność fagocytów
  - układ dopełniacza
- 5) odporność swoista (nabyta):
  - zdolność selektywnego rozpoznawania antygeny
  - swoistość reakcji
  - pamięć immunologiczna (30).

## 1.3.2 Odpowiedź immunologiczno-zapalna

W chorobie przyzębia dochodzi do upośledzenia działania neutrofilów np. poprzez zmniejszenie ekspresji receptorów odpowiedzialnych za fagocytozę. Głównymi komórkami pierwszej linii obrony układu odpornościowego są granulocyty obojętnochłonne, które odpowiadają za adhezję, chemotaksję, fagocytozę i zabijanie bakterii. Makrofagi fagocytują oraz prezentują antygeny komórkom typu T i B, a także produkują i wydzielają mediatory prozapalne oraz chemokiny. Badania dowodzą, że w zapaleniu przyzębia obecny jest nadreaktywny fenotyp makrofagów wydzielający  $IL-1\beta$  i  $PGE_2$ . Limfocyty T są komórkami efektorowymi odporności komórkowej, które są odpowiedzialne za wydzielanie interleukin. Powodują one odpowiedź immunologiczną, która może zarówno kontrolować periopatogeny, jak i niszczyć tkanki. Limfocyty B wytwarzają swoiste przeciwciała. W naciekach zapalnych dochodzi do ich proliferacji, dojrzewania i różnicowania w kierunku plazmocytoz, które zwiększają aktywność metaloproteinaz (29, 31). Makrofagi i neutrofile pojawiają się bardzo szybko i zaczynają unieszkodliwiać patogeny. Obronną reakcją organizmu jest pojawienie się stanu zapalnego (zwiększa się przepływ krwi przez naczynia, następuje wzrost przepuszczalności naczyń włosowatych oraz napływ leukocytów do tkanek). Przewlekłe zapalenie przyzębia rozwija się, gdy następuje wzrost liczby periopatogenów, w związku z niewystarczającą odpowiedzią immunologiczną gospodarza. Zwiększa się liczba limfocytów i makrofagów, a dalszy rozwój stanu zapalnego prowadzi do destrukcji tkanek przyzębia (32).

## 1.3.3 Czynniki ryzyka zapalenia przyzębia

### 1.3.3.1 Niemodyfikowalne czynniki ryzyka zapalenia przyzębia

#### Wiek

Wraz z wiekiem zwiększa się zarówno częstość, jak i stopień zaawansowania choroby. Związane jest to z kumulowaniem się w czasie różnego rodzaju czynników ryzyka u danej osoby. Jedynie w najstarszych populacjach choroba przyzębia może nie występować, co jest powiązane z całkowitą utratą zębów (29).

## **Płeć**

Występowanie i zaawansowanie zapalenia przyzębia w różnych populacjach jest znamienne większe u mężczyzn. Wpływ na ten fakt mogą mieć hormony (testosteron), ale przede wszystkim gorsza higiena jamy ustnej czy częstsze uzależnienie od papierosów wśród mężczyzn (33, 34).

## **Rasa**

Istnieją różnice w występowaniu zapalenia przyzębia pomiędzy rasami. W badaniu NHANES, prowadzonym w USA w latach 2009–2010, stwierdzono *periodontitis* aż u 70,4% Meksykoamerykanów i u 41,5% niehiszpańskich białych. Być może jest to związane z różnicami w statusie socjoekonomicznym poszczególnych ras. Poza tym rasa czarna ma większą skłonność do występowania agresywnego zapalenia przyzębia (29).

## **Czynnik genetyczny**

Istnieją choroby dziedziczne, np. zespół Ehlersa-Danlosa czy Papillona-Lefevre'a, które predysponują do rozwoju chorób przyzębia. Również polimorfizmy genetyczne mogą wywoływać zmiany funkcji białek lub ich ekspresji, powodując zmiany w mechanizmach nieswoistej i swoistej odpowiedzi immunologicznej na periopatogeny, a tym samym determinując rozwój i przebieg *periodontitis*. Przebieg kliniczny przewlekłego *periodontitis* w 50% zależy od czynników genetycznych (29). Dla rasy kaukaskiej najsilniejszym determinantem genetycznym wpływającym na przebieg przewlekłego zapalenia przyzębia jest nosicielstwo allelu 2 dla IL1A-889 i IL1B+3953 na chromosomie 2q13-q21 (35).

### **1.3.3.2 Modyfikowalne czynniki ryzyka zapaleń przyzębia**

#### **Periopatogeny**

Drobnoustroje są koniecznym, ale niewystarczającym czynnikiem wywołującym *periodontitis*, gdyż ich obecność w jamie ustnej nie musi wywoływać choroby. Również niektóre wirusy (np. cytomegalii) mogą wpływać na progresję zapalenia. Obecny stan wiedzy i liczba metod diagnostycznych pozwalają dokładniej określić skład biofilmu jamy ustnej (36).

#### **Choroby ogólnoustrojowe**

Cukrzyca jest jednym z głównych czynników ryzyka w rozwoju *periodontitis*; znajduje się ono na szóstym miejscu wśród powikłań cukrzycy (29, 37, 38). W badaniach na myszach chorych na

cukrzycę stwierdzono znacząco większe ryzyko wystąpienia zapalenia przyzębia, w szczególności powodowanego przez *Porphyromonas gingivalis* (39). U cukrzyków–stwierdzono trzy-czterokrotnie częstsze ryzyko wystąpienia *periodontitis* oraz cięższy przebieg choroby. Przewlekła hiperglikemia powoduje zwiększoną odpowiedź układu immunologicznego, co prowadzi do wzrostu osteoklastogenezy i apoptozy osteoblastów (40). Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy brakiem kontroli metabolicznej a stopniem destrukcji kości (41). Choroba przyzębia u osób z cukrzycą jest wynikiem zwiększonej podatności na infekcje, współistniejących zaburzeń immunologicznych, zwiększonej aktywności kolagenazy i mikronagiopatii (30). Zaawansowana choroba przyzębia może prowadzić do gorszej kontroli poziomu glikemii (42).

W 2016 roku w Korei Południowej prowadzono badanie National Health Insurance Service-National Sample Cohort (NHIS–NSC) w celu określenia powiązania *periodontitis* z niektórymi chorobami ogólnoustrojowymi. Stwierdzono, że jego częstość wzrasta u osób z cukrzycą, nadciśnieniem i hiperlipidemią (43). Zapalenie przyzębia towarzyszy również takim chorobom ogólnym, jak: rodzinna łagodna przewlekła neutropenia, przewlekła choroba ziarniniakowa, niedobory cząsteczek adhezyjnych, zespół Chediaka-Higashiego, zespół Downa i histiocytoza (29).

### **Otyłość**

U osób z nadwagą, a także wraz ze wzrostem BMI, występuje zwiększone ryzyko rozwoju *periodontitis* (44). Otyłych ludzi charakteryzuje gorszy stan tkanek przyzębia (45), co związane jest z podwyższeniem poziomu mediatorów prozapalnych, białek ostrej fazy i liczby leukocytów oraz wzrostem stężenia końcowych produktów glikacji czy nasileniem stresu oksydacyjnego (29).

### **Status socjalno-ekonomiczny**

Istnieje związek pomiędzy niższym wykształceniem a gorszym stanem przyzębia (46). Wśród Amerykanów z wyższym wykształceniem *periodontitis* występuje u 40,5% obywateli, natomiast wśród osób z niższym wykształceniem u 66,7% (47). W polskim badaniu Górskiego i wsp. z 2015 roku osoby o mniejszych dochodach i niższym poziomie wykształcenia chorowały na zapalenie przyzębia częściej niż osoby o wyższych dochodach i wykształceniu akademickim. Analiza zależności między statusem periodontologicznym (wskaźniki BOP, PD i CAL) a dochodem oraz wykształceniem wykazała dodatnią korelację (48). Osoby o niższym statusie społecznym cechuje gorsza higiena jamy ustnej, częściej stosują używki (np. papierosy) lub źle się odżywiają. W związku z niższym statusem finansowym rzadziej zgłaszają się do stomatologa (30).

## Stres

Stres, lęk i depresja mogą zaostrzać przebieg kliniczny zapalenia przyzębia i pogarszać odpowiedź na leczenie. Wyjaśnieniem takiego powiązania może być wpływ glikokortykosteroidów i katecholamin uwalnianych podczas stresu na czynniki immunologiczne i prozapalne. Stres wiąże się także z wystąpieniem innych czynników ryzyka, takich jak palenie papierosów lub zła higiena jamy ustnej (49).

## Palenie papierosów

Tytoń jest jedną z najczęściej używanych substancji uzależniających. Pali go obecnie ponad bilion mieszkańców Ziemi (50). Szacuje się, że rocznie jest on przyczyną śmierci 6,3 miliona osób na świecie. Co 6,5 sekundy na powikłanie związane z paleniem tytoniu umiera jedna osoba (51). W 2013 roku do nałogowego palenia przyznało się 27% Polaków (31% mężczyzn oraz 23% kobiet). Natomiast wśród tzw. okazjonalnych palaczy znajdowało się 3% mężczyzn oraz 2% kobiet (52).

Pindborg (1947 rok) był pierwszym badaczem, który wykazał powiązanie palenia papierosów z *periodontitis* (2, 53). Oszacowano, że nałóg ten odpowiada przynajmniej za połowę przypadków tej choroby. Badania pokazują, że palenie papierosów jest silniejszym czynnikiem ryzyka niż obecność periopatogenów (54). *Periodontitis* występuje u 54,2% palaczy i u 16,7% osób niepalących (55).

Nikotyna ma negatywny wpływ na przyzębie poprzez:

- zwiększenie procesu powstawania płytki naddziąsłowej oraz ilościowe i jakościowe zmiany w biofilmie poddziąsłowym (dotyczące periopatogenów)
- zwiększanie tempa gromadzenia się kamienia nazębnego
- immunomodulację odpowiedzi gospodarza w kierunku promocji procesów destrukcyjnych tkanki łącznej i kości
- nasilenie negatywnego wpływu czynników genetycznych
- działanie obkurczające naczynia
- upośledzanie procesów gojenia (2, 29).

W dymie tytoniowym znajduje się wiele związków chemicznych, z których przeważająca część ma silne właściwości toksyczne, cytotoksyczne, mutagenne i karcinogenne (56). Głównym aktywnym składnikiem dymu papierosowego jest nikotyna, która wykazuje

działanie pobudzające na OUN, przez co ma silne i szybkie działanie uzależniające (57). Dzięki badaniom biochemicznym i immunochemicznym udało się ustalić podstawowe szlaki metaboliczne, którym podlega ona w organizmie człowieka. Nikotyna może być absorbowana przez skórę, układ pokarmowy, oddechowy i wydalniczy. Badania eksperymentalne wykonane *in vitro* oraz *in vivo* wykazały, że nikotyna ulega dystrybucji do wszystkich tkanek ustroju ludzkiego, w tym bardzo szybko dociera do komórek mózgowych. Jeden z mechanizmów działania polega na zwiększeniu liczby receptorów acetylocholinowych, co przyczynia się do powstania uzależnienia od nikotyny. Podwyższenie poziomu dopaminy powoduje chęć zapalenia papierosa. Ten neuroprzekaźnik, potocznie nazywany hormonem szczęścia, warunkuje dobre samopoczucie, dodaje energii i odpowiada za odczuwanie przyjemności. Palenie zmniejsza uczucie zmęczenia i głodu, polepsza zdolność zapamiętywania. Z czasem dochodzi do spadku wrażliwości na składniki dymu tytoniowego i do osiągnięcia danego efektu potrzebna jest coraz większa ich dawka (56, 58, 59, 60).

Nikotyna jest jednym z ważniejszych czynników ryzyka chorób jamy ustnej, powodując zmiany na błonie śluzowej, występowanie nowotworów i choroby przyzębia (61, 62). Od wielu lat znane jest powiązanie chorób przyzębia z uzależnieniem od tytoniu (63). U palaczy ryzyko *periodontitis* wzrasta pięć-dwudziestokrotnie. U nikotynistów stwierdza się większe ryzyko wystąpienia bardziej zaawansowanego klinicznie przebiegu przewlekłego oraz uogólnionego agresywnego zapalenia przyzębia (62). Niektóre badania dowodzą, że nikotyna ma gorszy wpływ na tkanki przyzębia u mężczyzn, u których dochodzi do szybszej utraty zębów. Im więcej dziennie wypalanych papierosów i im dłużej trwa nałóg, tym bardziej zaawansowany jest przebieg choroby (64, 65). Ryzyko wystąpienia *periodontitis* wśród osób palących ponad trzydzieści papierosów na dobę jest sześciokrotnie większe niż u sporadycznych palaczy (61). Ryzyko znacznej utraty przyczepu łącznotkankowego u osób palących mało jest dwukrotnie większe niż u osób niepalących, natomiast u nałogowych palaczy prawie pięciokrotnie większe (66). Nikotyniści mają głębsze kieszonki patologiczne, większą destrukcję kości wyrostka zębodołowego i szybciej tracą zęby, natomiast kliniczne objawy zapalenia są słabsze (29, 53). U palaczy dochodzi siedem razy szybciej do utraty kości wyrostka zębodołowego (67). Zawartość mineralna kości u palaczy jest o 10-30% mniejsza w porównaniu z osobami niepalącymi. Być może ma to związek z wpływem nikotyny na metabolizm witaminy D lub poziomu hormonów w organizmie (68).

W tkankach przyzębia osób palących papierosy zachodzi co najmniej kilka mechanizmów patologicznych (69, 70, 71). Przewlekła ekspozycja na substancje chemiczne znajdujące się w

dymie papierosowym powoduje zmiany cytologiczne w komórkach, co prowadzi do uszkodzenia tkanek jamy ustnej. Palacze mają obniżony poziom immunoglobulin w ślinie, co osłabia możliwości obrony przed bakteriami w jamie ustnej. Palenie wpływa także na komórki odpowiedzi immunologicznej gospodarza, powodując ograniczenie zdolności do usuwania drobnoustrojów (72). Spada proliferacja limfocytów T i B, co zmniejsza produkcję ochronnych przeciwciał (73). Palenie powoduje produkcję cytokin, neutrofilii i innych komórek układu odpornościowego. Upośledzona zostaje chemotaksja i fagocytoza przez komórki żerne, które stanowią pierwszą linię obrony ustroju. Spadek wydzielania immunoglobuliny IgA i IgG wpływa negatywnie na odpowiedź humoralną na antygeny płytki bakteryjnej (56). Palenie wpływa także na metabolizm tkanki łącznej oraz proliferację osteoblastów (74). Dochodzi do aktywacji monocytów, co prowadzi do wzrostu wytwarzania cytokin: IL-1B, IL-6, PGE2, TNF, IFN. Następuje pobudzenie fibroblastów do zwiększonej produkcji enzymów proteolitycznych, które niszczą tkankę łączną i aktywują osteoklasty powodujące destrukcję tkanki kostnej. U palaczy występuje kilkukrotnie wyższa aktywność kolagenazy w fibroblastach. Metabolity nikotyny dyfundując w głąb tkanek, łączą się z fibroblastami. Zaburza to transport substancji przez błony komórkowe i powoduje nieprawidłowe przyleganie fibroblastów do innych komórek i powierzchni.

Składniki dymu tytoniowego stymulują wytwarzanie hormonów opóźniających gojenie tkanek poprzez spowolnienie procesów nabłonkowania i tworzenia nowej tkanki łącznej. Dochodzi do spadku stężenia kwasu askorbinowego, który bierze udział w hydroksylacji proliny w tworzeniu kolagenu (56).

Palenie wpływa na zwiększenie liczby periopatogenów w naddziąsłowej płytce nazębnej. Znacząco statystycznie wzrasta liczba bakterii z gatunku *Treponema*, które są częścią tzw. czerwonego kompleksu wg Socransky'ego (75). W innych badaniach u palaczy wykazano również wzrost liczby drobnoustrojów *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* i *Tannerella forsythia* (76, 77). Nikotyna obniża poziom IgG<sub>2</sub>, która bierze udział w alternatywnej drodze aktywacji dopełniacza, a tym samym znacząco wpływa na eliminację *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (56).

