

UNIVERZITA KARLOVA
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Stomatologická klinika



Johana Losenická

**Etiopatogeneze plakem
podmíněných parodontopatií**

*Etiopathogenesis of Plaque Induced
Periodontal Diseases*

Bakalářská práce

Praha, květen 2018

Autor práce: Johana Losenická

Studijní program: Dentální hygienistka

Bakalářský studijní obor: Specializace ve zdravotnictví

Vedoucí práce: **odb. as. MUDr. Adel El – Lababidi, Ph.D.**

Pracoviště vedoucího práce: Stomatologická klinika 3. LF UK,
LababidiDent s.r.o.

Předpokládaný termín obhajoby: 11. 6. 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci vypracovala samostatně a použila výhradně uvedené citované prameny, literaturu a další odborné zdroje. Současně dávám svolení k tomu, aby má bakalářská práce byla používána ke studijním účelům.

Prohlašuji, že odevzdaná tištěná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do Studijního informačního systému – SIS 3. LF UK jsou totožné.

V Praze dne 2. května 2018

Johana Losenická

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli, *MUDr. Adelovi El – Lababidimu, Ph.D.*, za svědomité vedení mé bakalářské práce, za věcné připomínky a cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat mému bratrovi, *MSc. Jakubovi Losenickému*, za pomoc při statistickém vyhodnocování získaných dat, *MUDr. Wandě Urbanové, Ph.D.* za provázení předmětem „Seminář k bakalářské práci“, jež mi byl velkým přínosem a zdrojem podstatných informací k formálnímu zpracování celé práce, a taktéž *Mgr. Bc. Michaele Moravcové* za poskytnutí odborných fotografií a schémat. V neposlední řadě mé poděkování patří i nejbližší rodině, která mne po celou dobu podporovala a motivovala.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

V rámci své bakalářské práce jsem pro zjednodušení textu jak teoretické, tak praktické části využila několik zkratk, které jsem shrnula do následujícího přehledu:

DG	=	<i>Dentogingivální</i>
TZT	=	<i>Tvrdé zubní tkáně / tvrdých zubních tkání</i>
Aa	=	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
PMN	=	<i>Polymorfonukleární; polymorfonukleáry</i>
Ig	=	<i>Imunoglobulin; imunoglobulinová/ý</i>
Ag	=	<i>Antigen; antigenní</i>
PP	=	<i>Parodontopatogenní</i>
vl.	=	<i>Vlákná</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonukleová kyselina</i>
RNA	=	<i>Ribonukleová kyselina</i>
PCR	=	<i>Polymerázová řetězová reakce</i>
RTG	=	<i>Rentgen; rentgenová/ý</i>
IL	=	<i>Interleukin; interleukiny</i>
LPS	=	<i>Lipopolysacharid; lipopolysacharidový</i>
ATB	=	<i>Antibiotikum; antibiotická/ý</i>
G-	=	<i>Gramnegativní</i>
G+	=	<i>Grampozitivní</i>
SRP	=	<i>Scaling and root planing</i>
l.n.	=	<i>Laboratorní nález</i>

V textu teoretické a praktické části této bakalářské práce jsou stejně tak vloženy i různé obrázky, tabulky a grafy. **Není-li v textu uvedeno jinak, pochází tyto grafické materiály z archivu či dílny autorky.**

OBSAH

1 CÍL PRÁCE	7
2 ÚVOD.....	8
3 TEORETICKÁ ČÁST	10
3.1 CHARAKTERISTIKA PARODONTOPATIÍ.....	10
3.2 KLASIFIKACE PARODONTOPATIÍ	13
3.3 ANATOMIE A FYZIOLOGIE PARODONTU.....	14
3.3.1 <i>Gingiva; dásěň</i>	15
3.3.1.1 <i>Makroskopická anatomie gingivy</i>	16
3.3.1.2 <i>Mikroskopická anatomie gingivy</i>	17
3.3.2 <i>Periodoncium; ozubice</i>	21
3.3.3 <i>Cementum; zubní cement</i>	21
3.