Poza miejscowym działaniem, toksyczne substancje dymu tytoniowego, głównie nikotyna, wywierają działanie ogólnoustrojowe. Zmieniają przepływ krwi w tkankach dziąsła poprzez stymulację uwalniania nadnerczowych i obwodowych katecholamin (adrenalina i noradrenalina), powodując m.in. skurcz naczyń powierzchniowych dziąsła. Nikotyna jest także przyczyną powstawania mikrozakrzepów i zamykania naczyń włosowatych. Dzieje się



to na skutek wzrostu lepkości płytek krwi poprzez obniżanie stężenia prostacykliny PGI<sub>2</sub>, odpowiedzialnej za rozszerzenie naczyń i spadek agregacji płytek. Efektem klinicznym zmiany przepływu krwi w dziąsłach jest skłonność do przewlekłych zapaleń przyzębia, przebiegających z niższym odsetkiem miejsc krwawiących przy zgłębnikowaniu kieszonek przyzębnych (78, 79). Powoduje to późniejsze wykrywanie choroby przyzębia u osób palących (80). Gorsze ukrwienie powoduje zmniejszenie utlenowania tkanek. W związku z zaburzeniem mikrokrażenia dziąsła stają się bledsze (53). Obecny w dymie papierosowym tlenek węgla, łącząc się z hemoglobina, zmniejsza objętość tlenu przenoszonego z erytrocytów do tkanek, co prowadzi do komórkowej hipoksji. Cyjanowodor natomiast prowadzi do zahamowania syntezy enzymów potrzebnych do transportu i metabolizmu tlenu na poziomie komórkowym, co upośledza gojenie i regenerację tkanek (56).

Jednym z najwcześniej zauważalnych skutków używania tytoniu są zaniedbania higieniczne. W związku ze wzrostem stężenia jonów wapnia i fosforu w ślinie dochodzi do wzrostu mineralizacji płytki nazębnej, co ułatwia i nasila nawarstwianie się kamienia zarówno naddziąsłowego, jak i poddziąsłowego. Ślina u palaczy ma mniejsze zdolności buforujące i niższe pH oraz zwiększoną koncentrację mikroorganizmów biorących udział w powstawaniu próchnicy (*Lactobacilli*, *Streptococcus mutans*) w porównaniu do osób niepalących. Zredukowany jest również poziom przeciwciał IgA. Wszystkie te czynniki prowadzą do nasilenia procesu próchnicowego, a w konsekwencji zwiększenia odsetka usuniętych zębów (81). W wyniku penetracji osadu nikotynowego w głąb szkliwa zębów i zębiny ubytków klinowych dochodzi do powstawania nieestetycznych czarnobrunatnych przebarwień. Przebarwieniom ulegają również wypełnienia i uzupełnienia protetyczne (56).

Zarówno działanie czynników miejscowo drażniących, będących składnikami dymu tytoniowego, jak i metabolitów nikotyny powoduje zaburzenie procesów obronno-naprawczych zachodzących w przyzębiu. Sprawia to, że choroba przyzębia przebiega ze szczególną intensywnością i znacząco pogarsza odpowiedź organizmu na leczenie (56). Nikotynistów cechuje znacznie gorsza klinicznie reakcja na niechirurgiczne, chirurgiczne i regeneracyjne leczenie periodontologiczne (29). Substancje chemiczne zawarte w dymie tytoniowym mogą wpływać na opóźnione gojenie poprzez hamowanie podstawowych funkcji komórek odpowiedzialnych za ten proces (82). W efekcie leczenia, u palaczy znacznie trudniej uzyskać redukcję głębokości kieszonek przyzębnych oraz odnowę przyczepu łącznotkankowego (83, 84, 85).

Zaprzestanie palenia ma korzystny wpływ na stan kliniczny przyzębia i na odpowiedź tkanek na leczenie (29). U byłych palaczy z czasem spada ryzyko wystąpienia zapalenia przyzębia. Potrzeba jednak wielu lat, aby ryzyko to było takie samo, jak u osób nigdy niepalących (86). Po zaprzestaniu palenia dochodzi do spowolnienia utraty przyczepu łącznotkankowego i kości (87, 88, 89, 90). Zrezygnowanie z palenia może wspomóc zastosowane leczenie periodontologiczne (61). Dlatego też, ze względu na znaczny wpływ palenia papierosów na jamę ustną, bardzo ważny jest udział lekarzy dentystów w motywowaniu pacjentów do rzucenia nałogu.

## 1.4 Klasyfikacja zapaleń przyzębia

Powszechnie uznaną i stosowaną obecnie klasyfikacją chorób przyzębia jest klasyfikacja Amerykańskiej Akademii Periodontologicznej (AAP) z 1999 roku. Uogólnione przewlekłe zapalenie przyzębia rozpoznaje się, jeśli nie można zwięźle opisać lokalizacji zmian i/lub jeśli zmiany te (w postaci utraty położenia klinicznego przyczepu łącznotkankowego, utraty kości i obecności kieszonek patologicznych) dotyczą > 30% zębów (91). W przewlekłym zapaleniu przyzębia w stopniu umiarkowanym występuje utrata przyczepu łącznotkankowego CAL 3-4 mm i kieszonki przyzębne do 7 mm, natomiast w zaawansowanym zapaleniu mamy CAL>5 mm, PD>7 mm i utratę kości wyrostka zębodołowego powyżej 2/3 (29).

W 2018 roku AAP przedstawiła nową klasyfikację chorób przyzębia, w której określamy etap, zakres i stopień *periodontitis*. Etap determinuje stopień zaawansowania i złożoność leczenia:

- 1) Etap I: Początkowe zapalenie przyzębia
- 2) Etap II: Umiarkowane zapalenie przyzębia
- 3) Etap III: Ciężkie zapalenie przyzębia z możliwością dodatkowej utraty zębów
- 4) Etap IV: Ciężkie zapalenie przyzębia z możliwością utraty uzębienia

Stopień natomiast określa ryzyko szybkiej progresji i przewidywaną reakcję na leczenie:

- 1) Stopień A: Wolne tempo progresji
- 2) Stopień B: Średnie tempo progresji

### 3) Stopień C: Szybkie tempo progresji

**Tabela 1. Kryteria diagnostyczne stopnia ciężkości zapalenia przyzębia (Raport grupy roboczej Amerykańskiego Towarzystwa Periodontologicznego o aktualizacji klasyfikacji chorób przyzębia z 1999 roku)**

<b>Zapalenie przyzębia</b>	<b>Lekkie</b>	<b>Umiarkowane</b>	<b>Ciężkie</b>
<b>głębokość kieszonek</b>	$> 3 \text{ i } < 5 \text{ mm}$	$\geq 5 \text{ i } < 7 \text{ mm}$	$\geq 7 \text{ mm}$
<b>krwawienie przy zglębniowaniu</b>	tak	tak	tak
<b>utrata kości na zdjęciu rtg</b>	do 15% długości korzenia lub $\geq 2 \text{ i } \leq 3 \text{ mm}$	16–30% lub $> 3 \text{ i } \leq 5 \text{ mm}$	$> 30\%$ lub $> 5 \text{ mm}$
<b>utrata położenia klinicznego przyczepu</b>	1–2 mm	3–4 mm	$\geq 5 \text{ mm}$

## 1.5 Diagnostyka zapaleń przyzębia

Diagnozę choroby przyzębia można postawić po zapoznaniu się z objawami zgłaszanymi przez pacjenta, jego zbadaniu i wykonaniu badań dodatkowych (np. zdjęć rentgenowskich). Bardzo ważny jest wywiad dotyczący chorób ogólnoustrojowych, rodziny, nawyków higienicznych czy nałogów. U pacjentów z *periodontitis* kontrolujemy stan przyzębia za

pomocą wskaźników periodontologicznych (2, 29, 30). Na zdjęciach rentgenowskich u pacjentów z przewlekłą chorobą przyzębia możemy stwierdzić:

- zatarcie widoczności blaszki zbitej zębodołu i blaszki zbitej zewnętrznej przegrody międzyzębowej
- zmniejszenie grubości i gęstości beleczek kostnych
- nieregularne obrysy grzbietów przegród międzyzębowych
- poziomy ubytek kostny wyrostka zębodołowego
- pionowe ubytki kostne
- ubytki kości w furkacjach
- poszerzenie szpary ozębnej (29).

W ostatnich latach prowadzi się wiele badań nad możliwością wykorzystania biomarkerów do oceny ciężkości *periodontitis* i monitorowania przebiegu leczenia. Wykazano pozytywną korelację z chorobą przyzębia neopteryny, reduktazy glutationu (GR), interleukiny-1 $\beta$  (Il-1 $\beta$ ), pentraksyny-3 (PTX3) oraz innych substancji (92, 93, 94, 94).

## 1.6 Objawy zapalenia przyzębia

Chorobom przyzębia mogą towarzyszyć:

1. zapalenie dziąseł, ból, krwawienie
2. kieszonki patologiczne
3. recesje dziąsłowe
4. zwiększona ruchomość zębów
5. przemieszczanie zębów
6. utrata kości wyrostka zębodołowego
7. halitoza i zaburzenia smaku.

### Stan dziąseł

Zapalenie dziąseł może zapoczątkować *periodontitis*. Występuje ono zwłaszcza u osób z nieprawidłową higieną jamy ustnej. Zapalenie dziąseł jest stanem odwracalnym.

### **Kieszonki**

Pomiar głębokości kieszonek jest ważną częścią badania diagnostycznego w rozpoznawaniu choroby przyzębia. Czasami z kieszonki patologicznej może wydobywać się treść ropna.

### **Recesje dziąsłowe**

U pacjentów z chorobą przyzębia mogą pojawić się recesje dziąsłowe. Zęby objęte recesją często mają zwiększoną wrażliwość na bodźce gorące i zimne.

### **Zwiększona ruchomość zębów**

Ruchomość zębów może być spowodowana rozszerzeniem się zapalenia z dziąsła do głębiej położonych tkanek, utratą struktur podporowych lub urazem zgryzowym.

### **Przemieszczanie zębów**

W chorobie przyzębia często dochodzi do przemieszczeń zębów spowodowanych zachwianiem równowagi między siłami żucia oraz nacisku warg i języka, w efekcie redukcji tkanek przyzębia.

### **Utrata kości wyrostka zębodołowego**

Resorpcja kości wyrostka zębodołowego z jednoczesną destrukcją tkanki ozębnej to najważniejszy objaw przewlekłego zapalenia przyzębia. O stopniu utraty kości i progresji choroby można wnioskować na podstawie wykonanego badania radiologicznego. Wraz z postępującą resorpcją wysokość kości wyrostka zębodołowego podlega redukcji.

### **Halitoza i zaburzenia smaku**

W związku ze zmianą mikroflory jamy ustnej mogą pojawiać się bakterie beztlenowe wytwarzające związki siarki, odpowiedzialne za fetor z ust. Nieprzyjemny smak i zapach

mogą być również związane ze złą higieną jamy ustnej i niedostatecznym usuwaniem płytki nazębnej (2, 30).

## **1.7 Profilaktyka i leczenie zapaleń przyzębia**

### **1.7.1 Profilaktyka**

Profilaktyka chorób przyzębia to zapobieganie oraz wczesne wykrywanie *periodontitis*. Działania powinny być ukierunkowane na odpowiednią higienę, a także na usuwanie czynników ryzyka, w tym także nałogu palenia papierosów. U osób palących tytoń choroba przyzębia wykrywana jest później i w bardziej zaawansowanym stopniu w związku z brakiem objawów takich jak krwawienie z dziąseł czy ich zaczerwienie. U osób ze zdrowym przyzęciem ważna jest edukacja w zakresie higieny, a także wykonywanie zabiegów profesjonalnego oczyszczania. U osób z objawami zapalenia dziąseł i przyzębia najważniejsze jest jak najwcześniejsze rozpoznanie i rozpoczęcie leczenia. (29).

### **1.7.2 Leczenie**

U pacjentów periodontologicznych istotne jest zebranie wywiadu dotyczącego chorób i nawyków mogących mieć wpływ na przebieg *periodontitis*. Pacjent powinien być zmotywowany do przestrzegania zaleceń lekarskich. Ważne jest dokładne zademonstrowanie zasad prawidłowej higieny jamy ustnej i użycia dodatkowych przyborów higienicznych. Dzięki ocenie klinicznych wskaźników periodontologicznych można kontrolować poziom higieny i postęp choroby. Ważne jest systematyczne zgłaszanie się pacjenta na wizyty kontrolne (29).

Leczenie *periodontitis* można podzielić na kilka faz:

1. faza ogólna przygotowująca pacjenta do leczenia periodontologicznego (kontrola chorób wpływających na patogenezę *periodontitis* i gojenie, ewentualne konsultacje z lekarzem prowadzącym, eliminacja nałogu palenia i innych czynników predysponujących)
2. faza przyczynowa (wstępna/higienizacyjna) mająca na celu eliminację płytki nazębnej i miejscowych czynników sprzyjających jej akumulacji
3. faza korekcyjna (periodontologiczne leczenie chirurgiczne, a także leczenie odtwórcze, w tym protetyczne i implantologiczne)
4. faza podtrzymująca, która zapewnia utrzymanie wyników leczenia i wczesne wykrycie nawrotu choroby (3).

Niechirurgiczne leczenie *periodontitis* jest podstawową i najważniejszą metodą kontroli choroby. Ma na celu eliminację periopatogenów, w wyniku czego dochodzi do zmniejszenia stanu zapalnego i do spłycenia kieszonek przyzębnych. Głównym elementem terapii niechirurgicznej jest usunięcie złogów nad- i poddziąsłowych. Zmniejszenie obrzęku zapalnego prowadzi do dowierzchołkowego przesunięcia się brzegu dziąsła – spłycenia głębokości kieszonki. W efekcie dochodzi do zmniejszenia liczby drobnoustrojów i do przewagi bakterii Gram-dodatnich nad Gram-ujemnymi. Gojenie po niechirurgicznym leczeniu przyzębia trwa zazwyczaj od sześciu tygodni do trzech miesięcy (29).

## 1.8 Ślina

Ślina jest płynem biologicznym składającym się w większości z egzokryennej wydzieliny ślinianek. Pozostałe składniki to złuszczony nabłonek, płyn dziąsłowy, bakterie oraz resztki pokarmowe. Ślina jest ważnym czynnikiem mającym wpływ na zachowanie homeostazy w jamie ustnej. Ochrania powierzchnię zębów i błonę śluzową jamy ustnej przed czynnikami biologicznymi, mechanicznymi i chemicznymi. Jest pierwszą linią niespecyficznego i specyficznego obrony antybakteryjnej. Za pośrednictwem zawartych w niej czynników kontroluje adherencję, metabolizm i wzrost drobnoustrojów (96, 97). Wymiana składników pomiędzy krwią a śliną zachodzi w przewodach ślinowych na zasadzie aktywnego transportu i dyfuzji (98). Znaczenie diagnostyczne śliny u pacjentów z chorobą przyzębia zwiększa się w związku ze wzrostem przechodzenia w *periodontitis* składników krwi do śliny (99). Ślina odzwierciedla stan organizmu i dlatego często nazywana jest „lustrzanym odbiciem stanu zdrowia organizmu” albo „oknem na stan zdrowia” (100).

Wykorzystanie śliny jako materiału diagnostycznego jest znane od ponad dwudziestu lat. Dzięki analizie składników występujących w ślinie można wykryć początek choroby i oceniać jej przebieg (101).

Badanie śliny nie pozwala na precyzyjne diagnozowanie stanu przyzębia w danej okolicy, lecz umożliwia ocenę ogólnego stopnia zaawansowania choroby (102). Okresy zaostrzeń i remisji w chorobie przyzębia mają odzwierciedlenie w poziomie oznaczanych substancji w ślinie. Również choroby systemowe (np. cukrzyca) czy czynniki ryzyka (palenie papierosów) także wpływają na zmiany wartości biomarkerów w ślinie. Dostępność śliny oraz łatwy, nieinwazyjny sposób jej pobrania pozwalają na użycie jej jako narzędzia do testów przesiewowych, diagnozy czy monitorowania wielu chorób (101).

## **1.9 Neopteryna**

### **1.9.1 Tło historyczne**

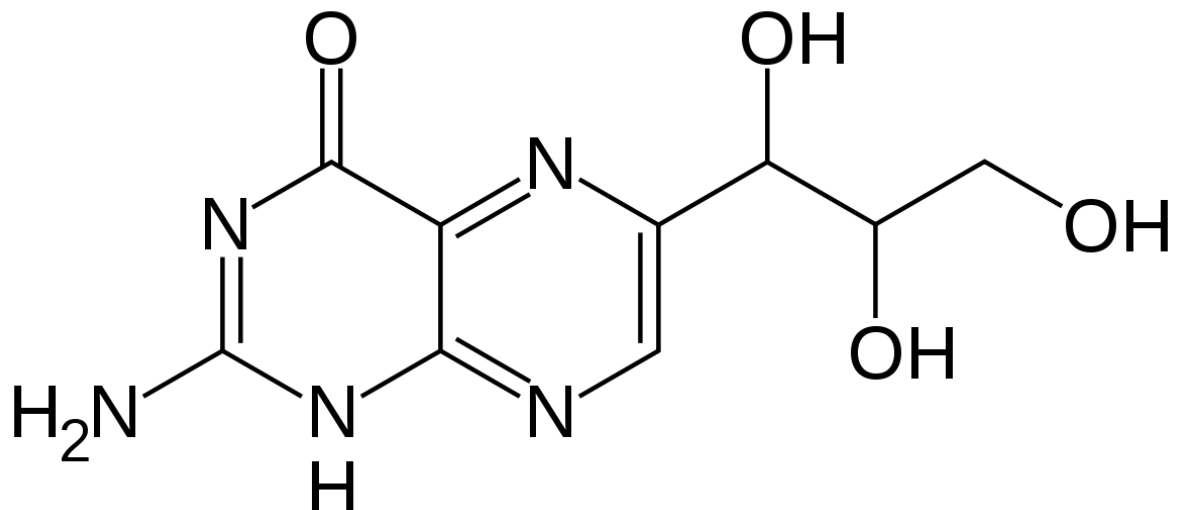
Neopteryna jest nieswoistym, niskocząsteczkowym mediatorem odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego. Po raz pierwszy została wyizolowana przez Rembolda w 1963 roku z larw pszczoł i dorosłych postaci pszczoł robotnic oraz z mleczka pszczelego. Początkowo nazwano tę substancję nowapteryną (103). Następnie uzyskano neopterynę z meduzy królewskiej. W 1967 roku Sakurai i Goto wyizolowali tę substancję w moczu ludzi. Mierzac poziom neopteryny można monitorować początek, przebieg i efektywność leczenia różnych procesów zapalnych w organizmie człowieka (104, 105).

### **1.9.2 Budowa neopteryny**

Neopteryna należy do grupy związków chemicznych zwanych pterydynami.

**Rycina 1. Wzór strukturalny neopteryny–1-amino-4-hydroksy-6(1,2,3-trihydroksypropylo)-pterydyny (115)**

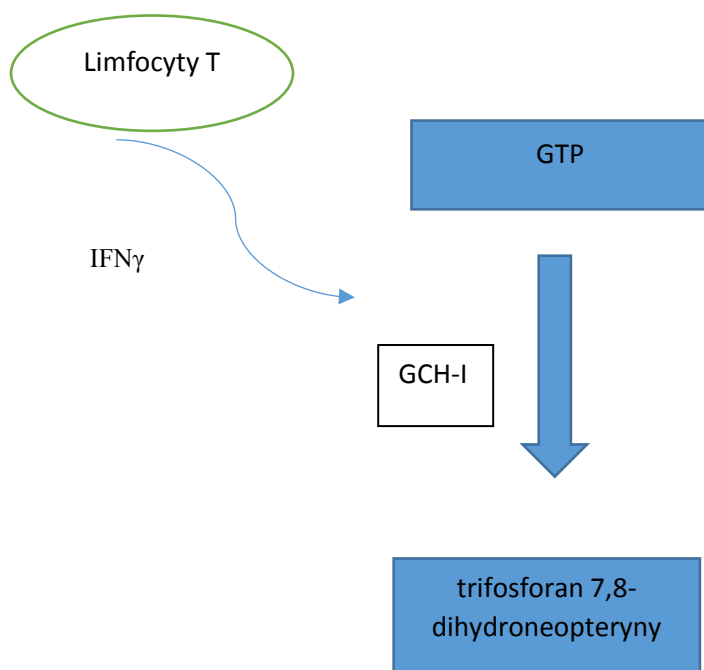


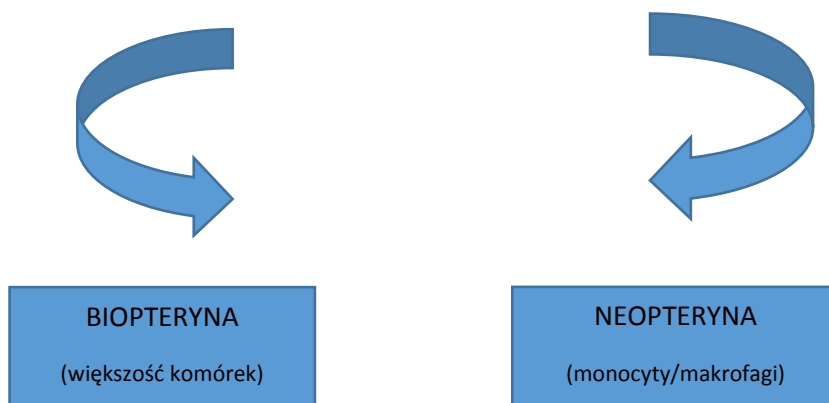


### 1.9.3 Wytwarzanie neopteryny

Neopteryna wytwarzana jest z guanozynotrifosforanu (GTP). Interferon gamma ( $\text{IFN}\gamma$ ) produkowany przez limfocyty T wpływa na GTP-cyklohydroksylazę – I (GCH-I), która przekształca GTP do trifosforanu 7,8-dihydroneopteryny, z którego syntetyzowana jest neopteryna lub 5,6,7,8 – tetrahydrobiopteryna ( $\text{BH}_4$ ). Większość ludzkich komórek wytwarza  $\text{BH}_4$ . Natomiast monocyty i makrofagi uwalniają neopterynę (106, 107).

**Rycina 2. Proces wytwarzania neopteryny z GTP w organizmie ludzkim (115)**





Interferon gamma jest jedynym bezpośrednim mediatorem produkcji neopteryny (107). Inne cytokiny pobudzają syntezę neopteryny pośrednio poprzez uczynnienie interferonu gamma (108,109). Podczas odpowiedzi typu komórkowego aktywowane limfocyty T uwalniają interferon gamma, który stymuluje ludzkie makrofagi do produkcji neopteryny. Il-4, Il-10, Il-12 zmniejszają wydzielanie neopteryny (110).

#### 1.9.4 Zastosowanie neopteryny

Stężenie neopteryny zależy od wieku i stanu klinicznego badanego. Nieco wyższe stężenie występuje u dzieci i osób w podeszłym wieku. Nie obserwuje się różnic w zależności od płci. Neopterynę można oznaczać w surowicy krwi, osoczu, moczu, soku żołądkowym, soku trzustkowym, płynie mózgowo-rdzeniowym, płynie maziowym oraz w ślinie (111, 112). Podwyższony poziom neopteryny obserwowany jest w chorobach przebiegających ze zwiększoną aktywnością monocytów/makrofagów, tj. w procesach nowotworowych, zakażeniach bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych, pierwotniakowych, chorobach autoimmunologicznych oraz reakcjach odrzucenia przeszczepów. Zmiany w stężeniu neopteryny mogą być wykorzystane w monitorowaniu leczenia niektórych chorób nowotworowych (np. ginekologicznych, płuc, prostaty, jelit, rozrostach hematologicznych). Stężenie jej zależne jest od wielkości guza, jego lokalizacji i stanu ogólnego chorego. Wykazano pozytywną korelację pomiędzy stężeniem neopteryny a aktywnością choroby zakaźnej. Neopteryna może być również wykorzystywana przy diagnostyce różnicowej chorób bakteryjnych i wirusowych (wzrost jej poziomu w przypadku zakażenia wirusowego

jest bardzo duży). Istnieją próby wykorzystania neopteryny do monitorowania zakażeń WZW typu A i B oraz pacjentów z AIDS. W chorobach autoimmunologicznych i na podłożu zapalnym (np. w reumatoidalnym zapaleniu stawów, toczeniu układowym, ziarniniaku Wegenera, chorobie Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego) poziom neopteryny wzrasta proporcjonalnie do stopnia zaawansowania schorzenia. Istnieje również dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem neopteryny a nasileniem choroby kardiologicznej (113, 114, 115).

Neopteryna pozostaje stabilna w płynach ustrojowych przechowywanych bez dostępu światła w temperaturze co najmniej -20 stopni przez okres minimum 6 miesięcy. Możliwe są dwie metody oznaczania poziomu neopteryny:

1. radioimmunologiczna
2. immunoenzymatyczna (116).

Badanie poziomu neopteryny w różnych płynach ustrojowych informuje o aktualnym stanie odpowiedzi immunologicznej. Neopteryna jest stosowana jako wczesny marker reakcji zapalnej. Zmienność stężenia w zależności od stanu zapalnego pozwala na zastosowanie oznaczania poziomu neopteryny jako biochemicznego wskaźnika prognostycznego oraz efektywności zastosowanego leczenia. Uważa się, że czynnik ten może być znakomitym wyznacznikiem rozwijającej się odpowiedzi typu komórkowego, ponieważ jest on łatwo oznaczalny w płynach biologicznych oraz wykazuje dużą stabilność (97, 115).

Pomimo coraz lepszej znajomości etiologii i patogenezы zapaleń przyzębia, diagnostyka tej jednostki chorobowej nadal jest oparta niemal wyłącznie na badaniu radiologicznym i tradycyjnym, klinicznym oznaczaniu wskaźników periodontologicznych przez lekarza dentystę, co sprawia, że zarówno diagnoza, jak i monitorowanie przebiegu choroby jest subiektywne. Dlatego też dąży się do znalezienia substancji, które mogą być w łatwy i obiektywny sposób oznaczane, a uzyskane parametry mogą posłużyć do ujednoczenia diagnostyki i kontroli przebiegu choroby. Prowadzi się badania nad poziomem różnych markerów biochemicznych w ślinie, płynie kieszonki dziąsłowej czy krwi pacjentów z chorobą przyzębia. Jednym z takich czynników jest neopteryna. Udokumentowano, że stężenie neopteryny jest znacznie wyższe u chorych z przewlekłym zapaleniem przyzębia niż u osób ze zdrowym przyzęciem (117, 118). Istotne jest określenie granicznych poziomów badanych substancji w celu wprowadzenia jednolitych kryteriów diagnostycznych i monitorowania rozwoju choroby i efektywności zastosowanego leczenia.

## 2. Cel pracy

Celem pracy było ustalenie, czy niechirurgiczne leczenie chorób przyzębia ma wpływ na zmiany w poziomie neopteryny w ślinie osób palących i niepalących tytoń.

Dodatkowo wytyczono następujące cele badawcze:

1. Czy istnieją różnice w stanie zdrowia jamy ustnej osób palących i niepalących tytoń?
2. Czy są różnice w efektywności zastosowanego niechirurgicznego leczenia *periodontitis* u palaczy i u osób niepalących z uwzględnieniem wskaźników periodontologicznych?
3. Czy nałóg palenia tytoniu wpływa na poziom neopteryny w ślinie?
4. Czy istnieje korelacja poziomu neopteryny w ślinie z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi u osób z chorobami przyzębia palących i niepalących tytoń?

### 3. Materiał i metoda

Badanie uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego nr KBET/271/B/2013 z dnia 27 stycznia 2014 roku. Finansowanie w 2015 i 2016 roku było prowadzone ze środków otrzymanych w ramach dotacji celowej dla młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich do 35. roku życia z Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (numer: K/DSC/003090).

#### 3.1 Materiał

Prospektywne badanie było prowadzone wśród pacjentów zgłaszających się do Poradni Chorób Przyzębia Uniwersyteckiej Kliniki Stomatologicznej w Krakowie w latach 2015–2017. Badaniem objęto dwie grupy dorosłych pacjentów w wieku 19–81 lat ze stwierdzoną w badaniu klinicznym i radiologicznym chorobą przyzębia (wg klasyfikacji Page’a i Eke):

- 1) grupa badana (nałogowi palacze palący co najmniej od dwóch lat minimum dziesięć papierosów dziennie)
- 2) grupa kontrolna (osoby, które nigdy nie paliły tytoniu).

Tabela 2. Definicja zapalenia przyzębia wg Page’a i Eke (119)

Stopień zaawansowania zapalenia	Kryteria rozpoznania
<b>łagodne zapalenie przyzębia</b>	dwa lub więcej zębów z $CAL \geq 3$ mm na powierzchniach stycznych i dwa lub więcej zębów z $PD \geq 4$ mm na powierzchniach stycznych
<b>średnio zaawansowane zapalenie przyzębia</b>	dwa lub więcej zębów z $CAL \geq 4$ mm na powierzchniach stycznych lub dwa lub więcej zębów z $PD \geq 5$ mm na powierzchniach stycznych
<b>zaawansowane zapalenie przyzębia</b>	dwa lub więcej zębów z $CAL \geq 6$ mm na powierzchniach stycznych i jeden lub więcej zębów z $PD \geq 5$ mm na powierzchniach stycznych

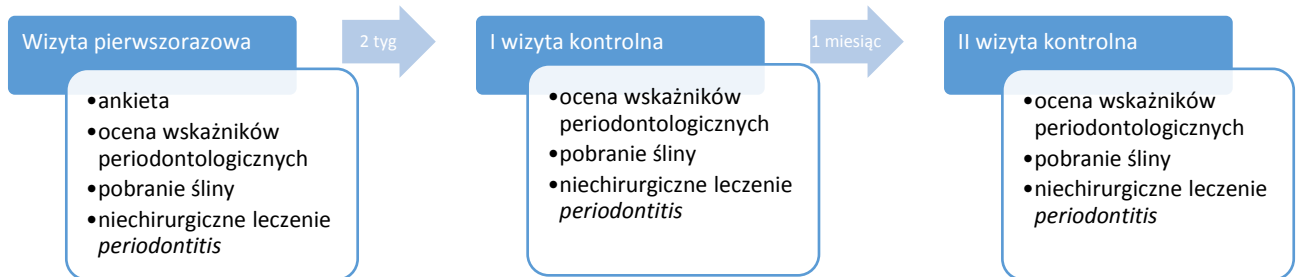
**Tabela 3. Kryteria włączenia i wyłączenia pacjentów**

Kryteria włączające	Kryterium wyłączające
<ul style="list-style-type: none"> <li>• wiek powyżej 18 lat</li> <li>• podpisanie świadomej zgody pacjenta</li> <li>• przewlekłe zapalenie przyzębia (co najmniej stopnia umiarkowanego, stwierdzone badaniem klinicznym oraz radiologicznym) wg klasyfikacji Page'a i Eke</li> <li>• obecność co najmniej 20 zębów w jamie ustnej</li> <li>• nałóg palenia tytoniu ustalony na podstawie wywiadu (w przypadku grupy badanej)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• wrodzone bądź nabyte defekty układu immunologicznego</li> <li>• pacjenci z WZW</li> <li>• osoby po przeszczepach narządu</li> <li>• cukrzyca</li> <li>• niestabilna choroba wieńcowa</li> <li>• ciąża i laktacja</li> <li>• choroby krwi</li> <li>• przebyte zakażenie bakteryjne, wirusowe lub grzybicze w ciągu ostatnich dwóch tygodni</li> <li>• choroba nowotworowa (aktualnie lub w wywiadzie)</li> <li>• stan po chemio- lub radioterapii</li> <li>• choroba autoimmunologiczna</li> <li>• choroby nerek</li> <li>• nieswoiste zapalenia jelit</li> <li>• rozpoznane choroby przebiegające z zaburzeniem wydzielania śliny</li> <li>• zażywanie leków wpływających na skład biochemiczny śliny</li> </ul>

## 3.2 Procedura badania

Pacjenci zgłaszali się na trzy wizyty. Pierwsza wizyta kontrolna była po dwóch tygodniach, następna po miesiącu.

Rycina 3. Protokół badania



Na pierwszej wizycie pacjenci wypełniali kwestionariusz dotyczący płci, wieku, nałogu palenia papierosów, chorób ogólnoustrojowych, zażywanych leków oraz zgłaszanych dolegliwości (Załącznik nr 1). Na każdej następnej wizycie przeprowadzono badanie kliniczne, na podstawie którego uzyskano dane, które posłużyły do obliczenia następujących parametrów:

- intensywność próchnicy PUW
- wskaźnik płytki bakteryjnej powierzchni stycznych (API) wg Langego i wsp.
- zmodyfikowany wskaźnik krwawienia z kieszonek przyzębnych (mSBI) wg Langego
- głębokość kieszonek przyzębnych (PPD)
- wskaźnik dziąsłowy (GI) wg Löego i Silnessa
- badanie klinicznej utraty przyczepu łącznotkankowego (CAL)
- stopień ruchomości zębów wg skali Halla
- badanie utraty przyzębia w przestrzeniach międzykorzeniowych (furkacji) wg klasyfikacji Hampa.

Wskaźniki te oceniano według poniższych schematów:

### Intensywność próchnicy PUW:

- P – liczba zębów z próchnicą
- U – liczba zębów usuniętych z powodu próchnicy

- W- liczba zębów wypełnionych

Intensywność próchnicy jest wartością PUW, która jest sumą jej składowych (P+U+W).

#### **Wskaźnik płytki bakteryjnej powierzchni stycznych (API) wg Langego:**

W każdym z czterech kwadrantów oceniano obecność płytki bakteryjnej tylko z jednej strony (w I kwadrancie od strony podniebiennej, w II i IV policzkowo, w III językowo). Sumę przestrzeni międzyzębowych z płytką dzieli się przez sumę wszystkich ocenianych przestrzeni, a następnie mnoży przez 100%, aby uzyskać wynik procentowy. Uzyskane procentowe wartości wskaźnika API interpretuje się jako:

- 100-70% – zła higiena jamy ustnej
- 69-40% – dostateczna higiena jamy ustnej
- 39-25% – w miarę dobra higiena jamy ustnej
- <25% optymalna higiena jamy ustnej.

#### **Zmodyfikowany wskaźnik krwawienia z kieszonek przyzębnych (mSBI) wg Langego:**

Za pomocą sondy periodontologicznej uciska się brodawkę międzyzębową (w I i III kwadrancie od strony policzkowej, w II podniebienne, w IV językowo). Ocenia się występowanie lub brak krwawienia. Aby uzyskać procentowy wskaźnik mSBI, sumę brodawek z krwawieniem dzieli się przez liczbę wszystkich ocenianych, a następnie mnoży przez 100%. Uzyskane procentowe wartości wskaźnika mSBI interpretuje się jako:

- 100-50% – uogólnione i intensywne zapalenie dziąseł
- 49-30% – uogólnione i umiarkowane zapalenie dziąseł
- 29-10% – zlokalizowane i łagodne zapalenie dziąseł
- <10% – przyzębie klinicznie zdrowe.

#### **Głębokość kieszonek dziąsłowych i/lub przyzębnych (PPD):**

Badanie kieszonek przeprowadzono przy pomocy kalibrowanej sondy periodontologicznej co 1 mm.

#### **Wskaźnik dziąsłowy (GI) wg Löego i Silnessa:**

Z pomocą tego wskaźnika dokonywano pomiaru stanu zapalnego dziąsła. Oceniano stan dziąsła na wszystkich powierzchniach zęba (tj. przedsionkowej, językowej/podniebiennej, mezialnej i dystalnej). Po zsumowaniu wszystkich uzyskanych wartości i podzieleniu przez 4



otrzymuje się wartość dla danego zęba, a dodając otrzymane wartości przy wszystkich badanych zębach i dzieląc je przez liczbę ocenianych zębów, uzyskuje się średnią wartość GI dla całej jamy ustnej. Kryteria wskaźnika:

- 0 – dziąsło prawidłowe: brak objawów stanu zapalnego, brak zmian w zabarwieniu dziąsła
- 1 – lekkie (łagodne) zapalenie dziąseł: niewielka zmiana zabarwienia, łagodne zmiany struktury dziąsła, brak krwawienia przy badaniu sondą
- 2 – średnie (umiarkowane) zapalenie dziąseł: wyraźne zaczerwienienie, obrzęk, krwawienie przy badaniu zgłębnikiem,
- 3 – zaawansowane (ciężkie) zapalenie dziąseł: znaczne krwawienie i obrzęk, skłonność do spontanicznego krwawienia, ewentualnie owrzodzenia.

#### **Badanie klinicznej utraty przyczepu łącznotkankowego (CAL):**

Badanie przeprowadzono przy pomocy kalibrowanej sondy periodontologicznej co 1 mm. Za punkt odniesienia ustalono granice szkliwno-cementową (CEJ) oraz dno kieszonki.

#### **Stopień ruchomości zębów wg skali Halla:**

Badania dokonywano za pomocą palca lekarza i rękojeści lusterka. Kryteria ruchomości:

- 0 stopień ruchomości – minimalna ruchomość zęba w kierunku wargowo-językowym lub jej brak
- I stopień ruchomości –ruchomość zęba w kierunku wargowo-językowym do 1 mm
- II stopień ruchomości –ruchomość zęba w kierunku wargowo-językowym większa niż 1 mm, ale nie przekraczająca 2 mm
- III stopień ruchomości –ruchomość zęba w kierunku wargowo-językowym i/lub pionowym powyżej 2 mm.

#### **Badanie utraty przyzębia w przestrzeniach międzykorzeniowych (furkacji) wg klasyfikacji Hampa:**

Pomiaru dokonywano za pomocą kalibrowanej sondy periodontologicznej Nabersa przy zębach wielokorzeniowych z otwartymi furkacjami.

- I stopień – furkacja do 3 mm w kierunku poziomym (F1)
- II stopień – furkacja powyżej 3 mm, ale zgłębnik nie przechodzi na drugą stronę (F2)
- III stopień – wprowadzony zgłębnik przechodzi na drugą stronę (F3).

Wszystkie uzyskane dane zapisywano w karcie badania pacjenta (Załącznik nr 2).

Na każdej wizycie pobierana była próbka śliny niestymulowanej metodą odpluwania:

- w dniu poprzedzającym badanie dieta stosowana przez pacjenta nie może się różnić od jego dotychczasowego sposobu żywienia
- przez dwie godziny przed pobraniem badany nie może przyjmować posiłków, napojów, palić papierosów ani myć zębów i płukać jamy ustnej
- w celu zminimalizowania wpływu dobowych zmian na wydzielanie śliny pobierana jest ona zawsze o tej samej porze
- pacjent podczas badania znajduje się w pozycji siedzącej, z głową lekko pochyloną ku dołowi, przy minimalizowaniu ruchów twarzy i warg
- po pięciominutowym okresie adaptacji do otoczenia pacjent trzykrotnie przepłukuje jamę ustną wodą o temperaturze pokojowej
- ślina zebrana w ciągu pierwszej minuty jest wyrzucana
- następnie badany w odstępach 15-30 sekundowych wypluwa zgromadzoną w obrębie dna jamy ustnej ślinę do plastikowej probówki do czasu uzyskania ok. 2 ml śliny (120).

Próbki po pobraniu były chronione od dostępu światła, a następnie poddawane głębokiemu mrożeniu (-80 stopni Celsjusza). W dniu oznaczania neopteryny próbki zostały rozmrożone i zwirowane w 1000 x g przez 20 min. Oznaczenie wykonano odczynnikami Human Neopterin ELISA Kit (Abbexa, Wielka Brytania). Precyzja międzyseryjna i pozaseryjna zestawu to odpowiednio CV<8%, CV<10%. Limit detekcji dla zestawu to < 0.094 ng/ml.

U pacjentów przeprowadzono standardowe niechirurgiczne leczenie *periodontitis*:

- 1) instruktaż higieny
- 2) usunięcie miejsc ewentualnej retencji płytki bakteryjnej
- 3) skaling nad i podziąsłowy za pomocą skalera ultradźwiękowego
- 4) kiretaż zamknięty przy użyciu kiret Gracey
- 5) polerowanie szczoteczką, gumką i pastą polerską.

### **3.3 Analiza statystyczna:**

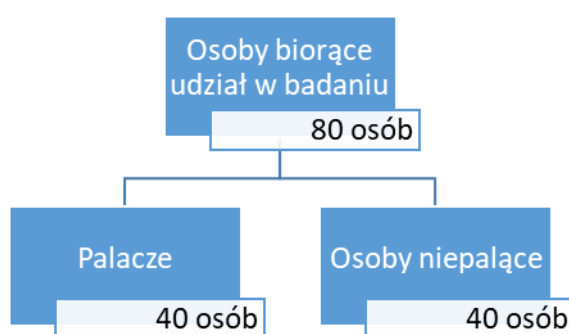
Wyniki badania zostały poddane analizie statystycznej przy pomocy programu Statistica 6.0 for Windows. Za poziom istotny statystycznie uznano  $p \leq 0,05$ . Normalność rozkładu zmiennych testowano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Jeżeli wartość testu wynosiła  $p < 0.05$ , to zmienna nie posiadała rozkładu normalnego. W celu porównania zmiennych o rozkładzie normalnym zastosowano test T Studenta. W przypadku innym niż rozkład normalny wykorzystano odpowiednie testy nieparametryczne. Do porównania dwóch prób niezależnych przeprowadzono test U Manna-Whitneya. W celu określenia korelacji stężenia neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi zastosowano współczynnik korelacji liniowej Pearsona.

## 4. Wyniki badań

### 4.1 Prezentacja badanych grup

W badaniu udział wzięło 80 pacjentów w wieku 19-81 lat.

Rycina 4. Podział badanych grup



W celu sprawdzenia, czy pomiędzy palaczami i osobami niepalącymi występują istotne statystycznie różnice ze względu na wiek, zastosowano test chi-kwadrat (rozkład normalny).

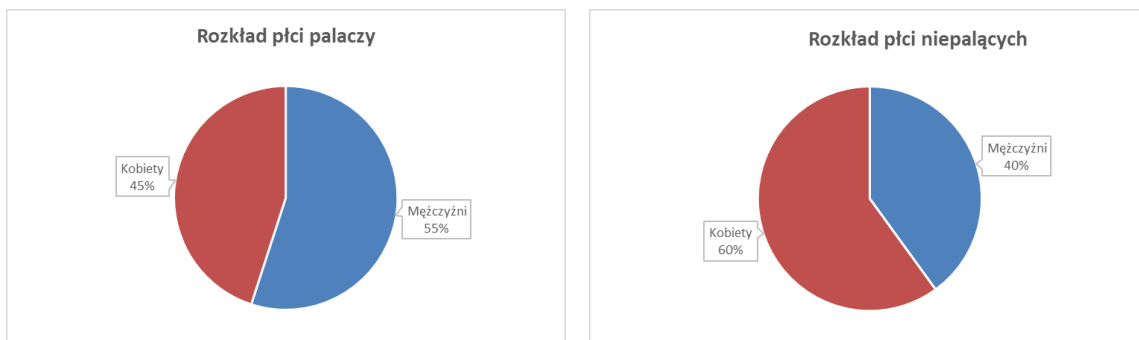
Tabela 4. Średnia i odchylenie standardowe dla wieku

Palący		Niepalący	
x	SD	x	SD
50,4	13,28	53,1	13,68

Na podstawie wyniku testu można stwierdzić, że pomiędzy grupami nie występują istotne statystycznie różnice wyników ze względu na wiek, ponieważ wartość  $p = 0,3623$  jest większa od 0,05.

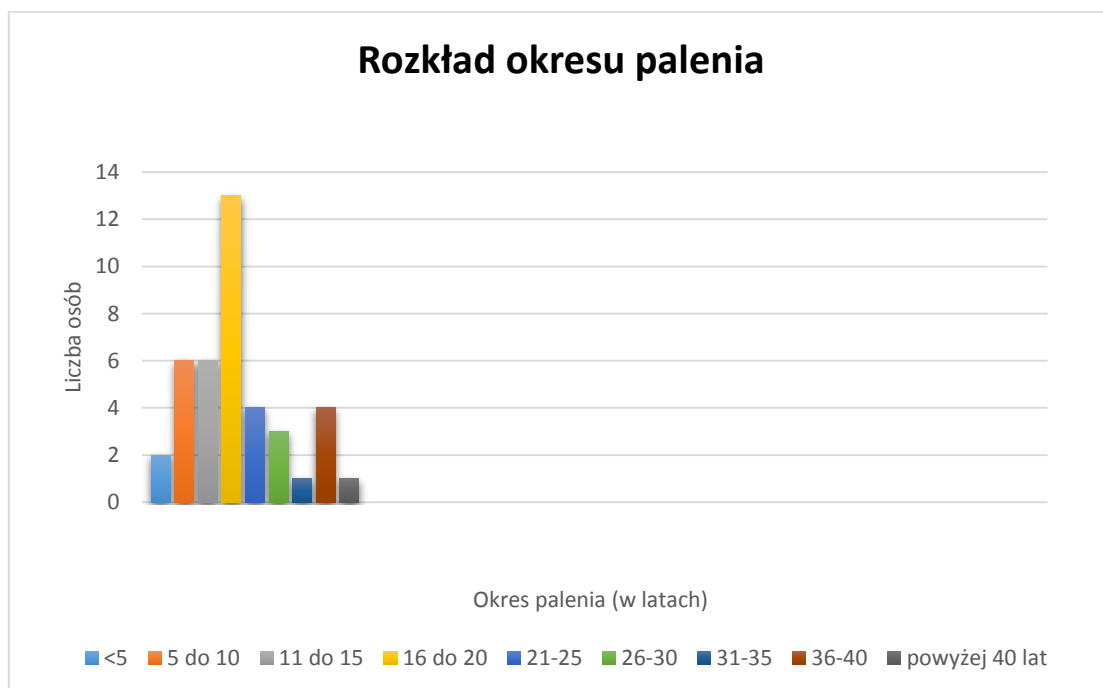
W celu sprawdzenia, czy pomiędzy palaczami i osobami niepalącymi występują istotne statystycznie różnice ze względu na płeć, zastosowano test U Manna-Whitneya (rozkład inny niż normalny). Na podstawie wyniku testu można stwierdzić, że pomiędzy grupami nie występują istotne statystycznie różnice wyników ze względu na płeć, ponieważ wartość  $p = 0,12$  jest większa od  $0,05$ .

**Rycina 5. Rozkłady płci badanych grup**



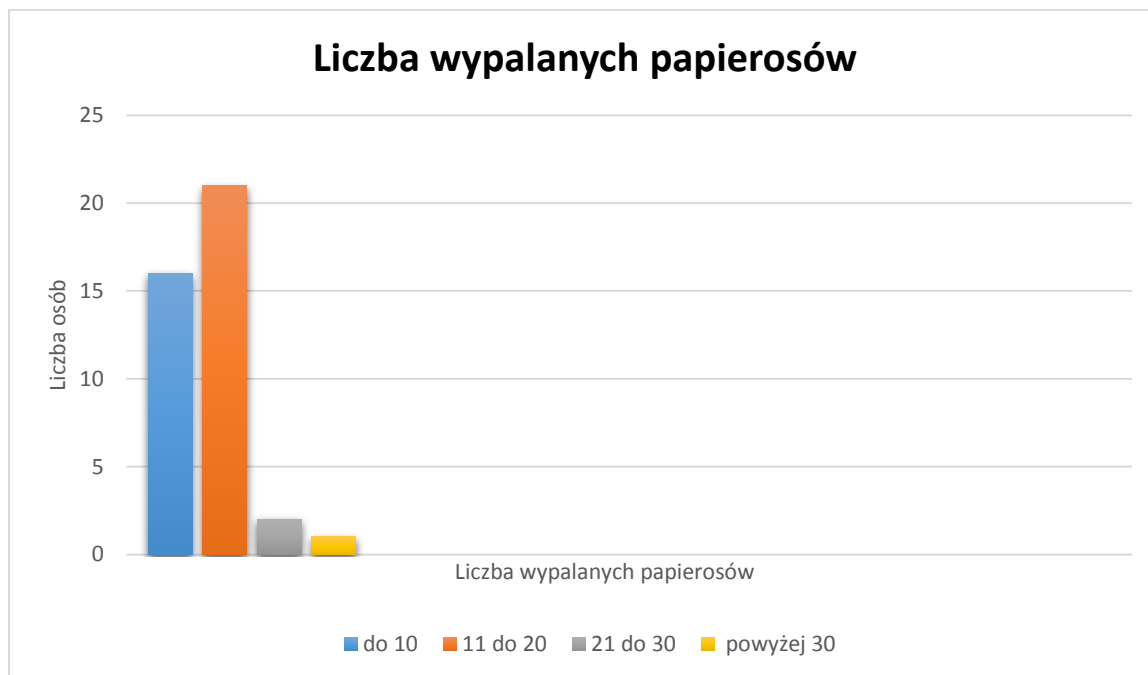
Badani okres palenia papierosów podawali od dwóch do czterdziestu lat, średnio 20,88 lat.

**Rycina 6. Okres palenia papierosów**



Osoby nadużywające tytoniu paliły od dziesięciu do czterdziestu papierosów dziennie, średnio szesnaście.

**Rycina 7. Liczba wypalanych papierosów**



## 4.2 Stan przyzębia badanych grup

### 4.2.1 Stan przyzębia podczas I badania

W celu określenia stanu przyzębia pacjentów dla wskaźnika PUW (rozkład normalny) zastosowano test T Studenta, a dla pozostałych wskaźników (rozkłady inne niż normalny) test U Manna-Whitneya.

**Tabela 5. Badanie I. Wartości badanych wskaźników periodontologicznych**

Wskaźnik	Palący n=40		Niepalący n=40		p
	x	SD	x	SD	
PUW 1	7,7	3,62	8,8	4,06	0,2305
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
API 1	65,1	34,6-87,6	79,4	34,9-89,5	0,4643
<b>mSBI 1</b>	<b>24,6</b>	<b>13,0-53,3</b>	<b>74,5</b>	<b>23,6-87,4</b>	<b>0,0024</b>
<b>GI 1</b>	<b>0,98</b>	<b>0,5-1,9</b>	<b>2,1</b>	<b>1,1-2,3</b>	<b>0,004</b>
PPD 1	1,98	1,15-2,50	1,9	1,2-2,14	0,8444
CAL 1	0,59	0,27-1,2	1,2	0,3-2,0	0,0967
RUCH I 1	0,5	0-4	0	0-3	0,3506
RUCH II 1	0,5	0-4	0	0-3	0,2425
RUCH III 1	0,5	0-4	0	0-3	0,3561
F I 1	0	0-0,5	0	0-0	0,1958
F II 1	0	0-0,5	0	0-0	0,118
F III 1	0	0-0,5	0	0-0	0,118

x- średnia; SD – odchylenie standardowe; Me – mediana; Q1 - pierwszy kwartyl; Q3 - trzeci kwartyl; p – poziom istotności

PUW 1 – wskaźnik PUW podczas I badania
API 1 – wskaźnik API podczas I badania
mSBI1 – wskaźnik mSBI podczas I badania
GI1 – wskaźnik GI podczas I badania
PPD1 – wskaźnik PPD podczas I badania
CAL 1 – wskaźnik CAL podczas I badania
RUCH I 1 – ruchomość I stopnia podczas I badania
RUCH II 1 – ruchomość II stopnia podczas I badania
RUCH III 1 – ruchomość III stopnia podczas I badania
F I 1 – furkacja I stopnia podczas I badania
F II 1 – furkacja II stopnia podczas I badania
F III 1 – furkacja III stopnia podczas I badania

Podczas pierwszego badania stwierdzono statystyczne różnice w stanie zdrowia jamy ustnej palaczy i osób niepalących wyrażonego wskaźnikami mSBI oraz GI. Wyższe wartości zarówno mSBI, jak i GI zaobserwowano u osób niepalących w porównaniu z palącymi tytoń. U połowy badanych, którzy palili tytoń, wartość wskaźnika mSBI była niższa niż 24,6%, natomiast u połowy niepalących wartość ta była poniżej 74,5%. Wskaźnik GI u połowy osób palących był poniżej 0,98, natomiast u osób niepalących poniżej 2,1. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładach PUW, API, PPD, CAL, ruchomości czy obecności furkacji pomiędzy badanymi grupami.

## 4.2.2 Stan przyzębia podczas II badania

W celu określenia stanu przyzębia pacjentów dla wskaźnika PUW (rozkład normalny) zastosowano test T Studenta, a dla pozostałych wskaźników (rozkłady inne niż normalny) test U Manna-Whitneya.

**Tabela 6. Badanie II. Wartości badanych wskaźników periodontologicznych**

Wskaźnik	Palący n=40		Niepalący n=40		p
	x	SD	x	SD	
PUW 2	7,7	3,62	8,8	4,06	0,231
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
API 2	34,8	15,8-72,5	46,6	23,5-67,3	0,525
<b>mSBI2</b>	<b>14,2</b>	<b>9,8-35,0</b>	<b>42,3</b>	<b>15,5-67,5</b>	<b>0,004</b>
<b>GI2</b>	<b>0,65</b>	<b>0,34-1,1</b>	<b>1,32</b>	<b>0,54-1,97</b>	<b>0,022</b>
PPD2	1,77	0,9-2,34	1,7	1,1-2,1	0,918
CAL 2	0,79	0,34-1,34	1,2	0,4-1,9	0,195
RUCH I 2	0	0-1	0	0-1	0,629
RUCH II 2	0	0-1	0	0-1	0,741
RUCH III 2	0	0-1	0	0-1	0,587
F I 2	0	0-0	0	0-0	0,118
F II 2	0	0-0	0	0-0	0,118
F III 2	0	0-0	0	0-0	0,574

x- średnia; SD – odchylenie standardowe; Me – mediana; Q1 - pierwszy kwartyl; Q3 - trzeci kwartyl; p – poziom istotności

PUW 2 – wskaźnik PUW podczas II badania
API 2 – wskaźnik API podczas II badania
mSBI 2 – wskaźnik mSBI podczas II badania
GI 2 – wskaźnik GI podczas II badania
PPD 2 – wskaźnik PPD podczas II badania
CAL 2 – wskaźnik CAL podczas II badania
RUCH I 2 – ruchomość I stopnia podczas II badania
RUCH II 2 – ruchomość II stopnia podczas II badania
RUCH III 2 – ruchomość III stopnia podczas II badania
F I 2 – furkacja I stopnia podczas II badania
F II 2 – furkacja II stopnia podczas II badania
F III 2 – furkacja III stopnia podczas II badania

Podczas drugiego badania stwierdzono statystyczne różnice w stanie zdrowia jamy ustnej palaczy i osób niepalących wyrażonego wskaźnikami mSBI oraz GI. Wyższe wartości zarówno mSBI, jak i GI zaobserwowano u osób niepalących w porównaniu z palącymi tytoń. U połowy palaczy wartość wskaźnika mSBI była niższa niż 14,2%, natomiast u połowy



niepalących wartość ta była poniżej 42,3%. Wskaźnik GI u połowy osób palących był poniżej 0,65, natomiast u osób niepalących poniżej 1,32. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładach PUW, API, PPD, CAL, ruchomości czy obecności furkacji pomiędzy badanymi grupami.

### 4.2.3 Stan przyzębia podczas III badania

W celu określenia stanu przyzębia pacjentów dla wskaźnika PUW (rozkład normalny) zastosowano test T Studenta, a dla pozostałych wskaźników (rozkłady inne niż normalny) test U Manna-Whitneya.

Tabela 7. Badanie III. Wartości badanych wskaźników periodontologicznych

Wskaźnik	Palący n=40		Niepalący n=40		p
	x	SD	x	SD	
PUW 3	7,8	3,74	8,8	4,08	0,249
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
API 3	20,5	13,7-43,6	26,6	15,9-45,2	0,305
<b>mSBI3</b>	<b>12</b>	<b>6,3-23,0</b>	<b>18,2</b>	<b>12,1-42,1</b>	<b>0,01</b>
<b>GI3</b>	<b>0,38</b>	<b>0,30-0,90</b>	<b>0,97</b>	<b>0,4-1,56</b>	<b>0,007</b>
PPD3	1,7	0,8-2,22	1,6	1,01-2,12	0,957
CAL 3	0,91	0,42-1,51	1,32	0,49-1,97	0,112
RUCH I 3	0	0-0	0	0-0	0,144
RUCH II 3	0	0-0	0	0-0	0,165
RUCH III3	0	0-0	0	0-0	0,097
F I 3	0	0-0	0	0-0	0,564
F II 3	0	0-0	0	0-0	0,574
F III 3	0	0-0	0	0-0	0,984

x- średnia; SD – odchylenie standardowe; Me – mediana; Q1 - pierwszy kwartyl; Q3 - trzeci kwartyl; p – poziom istotności

PUW 3 – wskaźnik PUW podczas III badania
API 3 – wskaźnik API podczas III badania
mSBI 3 – wskaźnik mSBI podczas III badania
GI 3 – wskaźnik GI podczas III badania
PPD 3 – wskaźnik PPD podczas III badania
CAL 3 – wskaźnik CAL podczas III badania
RUCH I 3 – ruchomość I stopnia podczas III badania
RUCH II 3 – ruchomość II stopnia podczas III badania
RUCH III 3 – ruchomość III stopnia podczas III badania
F I 3 – furkacja I stopnia podczas III badania
F II 3 – furkacja II stopnia podczas III badania
F III 3 – furkacja III stopnia podczas III badania

Podczas trzeciego badania stwierdzono statystyczne różnice w stanie zdrowia jamy ustnej palaczy i osób niepalących wyrażonego wskaźnikami mSBI oraz GI. Wyższe wartości zarówno mSBI, jak i GI zaobserwowano u osób niepalących w porównaniu z palącymi tytoń. U połowy palaczy wartość wskaźnika mSBI była niższa niż 12%, natomiast u połowy niepalących wartość ta była poniżej 18,2%. Wskaźnik GI u połowy osób palących był poniżej 0,38, natomiast u osób niepalących poniżej 0,97. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładach PUW, API, PPD, CAL, ruchomości czy obecności furkacji pomiędzy badanymi grupami.

## 4.3 Neopteryna

### 4.3.1 Neopteryna a nałóg palenia papierosów

Dla porównania stężeń neopteryny pomiędzy badanymi grupami palaczy i osób niepalących (rozkłady inne niż normalne) zastosowano test U Manna Whitney'a.

**Tabela 8. Poziom neopteryny w ślinie u osób palących i niepalących**

Wskaźnik	Palący n=40		Niepalący n=40		p
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
NEO1	145,18	74,31-325,9	207,37	67,9-302,52	0,9004
NEO2	83,08	30,63-248,65	115,86	49,59-200,48	0,9770
NEO3	46,35	5,64-99,75	69,27	14,11-137,5	0,3030

Me – mediana; Q1 - pierwszy kwartyl; Q3 - trzeci kwartyl; p – poziom istotności

NEO1 – poziom neopteryny w ślinie podczas I badania

NEO2 – poziom neopteryny w ślinie podczas II badania

NEO3 – poziom neopteryny w ślinie podczas III badania

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w rozkładach stężenia neopteryny pomiędzy badanymi grupami w żadnym z pobrań śliny podczas kolejnych wizyt danego pacjenta. W badaniu nie stwierdzono wpływu nałogu palenia tytoniu na poziom neopteryny w ślinie.

### 4.3.2 Korelacja stężenia neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi

W celu określenia korelacji stężenia neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi: PUW, API, mSBI, GI, PPD, CAL zastosowano współczynnik korelacji liniowej Pearsona.

Tabela 9. Korelacja poziomu neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi podczas I badania

	Neopteryna	
	rho	p
PUW	-0,03	0,806
API	<b>0,87</b>	<b>&lt;0,001</b>
mSBI	<b>0,74</b>	<b>&lt;0,001</b>
GI	<b>0,68</b>	<b>&lt;0,001</b>
PPD	<b>0,40</b>	<b>&lt;0,001</b>
CAL	0,02	0,8466

rho - współczynnik korelacji Spearmana; p - poziom istotności

Tabela 10. Korelacja poziomu neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi podczas II badania

	Neopteryna	
	rho	p
PUW	0,05	0,6408
API	<b>0,81</b>	<b>&lt;0,001</b>
mSBI	<b>0,76</b>	<b>&lt;0,001</b>
GI	<b>0,70</b>	<b>&lt;0,001</b>
PPD	<b>0,41</b>	<b>&lt;0,001</b>
CAL	0,10	0,4033

rho - współczynnik korelacji Spearmana; p - poziom istotności

**Tabela 11. Korelacja poziomu neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi podczas III badania**

	Neopteryna	
	rho	p
PUW	0,09	0,4082
API	<b>0,76</b>	<b>&lt;0,001</b>
mSBI	<b>0,79</b>	<b>&lt;0,001</b>
GI	<b>0,70</b>	<b>&lt;0,001</b>
PPD	<b>0,30</b>	<b>0,007</b>
CAL	0,12	0,2734

rho - współczynnik korelacji Spearmana; p – poziom istotności

W każdym z pobrań podczas kolejnych wizyt zaobserwowano dodatnie korelacje pomiędzy wskaźnikami API, mSBI, GI, PPD oraz CAL a stężeniem neopteryny.

## 4.4 Efektywność zastosowanego leczenia

W celu określenia efektywności zastosowanego niechirurgicznego leczenia *periodontitis* u osób palących i niepalących porównano różnice w wartościach wybranych wskaźników periodontologicznych pomiędzy I a III badaniem. W tym celu zastosowano test U Manna Whiney’a (rozkłady inne niż normalne).

**Tabela 12. Zmiany wartości wybranych wskaźników periodontologicznych pomiędzy I a III badaniem**

	Palący n=40		Niepalący n=40		p
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
różnica PUW3 - PUW1	0	0-0	0	0-0	0,9797
różnica API 3 - API 1	-22,2	-44;-8,9	-25,2	-57,25; -7,67	0,6406
<b>różnica mSBI3 - mSBI1</b>	<b>-10,2</b>	<b>-30,1;-4,6</b>	<b>-23,5</b>	<b>-55;-9,93</b>	<b>0,0196</b>
różnica GI3 - GI1	-0,35	-0,9;-0,15	-0,6	-0,99;-0,28	0,1461
różnica PPD3 - PPD1	-0,19	-0,33;-0,10	-0,22	-0,36;-0,10	0,8947
różnica CAL3 - CAL1	0,11	0,05; 0,2	0,11	0,06;0,2	0,9024
różnica NEO 3 - NEO 1	-81,21	-143,66;58,84	-100,7	-155,05;-31	0,8061

Me – mediana; Q1 - pierwszy kwartył; Q3 - trzeci kwartył; p – poziom istotności

Różnica wartości wskaźnika mSBI pomiędzy pomiarem w badaniu podczas I i III wizyty była istotnie większa u osób niepalących w porównaniu z osobami palącymi tytoń. U połowy osób palących wskaźnik pomniejszył się o co najmniej 10,2 %, natomiast u osób niepalących zmniejszył się o 23,5%. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zmianach pozostałych wskaźników jak i zmianach stężeń neopteryny pomiędzy palącymi i niepalącymi w czasie kolejnych wizyt.

## 5. Dyskusja

Nieustanny rozwój diagnostyki powoduje, że na wiele chorób, w tym także na *periodontitis*, zaczyna się patrzeć z zupełnie innej perspektywy. O postawieniu rozpoznania nie decydują tylko i wyłącznie objawy kliniczne. Wprowadzenie metod diagnostycznych opierających się na analizie podstaw immunologiczno-biochemicznych chorób przyzębia powinno umożliwić nie tylko postawienie prawidłowej diagnozy, ale także ułatwić podjęcie decyzji o wdrożeniu odpowiedniego leczenia przed powstaniem nieodwracalnych zmian w przyzębiu. Prowadzone są badania nad substancjami biochemicznymi, które pozwoliłyby określić zasady postępowania z danym pacjentem przy określonych wartościach badanych wskaźników. W piśmiennictwie istnieją duże rozbieżności odnośnie do możliwości wykorzystania różnych czynników humoralnych zawartych w ślinie, płynie z kieszonki dziąsłowej czy krwi. Wciąż poszukuje się biomarkerów mogących przyczynić się do obiektywizacji diagnostyki periodontologicznej, a także będących przydatnym wskaźnikiem aktywności choroby czy przebiegu zastosowanego leczenia (117).

### 5.1 Wpływ niechirurgicznego leczenia *periodontitis* na poziom neopteryny u palaczy i u osób niepalących

Celem leczenia periodontologicznego jest wyprowadzenie tkanek przyzębia ze stanu zapalnego i zapoczątkowanie ich gojenia (121). Podstawą leczenia niechirurgicznego zapaleń przyzębia jest mechaniczne usuwanie złogów nad- i poddziąsłowych, co ma prowadzić do zredukowania liczby patogenów do poziomu, z którym układ immunologiczny gospodarza byłby w stanie sobie poradzić (122). W celu poprawienia efektywności zastosowanego leczenia można zastosować dodatkowe metody redukcji liczby drobnoustrojów, jak płukanki przeciwbakteryjne, miejscowa i ogólnoustrojowa antybiotykoterapia czy lasery. Istotne byłoby znalezienie takich poziomów substancji biochemicznych, które wskazywałyby na konieczność zastosowania terapii wspomagających leczenie.

Prowadzono badania oceny przydatności oznaczania stężenia neopteryny w płynie z kieszonki dziąsłowej (GCF) w prognozowaniu i diagnostyce zapalenia przyzębia, które wykazały jej wyższe stężenie u osób z przewlekłą chorobą przyzębia (123). Ozmierić i wsp.

udokumentowali, że stężenie neopteryny w GCF jest znacznie wyższe u chorych z przewlekłym zapaleniem przyzębia niż u osób ze zdrowym przyzęciem (117, 124). Arjunker i wsp. wykazali dodatnią korelację poziomu neopteryny w GCF z zapaleniem dziąseł i zapaleniem przyzębia. Średni poziom neopteryny był wyższy u osób z *periodontitis* ( $126.28 \pm 37.70$  nmol/L) niż u osób z *gingivitis* ( $70.68 \pm 18.26$  nmol/L) oraz osób ze zdrowym przyzęciem ( $48.66 \pm 18.82$  nmol/L). Wskazane są badania na większej grupie w celu określenia wartości referencyjnych. Oznaczanie poziomu neopteryny mogłoby być przydatne w monitorowaniu rozwoju choroby i mierzenia aktywności choroby (118). Neopteryna w ślinie może być potencjalnym biomarkerem służącym do identyfikacji choroby przyzębia na jej początkowym etapie, co wykazał Mahendra i wsp. w swoim badaniu nad poziomem neopteryny w ślinie niestymulowanej u osób zdrowych i z *periodontitis*. Pacjenci periodontologiczni mieli znacznie wyższe wartości neopteryny (95). W badaniach Bakhtadze i wsp. poziom neopteryny korelował ze stopniem zaawansowania choroby, tzn. najwyższy był w ciężkim zapaleniu przyzębia. Nieistotny statystycznie wynik uzyskano w przypadku łagodnego zapalenia przyzębia (125). Vrecko i wsp. Oceniali poziom neopteryny w różnych płynach ustrojowych osób dotkniętych chorobą przyzębia. Wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania choroby poziom neopteryny w moczu podnosił się nieznacznie. W przypadku neopteryny w ślinie korelacja była istotna statystycznie (126).

Także Pradeep i wsp. wskazali, że stężenie neopteryny w GCF było znacznie wyższe u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia niż u pacjentów z zapaleniem dziąseł i osób periodontologicznie zdrowych. W ich badaniu stężenie neopteryny w GCF zmniejszało się po leczeniu niechirurgicznym (127). W badaniu Ren i wsp. nastąpił istotny statystycznie spadek poziomu neopteryny w surowicy krwi po intensywnym leczeniu pacjentów z umiarkowanym i ciężkim *periodontitis* w przeciągu miesiąca od zastosowanego leczenia (128). Również w badaniu Zeynep i wsp. u pacjentów kardiologicznych z przewlekłą chorobą przyzębia nastąpił spadek poziomu neopteryny po trzech i sześciu miesiącach od zastosowanego leczenia periodontologicznego (poziom neopteryny był mierzony zarówno w surowicy krwi, jak i w płynie kieszonki dziąsłowej) (129). Prasanna i wsp. mierzyli poziom neopteryny w ślinie u kobiet przed i po okresie menopauzy ze stwierdzoną chorobą przyzębia. W obu grupach poziom neopteryny spadł po trzech miesiącach od zastosowanego niechirurgicznego leczenia *periodontitis*. Poziom neopteryny mógłby stanowić podstawę do oceny statusu periodontologicznego pacjenta (130, 131). W pilotażowym badaniu Vrecko i wsp. sugerowali, że miejscowy status odpowiedzi immunologicznej pacjenta może mieć odzwierciedlenie

w poziomie neopteryny w ślinie, w przeciwieństwie do jej poziomu w moczu (132). W badaniach prowadzonych na populacji chińskiej Ren i wsp. wykazali wyższe stężenie neopteryny w krwi u pacjentów z umiarkowanym i ciężkim zapaleniem przyzębia niż u osób zdrowych. Poziom neopteryny obniżył się znacząco po zastosowanym leczeniu periodontologicznym, co może sugerować wpływ terapii na spadek odpowiedzi immunologicznej gospodarza indukowanej przez aktywację makrofagów. Mierzone wartości neopteryny mogłyby mieć odzwierciedlenie w monitorowaniu przebiegu choroby (133).

Natomiast w badaniu potencjalnych dawców krwi Ziebolz i wsp. nie znaleźli powiązania pomiędzy poziomem neopteryny we krwi a chorobą przyzębia. Oznaczany poziom neopteryny we krwi był poniżej wartości referencyjnych (134).

W obecnej pracy poziom neopteryny zmniejszał się podczas zastosowanego leczenia niechirurgicznego *periodontitis* w ciągu wszystkich trzech kolejnych wizyt (zarówno w grupie palaczy, jak i osób niepalących). Jednakże spadek ten nie wykazywał istotności statystycznej.

## **5.2 Różnice w stanie zdrowia palaczy i osób niepalących na podstawie wybranych wskaźników periodontologicznych**

W badaniu Rudzińskiego na temat wpływu metabolitów nikotyny na przebieg i intensywność przewlekłych zapaleń przyzębia przewlekłych u osób palących tytoń oceniano: wskaźnik higieny jamy ustnej (API), zmodyfikowany wskaźnik krwawienia z kieszonki przyzębnej (mSBI), głębokość kieszonek przyzębnych (PD, w mm), utratę przyczepu nabłonkowo- łącznotkankowego (CAL, w mm), recesję przyzębia (w mm), odsetek zębów z patologiczną ruchomością oraz liczbę zębów utraconych z powodu zapalenia przyzębia. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy liczbami zębów zachowanych oraz zębów utraconych u osób z nawykiem palenia tytoniu. Nasilenie zmian chorobowych u palących było większe, lecz poziom higieny był porównywalnie zły w obu grupach: palaczy i osób niepalących. Średnia wartość wskaźnika API w grupie niepalących tytoń wynosiła 67,2%, a u palaczy 84,9%. U palących stwierdzono znacząco niższy odsetek miejsc krwawiących przy zgłębnikowaniu kieszonek przyzębnych, mimo porównywalnego między badanymi grupami poziomu higieny – u palaczy wynosił 13,9%, a u niepalących 60,3%. Zaawansowanie zmian destrukcyjnych w przyzębiu – znaczna utrata przyczepu nabłonkowego oraz wyższy odsetek



zębów wykazujących ruchomość i furkacje– było większe u palaczy. Średnia wartość PD u pacjentów niepalących wynosiła 4,8 mm ( $\pm 1,1$ ), a u osób nałogowo palących 5,9 mm ( $\pm 1,3$ ); natomiast średnia wartość utraty CAL u pacjentów niepalących to 7,2 mm ( $\pm 1,8$ ), u osób nałogowo palących 8,7 mm ( $\pm 2,2$ ). Analiza statystyczna wyników wykazała, że jedynie średnie wartości recesji nie różniły się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi grupami pacjentów. Średni odsetek zębów wykazujących kliniczną patologiczną ruchomość zębów w grupie pacjentów niepalących wynosił 21,0%, natomiast w grupie pacjentów nałogowo palących był o ponad połowę wyższy i wynosił 47,4%. U osób niepalących odsetek zębów wykazujących destrukcję tkanki kostnej w przestrzeni międzykorzeniowej wynosił średnio 2,5%, w grupie palaczy natomiast był prawie pięciokrotnie wyższy, wynosząc średnio 10,7%. W grupie pacjentów niepalących papierosy z przewlekłym zapaleniem przyzębia, średnia liczba zębów zachowanych w jamie ustnej wynosiła 24,9, a średnia liczba zębów utraconych z powodu przewlekłego zapalenia przyzębia – 7,1. Natomiast w grupie pacjentów nałogowo palących tytoń średnia liczba zębów zachowanych w jamie ustnej to 21,2 zębów, a średnia liczba zębów utraconych z powodu przewlekłego zapalenia przyzębia to 10,8 zębów (135).

Również Shimazaki i wsp. wykazali wyższe wartości wskaźników periodontologicznych u osób palących. Nałogowych palaczy cechował większy stopień utraty CAL, większa głębokość PD oraz zredukowany objaw krwawienia przy zgłębnikowaniu (136). W badaniu Nassrawin wskaźnik krwawienia oraz utraty przyczepu były wyższe w grupie palaczy. Natomiast wskaźnik higieny jamy ustnej był porównywalny w obu grupach (137). W badaniu Erdemir i wsp. wskaźnik CAL był statystycznie wyższy u palaczy. Natomiast wskaźniki BOP i GI były wyższe u osób niepalących (138). Mokeem i wsp. stwierdzili głębsze kieszonki przyzębne ( $4.64 \pm 0.30$  mm) u palaczy niż u osób niepalących ( $4.24 \pm 0.38$  mm). Również palacze mieli większą utratę przyczepu ( $3.08 \pm 0.28$  mm) niż niepalacze ( $2.74 \pm 0.42$  mm) (139). Również Multani zbadał głębsze kieszonki przyzębne u palaczy ( $2.06 \pm 0.16$  mm) niż u osób niepalących ( $1.11 \pm 0.32$  mm) (140). Vouros i wsp. przeprowadzali badanie na mieszkańcach Grecji z chorobą przyzębia. U nałogowych palaczy stwierdzili niższy wskaźnik krwawienia niż u umiarkowanych i okazjonalnych palaczy oraz osób nigdy niepalących (141).

Badacze uzyskiwali odmienne wyniki przy porównywaniu wybranych wskaźników periodontologicznych wśród grup palaczy i osób niepalących. Najczęściej stwierdzano większą utratę przyczepu łącznotkankowego oraz głębsze kieszonki przyzębne u palaczy.

Wskaźniki higieny w większości badań były gorsze u palaczy. Wskaźnik krwawienia w nielicznych badaniach jest wyższy u palaczy.

W obecnej pracy wyższe wartości zarówno mSBI, jak i GI zaobserwowano u osób niepalących w porównaniu z palącymi tytoń. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładach PUW, API, PPD, CAL, ruchomości czy obecności furkacji pomiędzy badanymi grupami. Wyniki te dotyczą każdego z pomiarów dokonywanych podczas trzech kolejnych wizyt.

### **5.3 Różnice w efektywności zastosowanego leczenia periodontitis u palaczy i u osób niepalących**

Nassrawin porównał wyniki po zastosowanym niechirurgicznym leczeniu w grupie palaczy i osób niepalących. Utrata przyczepu po była większa u nałogowych palaczy. Pomimo początkowo wyższego wskaźnika krwawienia u palaczy, po zastosowanym leczeniu uzyskano podobne wyniki wskaźników periodontologicznych w obu grupach. Higiena jamy ustnej była porównywalna w obu grupach zarówno przed, jak i po terapii (137). W badaniu Erdemir i wsp. wskaźnik GI, po zastosowanym niechirurgicznym leczeniu *periodontitis*, zmniejszył się zarówno wśród palaczy, jak i osób niepalących w okresie trzech i sześciu miesięcy od wizyty higienizacyjnej (138). W długoletnim badaniu De Wet i wsp. wykazali znaczące zmniejszenie wskaźnika BOP i głębokości kieszonek (142). Preus porównywał efektywność zastosowanego niechirurgicznego leczenia po okresie roku. Wyniki wskazały, że większą poprawę przyniosła terapia u obecnych palaczy niż u byłych palaczy czy osób nigdy niepalących (143).

W przeprowadzonym przeze mnie badaniu, w obu grupach wskaźniki uległy poprawie po zastosowanym leczeniu. Statystycznie lepsze wyniki uzyskano jedynie w stosunku do wartości wskaźnika mSBI u palaczy. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zmianach wartości pozostałych wskaźników, jak i zmianach stężeń neopteryny pomiędzy palącymi i niepalącymi, w czasie kolejnych wizyt.

### **5.4 Korelacja poziomu neopteryny z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi**

W badaniach Pradeep i wsp. przeprowadzonych na dużej grupie pacjentów określono, że stężenie neopteryny w GCF było znacznie wyższe u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia niż u pacjentów z zapaleniem dziąseł i osób periodontologicznie zdrowych. Wykazano także dodatnią korelację stężenia neopteryny z wartością wskaźnika CAL (130). Mahendra i wsp. stwierdzili, że poziom neopteryny w ślinie niestymulowanej jest wyższy u osób z przewlekłą chorobą przyzębia niż u osób zdrowych. Wzrost stopnia zaawansowania choroby ma odzwierciedlenie w poziomie neopteryny. Wykazano dodatnią korelację między stężeniem neopteryny w ślinie a wskaźnikami periodontologicznymi PPD (współczynnik korelacji Pearsona: 0,946), BOP (współczynnik korelacji Pearsona: 0,379), CAL (współczynnik korelacji Pearsona: 0,858) (95). W badaniach Arjunkumar i wsp. wykazano, że poziom neopteryny w GCF związany jest ze wzrostem ciężkości *periodontitis* i może być stosowany do monitorowania aktualnego statusu choroby u pacjenta. Jednakże brak istotnego statystycznie powiązania poziomu neopteryny z różnymi parametrami klinicznymi (OHI, GI, CAL i średnia ilość zębów), co wymaga dalszych szczegółowych badań (118). U pacjentów po przebytych zawale serca ze stwierdzoną chorobą przyzębia Çankaya i wsp. wykazali istotną statystycznie korelację poziomu neopteryny w GCF ze wskaźnikiem utraty przyczepu łącznotkankowego. Natomiast brak było korelacji ze wskaźnikami PI i BOP (144).

W przeprowadzonych przeze mnie pomiarach podczas każdej z trzech wizyt zaobserwowano istotne statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy wskaźnikami API, mSBI, GI oraz PD a stężeniem neopteryny w ślinie pacjentów z *periodontitis*. Nie wykazano natomiast istotnej statycznie zależności ze wskaźnikiem PUW oraz CAL.

## 6. Wnioski

1. W przeprowadzonym badaniu niechirurgiczne leczenie chorób przyzębia nie ma istotnego statystycznie wpływu na zmiany poziomu neopteryny w ślinie zarówno u osób palących, jak i niepalących.

2. U osób palących stwierdzono niższe wartości wskaźników periodontologicznych mSBI i GI. Pomędzy badanymi grupami nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w rozkładach PUW, API, PPD, CAL, ruchomości zębów czy obecności furkacji.

3. Istnieją różnice w efektywności zastosowanego niechirurgicznego leczenia *periodontitis* w badanych grupach palaczy i osób niepalących. Różnica wartości wskaźnika mSBI pomiędzy pomiarem w badaniu podczas I i III wizyty była istotnie większa u osób niepalących w porównaniu z osobami palącymi tytoń; nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zmianie poziomu pozostałych wskaźników; obserwuje się również spadek poziomu neopteryny w ślinie wraz z poprawą stanu miejscowego w wyniku zastosowanego leczenia w obu grupach, lecz jest on nieistotny statystycznie.

4. Nałóg palenia nie ma istotnego statystycznie wpływu na poziom stężenia neopteryny w ślinie u osób z chorobami przyzębia.

5. Zaobserwowano istotne statystycznie dodatnie korelacje pomiędzy wskaźnikami API, mSBI, GI oraz PPD a stężeniem neopteryny w ślinie pacjentów z *periodontitis* w obu badanych grupach.

## 7. Streszczenie pracy

Zapalenie przyzębia (*periodontitis*) to uwarunkowana zapalnie choroba tkanek mocujących zęb, w której dochodzi do destrukcji podłoża kostnego oraz utraty przyczepu łącznotkankowego (1). Progresja choroby zależy od osobniczej podatności gospodarza, jego wrodzonej i nabytej odporności immunologicznej oraz od wpływu czynników środowiskowych, np. stresu czy palenia papierosów (3).

Palenie tytoniu powoduje zaburzenie procesów obronno-naprawczych zachodzących w przyzębiu. Sprawia to, że choroba przyzębia przebiega ze szczególną intensywnością i znacząco pogarsza odpowiedź organizmu na leczenie (56).

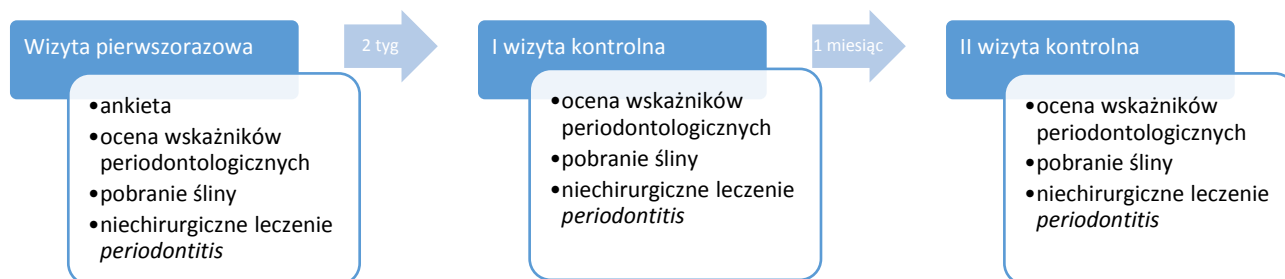
Neopteryna należy do grupy związków chemicznych zwanych pterydynami. Jest nieswoistym, niskocząsteczkowym mediatorem odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego (106, 107). Zmienność stężenia w zależności od stanu zapalnego pozwala na zastosowanie oznaczania poziomu neopteryny jako biochemicznego wskaźnika prognostycznego oraz efektywności zastosowanego leczenia. (97, 115).

Celem pracy było ustalenie, czy niechirurgiczne leczenie chorób przyzębia ma wpływ na zmiany w poziomie neopteryny w ślinie osób palących i niepalących tytoń. Dodatkowo wytyczono następujące cele badawcze:

1. Czy istnieją różnice w stanie zdrowia jamy ustnej osób palących i niepalących tytoń?
2. Czy są różnice w efektywności zastosowanego niechirurgicznego leczenia *periodontitis* u palaczy i u osób niepalących z uwzględnieniem wskaźników periodontologicznych?
3. Czy nałóg palenia tytoniu wpływa na poziom neopteryny w ślinie?
4. Czy istnieje korelacja poziomu neopteryny w ślinie z wybranymi wskaźnikami periodontologicznymi u osób z chorobami przyzębia palących i niepalących tytoń?

Badanie było prowadzone wśród pacjentów zgłaszających się do Poradni Chorób Przyzębia Uniwersyteckiej Kliniki Stomatologicznej w Krakowie w latach 2015-2017. Badaniem objęto dwie grupy pacjentów (palaczy i osób niepalących) z chorobą przyzębia.

## Protokół badania



Oceniano intensywność próchnicy PUW, wskaźnik płytki bakteryjnej powierzchni stycznych (API) wg Langego i wsp., zmodyfikowany wskaźnik krwawienia z kieszonek przyzębnych (mSBI) wg Langego, głębokość kieszonek przyzębnych (PPD), wskaźnik dziąsłowy (GI) wg Löego i Silnessa, utrata przyczepu łącznotkankowego (CAL), ruchomość zębów wg. skali Halla, utrata przyzębia w przestrzeniach międzykorzeniowych (furkacji) wg klasyfikacji Hampa. Za pomocą Human Neopterin ELISA Kit określono poziom neopteryny w pobranej próbce śliny.

Badanie wykazało:

1. brak wpływu niechirurgicznego leczenia *periodontitis* na poziom neopteryny w ślinie osób palących i niepalących
2. niższe wartości wskaźników mSBI i GI u palaczy
3. różnice w efektywności zastosowanego niechirurgicznego leczenia *periodontitis* w badanych grupach
4. brak wpływu nałogu palenia na poziom stężenia neopteryny w ślinie
5. dodatnią korelację pomiędzy wskaźnikami API, mSBI, GI i PPD a poziomem neopteryny w ślinie.

## 8. Summary

Periodontitis is an inflammatory disease of the tissues surrounding a tooth, in which the bone matrix is destroyed and the connective tissue attachment is lost (1). Progression of the disease depends on the host's individual susceptibility, its innate and acquired immunological immunity and on the influence of environmental factors, eg stress or cigarette smoking (3).

Smoking causes disruption of the defense and repair processes taking place in the periodontium. This makes the periodontal disease proceed with increased intensity and significantly worsens response to treatment (56)

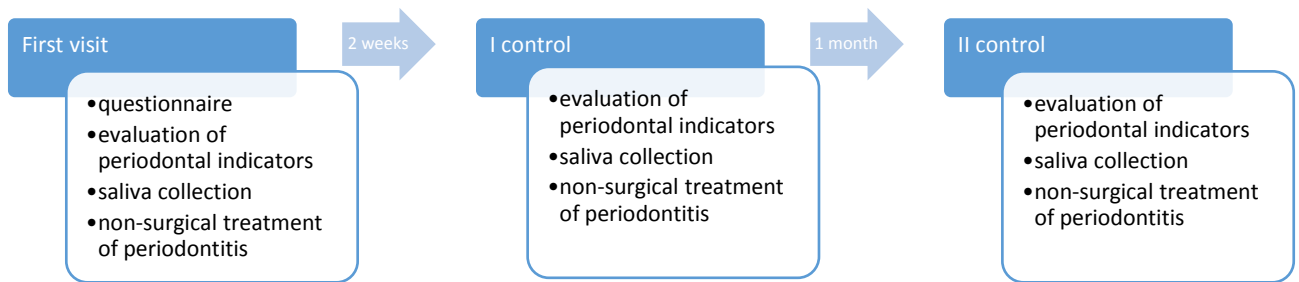
Neopterin belongs to a group of chemical compounds called pteridines. It is a non-specific, low-molecular mediator of the cell-mediated immune response (106, 107). Variability of its concentration depending on the inflammatory status allows to use the level of neopterin as a biochemical indicator of prognosis and efficiency of treatment (97, 115).

The aim of the study was to determine whether non-surgical treatment of periodontal disease affects changes in neopterin levels in the saliva of smokers and non-smokers. In addition, the following research objectives have been set:

1. Are there any differences in oral health of smokers and non-smokers?
2. Are there any differences in the effectiveness of the non-surgical treatment of periodontitis in smokers and non-smokers, including periodontal indicators?
3. Does the habit of smoking influence the level of neopterin in saliva?
4. Is there a correlation of the level of neopterin in saliva with selected periodontological indicators in smokers and non-smokers with periodontal disease?

The study was conducted among patients of the Periodontal Diseases Clinic of the University Dental Clinic in Krakow in 2015-2017. The study covered two groups of patients (smokers and non-smokers) with periodontal disease.

## Study protocol



During the study some periodontal indicators were assessed: indicator of caries intensivity (PUW), Approximal Plaque Index (API) (according to Lange), modified sulcus bleeding index (mSBI), pocket packet depth (PPD), gingival Index (GI) according to Løe and Silness, clinical attachment loss (CAL), mobility of tooth (according to Halls's scale), a furcation defect (Hamp's classification). Level of neopterin was determined in the salivary sample taken using the Human Neopterin ELISA Kit.

The study showed:

1. No effect of non-surgical treatment of periodontitis on neopterin level in the saliva of smokers and non-smokers.
2. Lower values of mSBI and GI indices in smokers.
3. Differences in the effectiveness of the non-surgical treatment of periodontitis in the studied groups.
4. No effect of smoking habit on the level of neopterin in saliva.
5. Positive correlation between the API, mSBI, GI and PPD indicators and the level of neopterin in saliva.



## 9. Piśmiennictwo

1. Wolf HF, Rateitschak EM i KH: *Periodontologia*. Lublin 2012, p. 1-5
2. Eley BM, Soory M, Manson JD: *Periodontologia*. Wrocław 2011, p. 43-48, 138-145, 149-159, 171-187
3. Pietruska M: *Regeneracja tkanek przyzębia*. Warszawa 2017, p.71-74
4. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW: Periodontal diseases. *The Lancet* 2005; 366(9499): 1809–1820
5. Albandar JM: Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontology* 2002; 29(1): 177–206
6. Lorenzo SM, Alvarez R, Andrade E, Piccardo V, Francia A, Massa F, Correa MB, Peres MA: Periodontal conditions and associated factors among adults and the elderly: findings from the first National Oral Health Survey in Uruguay. *Cad Saude Publica*. 2015 Nov; 31(11): 2425-36
7. Chrysanthakopoulos NA: Periodontal Disease Status in an Isolated Greek Adult Population *J Dent (Tehran)*. 2012 Summer; 9(3): 195–206
8. Petersen PE, Ogawa H: Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach. *J Periodontol* 2005; 76(12): 2187-2193
9. Petersen PE: The World Oral Health Report 2003:Continuous improvement of oral health in the 21st century – The approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003;(Suppl. 1): 3-24
10. Papapanou PN: Epidemiology of periodontal diseases: An update. *J Int Acad Periodontol* 1999; 1: 110-116
11. Albandar JM: Epidemiology and risk factors of periodontal diseases. *Dent Clin North Am*. 2005 Jul; 49(3): 517-32
12. Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-94. Hyattsville, MD: Centers for Disease Control;1997

13. Oliver RC, Brown LJ, Loe H: Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol* 1998; 69: 269-278
14. Position paper: epidemiology of periodontal diseases. American Academy of Periodontology. *J Periodontol*. 1996 Sep; 67(9): 935-45
15. Heilmann A, Tsakos G, Watt RG: A Life Course Perspective on Health Trajectories and Transitions. Chapter 3 Oral Health Over the Life Course
16. Nazir MA: Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017 Apr-Jun; 11(2): 72–80
17. Palma PV, Leite ICG: Epidemiology and Social Inequalities of Periodontal Disease in Brazil. *Front Public Health*. 2014; 2: 203
18. Chandra A, Yadav OM, Narula S, Dutta A: Epidemiology of periodontal diseases in Indian population since last decade. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016 Mar-Apr; 6(2): 91–96
19. Blas E, Kurup AS. Equity, Social Determinants and Public Health Programmes. Geneva: World Health Organization. 2010; 291
20. Borrell LN, Talih M: Examining Periodontal Disease Disparities Among U.S. Adults 20 Years of Age and Older: NHANES III (1988–1994) and NHANES 1999–2004. *Public Health Rep*. 2012 Sep-Oct; 127(5): 497–506
21. Aimetti M, Perotto S, Castiglione A, Mariani GM, Ferrarotti F, Romano F: Prevalence of periodontitis in an adult population from an urban area in North Italy: findings from a cross-sectional population-based epidemiological survey. *J Clin Periodontol*. 2015 Jul;42(7): 622-3
22. Jańczuk Z: Stan narządu zucia polskiej populacji. PAM, Szczecin 1990
23. Szatko F: Stan zdrowotny jamy ustnej ludności w wieku 35-44 i 65-74 lata z terenu Łodzi i województwa piotrkowskiego. *Czas. Stomat*. 1993, XLVI, 7-8: 485-490
24. Górka R, Pietruska M, Dembowska E, Wysokińska-Miszczuk J, Włosowicz M, Konopka T: Częstość występowania chorób przyzębia u osób w wieku 35–44 lat w populacji dużych aglomeracji miejskich. *Dent. Med. Probl*. 2012; 49, 1, 95–102
25. Jańczuk Z: Stan narządu zucia polskiej populacji. *Nowa Stomatol*. 1997; 3, 45–49

26. Iwanicka-Frankowska E, Wierzbicka M, Szatko F, Pierzynowska E, Zawadziński M: Stan zdrowia jamy ustnej polskiej populacji osób dorosłych w wieku 35–44 lat w latach 1998–2002. *Stomatol. Współ.* 2003; 10, 5, 9–14
27. Strużycka I, Wierzbicka M, Jodkowska E, Rusyan E, Ganowicz M, Ziemiecka K: Wyniki Monitoringu Stanu Zdrowia Jamy Ustnej populacji młodych dorosłych w Polsce w 2012 roku. *Nowa Stomatologia* 2013; 4, 195-199
28. Konopka T, Dembowska E, Pietruska m, Dymalski P, Górską R: Periodontal status and selected parametrs of oral conditio of Poles aged from 65 to 74 years. *Przeł Epidemiol* 2015; 69: 537-542
29. Górską R, Konopka T: *Periodontologia współczesna*. Otwock 2013, p. 55-272
30. Jańczuk Z: *Praktyczna periodontologia kliniczna*. Warszawa 2004, p. 23-36, 46-51
31. Silva N, Abuslem L., Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R, Hernandez M, Gamonal G: Host response mechanisms in periodontal diseases. *Appl Oral Sci.* 2015 May-Jun; 23(3): 329–355
32. Hasturk H, Kantarci A: Activation and resolution of periodontal inflammation and its systemic impact. *Periodontol 2000.* 2015 Oct; 69(1): 255–273
33. Steffens JP,2, Wang X, Starr JR, Spolidorio LC, Van Dyke TE, Kantarci A: Associations Between Sex Hormone Levels and Periodontitis in Men: Results From NHANES III. *J Periodontol.* 2015 Oct; 86(10): 1116-25
34. Shiau HJ, Reynolds MA: Sex differences in destructive periodontal disease: a systematic review. *J Periodontol.* 2010 Oct; 81(10): 1379-89
35. Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG: Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *Clin Periodontol.* 2008 Sep; 35(9): 754-67
36. Korona-Główniak I, Siwiec R, Berger M, Malm A, Szymańska J: Diagnostyka molekularna zapalenia przyzębia. *Postepy Hig Med Dosw* 2017; 71: 47-56
37. Preshaw PM, Bissett SM: Periodontitis: oral complication of diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2013; 42(4): 849–867

38. Løe H: Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993; 16(1): 329–334
39. Velasco-Ortega E, Delgado-Ruiz R, López-López J: Dentistry and Diabetes: The Influence of Diabetes in Oral Diseases and Dental Treatments. *J Diabetes Res.* 2016; 2016:6073190
40. Ying-Ying Wu, Xiao E, Graves DT: Diabetes mellitus related bone metabolism and periodontal disease. *Int J Oral Sci.* 2015 Jun; 7(2): 63–72
41. Taylor GW, Burt BA, Becker MP et al.: Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol* 1998; 69(1): 76–83
42. Leite RS, Marlow NM, Fernandes JK.: Oral health and type 2 diabetes *Am J Med Sci* 2013 Apr; 345(4): 271–273
43. Lee JH, Oh JY, Youk TM, Jeong SN, Kim YT, Choi SH: Association between periodontal disease and non-communicable diseases: A 12-year longitudinal health-examinee cohort study in South Korea. *Medicine (Baltimore).* 2017 Jun; 96(26): e7398
44. Winning L, Linden GJ *Curr: Periodontitis and Systemic Disease: Association or Causality?* *Oral Health Rep.* 2017; 4(1): 1–7
45. Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Lida M, Yamashita Y: Relationship between obesity, glucose tolerance, and periodontal disease in Japanese women: the Hisayama study. *J Periodontal Res.* 2005 Aug; 40(4): 346-53
46. Boillot A, El Halabi B, Batty GD, Rangé H, Czernichow S, Bouchard P: Education as a predictor of chronic periodontitis: a systematic review with meta-analysis population-based studies. *PLoS One.* 2011;6(7):e21508
47. Eke PI, Wei L, Thornton-Evans GO, Borrell LN, Borgnakke WS, Dye B, Genco RJ: Risk Indicators for Periodontitis in US Adults: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol.* 2016 Oct; 87(10): 1174-85
48. Bartłomiej G, Ewa G, Renata G: Klasyczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych a status periodontologiczny u pacjentów po świeżym zawale mięśnia sercowego. *Dent. Med. Probl.* 2015, 52, 3, 269–280

49. Salazar CR: The role of stress in periodontal disease progression in older adults. *Postdoc J.* 2013 Nov; 1(11): 15-26
50. Reibel J: Tobacco or oral health. *Bulletin of the World Health Organization.* 2005; 83: 643-4
51. WHO: The World Health Report: Shaping the Future. Geneva: WHO, 2003: <http://www.who.int/whr/2003/en/>
52. Raport z ogólnopolskiego badania ankietowego na temat postaw wobec palenia tytoniu na temat postaw wobec palenia tytoniu. TNS Polska dla Głównego Inspektoratu Sanitarnego 2017
53. Malhotra R, Kapoor A, Grover V, Kaushal S: Nicotine and periodontal tissues. *J Indian Soc Periodontol.* 2010 Jan-Mar; 14(1): 72–79
54. Vimal J, Vellappally S, Šmejkalová J: The influence of cigarette smoking on various aspects of periodontal health *Acta Medica* 2007; 50 (1): 3-5
55. Rech RS, Weber dos Santos K, Peters Maahs MA, Marques Vidor DCG: Masticatory Changes as a Result of Oral Disorders in Smokers. *Int Arch Otorhinolaryngol.* 2014 Oct; 18(4): 369–375
56. Rudziński R, Banach J: Wpływ nawyku palenia tytoniu na stan przyzębia oraz toksyczne oddziaływanie nikotyny i jej metabolitów na tkanki przyzębia. *Czas Stomatol.* 2008; 61: 635-643
57. Michalak E, Halko-Gąsior A, Chomyszyn-Gajewska M: Wpływ tytoniu na stan jamy ustnej – na podstawie piśmiennictwa. *Przegl Lek.* 2016; 73/7: 516-519
58. Benowitz NL, Jacob P: Effects of cigarette smoking and carbon monoxide on nicotine and cotinine metabolism. *Clin Pharmacol Ther.* 2000; 67: 653-659
59. Kyerematen GA, Morgan ML, Chattopadhyay B, deBethizy JD, Vesell ES: Disposition of nicotine and eight metabolites in smokers and nonsmokers: Identification in smokers of two metabolites that are longer lived than cotinine. *Clin Pharmacol Ther.* 1990; 48: 641-651
60. Tutka P, Mosiewicz J, Wielosz M: Pharmacokinetics and metabolism of nicotine. *Pharmacol Rep.* 2005; 57: 143-153

61. Winn M: Tobacco Use and Oral Disease Deborah. *J Dent Educ.* 2001 Apr;65(4): 306-12
62. Bergstrom J: Tobacco smoking and chronic periodontal disease. *Odontology* 2004; 92 (1): 1-8
63. Ismail AI, Burt BA, Eklund SA: Epidemiological patterns of smoking and periodontal disease in the United States. *Journal of the American Dental Association* 1983; 106 (5): 617-621
64. Martinez-Canut P, Lorca A, Magan R: Smoking and periodontal disease severity. *Journal of Clinical Periodontology.* 2005; 22 (10): 743-749
65. Stabholz A, Soskolne WA, Shapira L: Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis, *Periodontol* 2000. 2010 Jun; 53: 138-53
66. Bergström J: Cigarette smoking as risk factor in chronic periodontal disease. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1989; 17: 245–7
67. Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, et a: Assessment of risk for periodontal disease. *Risk indicators for alveolar bone loss. J. Periodontal.* 1995; 66 (1): 23-9
68. Gelskey S.C.: Cigarette smoking and periodontitis: Methodology to assess the strength of evidence in support to causal association. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27: 16–24
69. Albandar JM, Streckfus ChF, Adesanya MR, Winn DM: Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *J Periodontol.* 2000; 71: 1874-1881
70. Jaroniewski W: Tytoń - historia szkodliwość palenia. *Farmacja Pol.* 1995; 51: 573-578
71. Kyerematen GA, Morgan M, Warner G, Martin LF, Vesell ES: Metabolism of nicotine by hepatocytes. *Biochem Pharmacol.* 1990; 40: 1747-1756
72. Rech RS, Weber dos Santos K, Maahs MAP, Marques Vidor DCG: Oral Health in America: A Report of the Surgeon General. U.S. Department of Health and Human Services, National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, 2000. *Masticatory Changes as a Result of Oral Disorders in Smokers.*

73. Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA, et al. Tobacco and smoking: Environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1997; 8:437–60
74. Malhotra R, Kapoor A, Grover V, Kaushal S: Nicotine and periodontal tissues. *J Indian Soc Periodontol.* 2010 Jan-Mar; 14(1): 72–79
75. Karasneh JA, Al Habashneh RA, Aldain NS, Marzouka, Thornhill MH: Effect of cigarette smoking on subgingival bacteria in healthy subjects and patients with chronic periodontitis. *BMC Oral Health.* 2017; 17: 64
76. Nørskov-Lauritsen N, Kilian M: Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006; 56:2135–46
77. Sakamoto et al.: The adjectival form of the epithet in *Tannerella forsythia* 2002. Opinion 85. Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008; 58:1974
78. Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf K L: The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1994; 21: 91-97
79. Kaczmarek U, Malepszy A, Konopka T, Nowak-Malinowska H, Kozłowski Z: Wpływ palenia tytoniu na stan przyzębia. *Mag Stomatol.* 1995; 11: 27-31
80. Lie MA, Timmerman MF, Van der Velden U, Van Der Weijden GA: Evaluation of 2 methods to assess gingival bleeding in smokers and non-smokers in natural and experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 695–700
81. Agnihotri R, Gaur S: Implications of tobacco smoking on the oral health of older adults. *Geriatr Gerontol Int.* 2014; 14: 526–540
82. Jette AM, Feldman HA, Tennstedt SL: Tobacco use: A modifiable risk factor for dental disease among the elderly. *Am J Public Health.* 1993;83:1271–6
83. Grossi SG, Zambon J, Machtei EE, et al.: Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc* 1997; 128:599–07

84. James JA, Sayers NM, Drucker DB, Hull PS: Effect of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol* 1999; 70: 518–25
85. Johnson GK, Hill M: Cigarette smoking and the periodontal patient. *J Periodontol* 2004; 75: 196–209
86. Kinane DF, Chestnutt IG: Smoking and periodontal disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 2000; 11: 356
87. Haffajee AD, Socransky SS: Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 283–95
88. Bergström J, Eliasson S, Preber H: Cigarette smoking and periodontal bone loss. *J Periodontol.* 1991; 62: 809
89. Bolin A, Eklund G, Frithiof L, Lavstedt S: The effect of changed smoking habits on marginal alveolar bone loss: A longitudinal study. *Swed Dent J.* 1993; 17: 211–6.
90. Bergström J, Eliasson S, Dock J: A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. *J Periodontol.* 2000 ;71: 1338–47
91. Zawada Ł, Chrzęszczyk D, Konopka T: Definicje zapaleń przyzębia w wybranej grupie dorosłych mieszkańców Wrocławia. *Dent. Med. Probl.* 2012; 49, 4, 537–542
92. Villa-Correa YA, Isaza-Guzmán DM, Tobón-Arroyave SI: Influence of Periodontal Clinical Status on Salivary Levels of Glutathione Reductase. *J Periodontol.* 2016 Jun;87(6):716-24
93. Isaza-Guzmán DM, Medina-Piedrahíta VM, Gutiérrez-Henao C, Tobón-Arroyave SI: Levels of NLRP3 Inflammasome-Related Proteins as Potential Biomarkers of Periodontal Clinical Status. *J Periodontol.* 2017 Jul; 10: 1-13
94. Gümüş P, Nizam N, Nalbantsoy A, Özçaka Ö, Buduneli N: Saliva and serum levels of pentraxin-3 and interleukin-1 $\beta$  in generalized aggressive or chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2014 Mar; 85(3):e40-6
95. Mahendra L, Mahendra J, Borra SK, Nagarajan A: Estimation of salivary neopterin in chronic periodontitis. *Indian J Dent Res.* 2014 Nov-Dec;25(6): 794-6
96. Szydłarska D, Grzesiuk W, Kupstas A, Bar-Andziak E: Ślina jako materiał diagnostyczny. *Forum Medycyny Rodzinnej* 2008; tom 2, nr 6, 454–464



97. Chomyszyn-Gajewska M: Ślina jako czynnik diagnostyczny w chorobach przyzębia - ocena wybranych markerów, *Przegląd Lekarski*, 2010/67/3, 213-216
98. Tóthová L, Kamodyová N, Červenka T, Celec P: Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front Cell Infect Microbiol*. 2015; 5: 73
99. Schwartz EB, Granger DA: Transferrin enzyme immunoassay for quantitative monitoring of blood contamination in saliva. *Clin. Chem.* 2004; 50, 654–656
100. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DTW: Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct; 26(4): 781–791
101. Gursoy UK, Könönen E: Use of Saliva in Diagnosis of Periodontitis: Cumulative Use of Bacterial and Host-Derived Biomarkers. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016; 6: 196
102. Ganowicz E: Wykorzystanie śliny w diagnostyce chorób ogólnoustrojowych. *Dent. Med. Probl*. 2011, 48, 4, 554–561
103. Rembold H, Buschmann L: Struktur und Synthese des Neopterin. *Chem Ber* 1963; 96: 1406-1410
104. Murr C, Widner B, Wirleitner B, et al.: Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab* 2002; 3: 175–187
105. Sakurai A, Goto M: Neopterin: isolation from human urine. *J Biochem* 1967; 61: 142-145
106. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, et al.: Immune response-associated production of neopterin - Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 184; 160: 310-316
107. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D et al.: Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1). *Cancer Res* 1990; 50: 2863-2867
108. Nachbaur K, Troppmair J, Bieling P, Kotlan B, König P, Huber Ch: Cytokines in the control of beta-2 microglobulin release. In vitro studies on various haemopoietic cells. *Immunobiology* 1988; 177: 55-65
109. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H: Tumour necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide enhance interferon-induced tryptophan

degradation and pteridine synthesis in human cells. *Biol Chem Hoppe Seyler* 1989; 370: 1063-1069

110. Ledechowski M, Murr C, Widner B, et al.: Association between insulin resistance, body mass and neopterin concentrations. *Clin Chim Acta* 1999; 282: 115-123

111. Mayersbach P, Augustin R, Schennach H, et al.: Commercial enzyme-linked immunosorbent assay for neopterin detection in blood donations compared with RIA and HPLC. *Clin Chem* 1994; 40:265-266

112. Fuchs D, Wachter H: Neopterin. W. *Clinical Laboratory Diagnostics*. Red. L. Thomas. Frankfurt, Germany, 1998, 707

113. Dudlik P, Miczke A, Bogdański P: Neopteryna — nowe możliwości monitorowania miażdżycy. *Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2016; 7(4): 176-181

114. Bartold M, Matowicka-Karna: Neopteryna jako marker stanów zapalnych. *Diagn Lab* 2015; 51(2): 153-156

115. Świetlicka I, Korzeniowska K, Jabłecka A: Neopteryna. *Farmacja współczesna*, 2008, 241-247

116. Bayer M, Schmitz S, Westermann J, et al.: Evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of neopterin. *Clin Lab* 2005; 51: 495-504

117. Konopka Ł, Brzezińska-Błaszczyk E: Mediators reakcji immunologiczno-zapalnej jako biomarkery zapaleń przyzębia, *Dent. Med. Probl.*, 2011, 48, 2, 236-242

118. Arjunker R, Sudhakar U, Jayakumar P, Arunachalam L, Suresh S, Virupapuram P: Comparative analysis of gingival crevicular fluid neopterin levels in health and periodontal disease: A biochemical study. *Indian J Dent Res.* 2013 Sep-Oct;24(5); 582-586

119. Górski B, Ganowicz E, Górka R: Ocena przydatności trzech systemów klasyfikacyjnych chorób przyzębia w stratyfikacji ryzyka sercowo-naczyniowego. *Dent. Med. Probl.* 2015, 52, 3, 281-290

120. Knaś M, Zalewska A, Daniszewska I, Waszkiel D: Wybrane enzymy śliny w przebiegu twardziny układowej. *Dent. Med. Probl.* 2014, 51, 1, 79-85

121. Suckiel-Papiór K, Radwan-Oczko M: Metody oceny gojenia tkanek przyzębia po terapii periodontologicznej. *Dental Forum* 1/2015/XLIII

122. Dembowska E, Samulak-Zielińska R, Suwała M: Niechirurgiczne, wspomagane laserami leczenie zapaleń przyzębia. MS 9/2016
123. Fiorillo L, Cervino G, Herford AS, Lauritano F, D'Amico C, Lo Giudice R, Laino L, Troiano G, Crimi S, Ciccì M: Interferon Crevicular Fluid Profile and Correlation with Periodontal Disease and Wound Healing: A Systemic Review of Recent Data. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(7):1908
124. Ozmeriç N, Baydar T, Bodur A, Engin A.B, Uraz A, Eren K, Sahin G: Level of neopterin, a marker of immune cell activation in gingival crevicular fluid, saliva, and urine in patients with aggressive periodontitis. *J. Periodontol.* 2002, 73, 720–725
125. Bakhtadze MG, Margvelashvili VV, Kamkamidze GK: Interferon-gamma and neopterin in blood serum of patients with chronic periodontitis. *Georgian Med News*. 2006 Jan;(130):50-3
126. Vrecko K, Staedtler P, Mischak I, Maresch L, Reibnegger G: Periodontitis and concentrations of the cellular immune activation marker neopterin in saliva and urine. *Clin Chim Acta*. 1997 Dec 10;268(1-2):31-40
127. Pradeep A.R., Kumar M.S., Ramachandraprasad M.V., Shikha C.: Gingival crevicular fluid levels of neopterin in healthy subjects and in patients with different periodontal diseases. *J. Periodontol.* 2007, 78, 1962–1967
128. Ren J, Chen YB, Zhang YY, Zhou QB, Chen S, Yang JY, Tao J: Decreased circulating neopterin is associated with increased arterial elasticity: a beneficial role of periodontal treatment. *Aust Dent J*. 2015 Jan 20.
129. Çankaya Z, Bodur A, Taçoy G, Ergüder I, Aktuna D, Çengel A: The effect of periodontal therapy on neopterin and vascular cell adhesion molecule-1 levels in chronic periodontitis patients with and without acute myocardial infarction: a case-control study. *J Appl Oral Sci*. 2018; 26
130. Prasanna JS, Sumadhura C, Karunakar P, Rohini N: Comparative Evaluation of Salivary Neopterin Levels and Its Effects to Periodontal Therapy in Pre- and Post-Menopausal Women. *J Menopausal Med*. 2017 Apr;23(1):32-41
131. Prasanna JS, Sumadhura C, Karunakar P, Rekharani K, Himabindu G, Manasa A: Correlative analysis of plasma and urine neopterin levels in the pre- and post-menopausal

women with periodontitis, following nonsurgical periodontal therapy. *J Indian Soc Periodontol.* 2017 Jul-Aug;21(4):276-284

132. Vrecko K, Staedtler P, Mischak I, Maresch L, Reibnegger G: Periodontitis and concentrations of the cellular immune activation marker neopterin in saliva and urine. *Clin Chim Acta.* 1997 Dec 10;268(1-2):31-40

133. Ren J, Chen YB, Zhang YY, Zhou QB, Chen S, Yang JY, Tao J: Decreased circulating neopterin is associated with increased arterial elasticity: a beneficial role of periodontal treatment. *Aust Dent J.* 2016 Mar;61(1):76-83

134. Ziebolz D, Jäger GC, Hornecker E, Mausberg RF: Periodontal findings and blood analysis of blood donors: a pilot study. *J Contemp Dent Pract.* 2007 Jul 1;8(5):43-50

135. Rudziński R: Wpływ metabolitów nikotyny na przebieg i intensywność zapaleń przyzębia przewlekłych u osób palących tytoń. *Ann Acad Med Stetin.* 2010;56(2):97-105

136. Shimazaki Y, Saito T, Kiohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M. et al.: The influence of current and former smoking on gingival bleeding: the Hisayama study. *J Periodontol.* 2006, 77 (8), 1430–1435

137. Nassrawin NA: Effect of smoking on the response to nonsurgical periodontal therapy. *East Mediterr Health J.*, 2010 Feb; 16(2):162-5

138. Erdemir EO, Duran I, Haliloglu S: Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF alpha in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2004 Feb;31(2):99-104

139. Mokeem SA, Vellappally S, Preethanath RS, Hashem MI, Al-Kheraif AA, Anil S: Influence of smoking on clinical parameters and gingival crevicular fluid volume in patients with chronic periodontitis. *Oral Health Dent Manag.* 2014 Jun;13(2):469-73

140. Multani S: Interrelationship of smoking, lip and gingival melanin pigmentation, and periodontal status. *Addict Health.* 2013 Winter-Spring;5(1-2):57-65

141. Vouros ID, Kalpidis CD, Chadjipantelis T, Konstantinidis AB: Cigarette smoking associated with advanced periodontal destruction in a Greek sample population of patients with periodontal disease. *J Int Acad Periodontol.* 2009 Oct;11(4):250-7

142. De Wet LM, Slot DE, Van der Weijden GA: Supportive periodontal treatment: Pocket depth changes and tooth loss. *Int J Dent Hyg.* 2018 May;16(2):210-218
143. Preus HR, Sandvik L, Gjermo P, Baelum V: Baseline adjustment and change revisited: effect of smoking on change in periodontal status following periodontal therapy. *Eur J Oral Sci.* 2014 Apr;122(2):89-99
144. Çankaya ZT, Bodur A, Taçoy G, Ergüder I, AktunaD, Çengel A: The effect of periodontal therapy on neopterin and vascular cell adhesion molecule-1 levels in chronic periodontitis patients with and without acute myocardial infarction: a case-control study. *J Appl Oral Sci.* 2018 Apr 5;26

# 10. Aneks

## Załącznik nr 1 – Kwestionariusz dotyczący stanu zdrowia

ID ankiety

Data:

Imię i nazwisko:

Płeć:           kobieta                                mężczyzna

PESEL:

Wiek:

Telefon kontaktowy:

### 1. Czy choruje lub chorował Pan/Pani na poniższe jednostki chorobowe:

- |   |  |                              |
|---|--|------------------------------|
| a) choroby serca (zawał, choroba wieńcowa, wada serca, zaburzenia rytmu, zapalenie mięśnia sercowego) | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| b) nadciśnienie   | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| c) choroby płuc (rozedma, astma)  | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| d) cukrzyca   | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| e) choroby nerek  | TAK <input type="checkbox"/> jakie?..... | NIE <input type="checkbox"/> |
| f) choroby krwi   | TAK <input type="checkbox"/> jakie?..... | NIE <input type="checkbox"/> |
| g) choroby skóry  | TAK <input type="checkbox"/> jakie?..... | NIE <input type="checkbox"/> |
| h) reumatoidalne zapalenia stawów   | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| i) jaskra   | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| j) padaczka   | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |
| k) udar mózgu   | TAK <input type="checkbox"/>             | NIE <input type="checkbox"/> |



## Załącznik nr 2 – Karta badania pacjenta

**STAN PRZYŻĘBIA**

PI wg O'Leary, API		
BOP		
PD		
CAL		
Recesje przyzębia		
	7 6 5 4 3 2 1	1 2 3 4 5 6 7
Recesje przyzębia		
CAL		
PD		
BOP		
PI wg O'Leary, API		

Wskaźnik PUW:

Wskaźnik API:

Wskaźnik GI:

Poziom neopteryny w ślinie:



## 11. Spis tabel

Tabela 1.	Kryteria	diagnostyczne	stopnia	ciężkości	zapalenia	przyzębia.....	19				
Tabela 2.	Definicja	zapalenia	przyzębia	Page'a	i	Eke.....	29				
Tabela 3.	Kryteria	włączenia	i	wyłączenia	pacjentów.....	30					
Tabela 4.	Średnia	i	odchylenie	standardowe	dla	wieku.....	36				
Tabela 5.	Badanie I.	Wartości	badanych	wskaźników	periodontologicznych	.....	39				
Tabela 6.	Badanie II.	Wartości	badanych	wskaźników	periodontologicznych	.....	40				
Tabela 7.	Badanie III.	Wartości	badanych	wskaźników	periodontologicznych	.....	41				
Tabela 8.	Poziom	neopteryny	w	ślinie	u	osób	palących	i	niepalących	.....	42
Tabela 9.	Korelacja	poziomu	neopteryny	z	wybranymi	wskaźnikami	periodontologicznymi	podczas	I	badania.....	43
Tabela 10.	Korelacja	poziomu	neopteryny	z	wybranymi	wskaźnikami	periodontologicznymi	podczas	II	badania.....	43
Tabela 11.	Korelacja	poziomu	neopteryny	z	wybranymi	wskaźnikami	periodontologicznymi	podczas	III	badania.....	44
Tabela 12.	Zmiany	wartości	wybranych	wskaźników	periodontologicznych	pomiędzy	I	a	III	badaniem.....	44

## 12. Spis rycin

Rycina 1. Wzór strukturalny neopteryny – 1-amino-4-hydroksy-6(1,2,3-trihydroksypropylo)- pterydyny.....	24
Rycina 2. Proces wytwarzania neopteryny z GTP w organizmie ludzkim.....	25
Rycina 3. Protokół badania.....	31
Rycina 4. Podział grup.....	36
Rycina 5. Rozkłady płci grup.....	37
Rycina 6. Okres papierosów.....	37
Rycina 7. Liczba papierosów.....	38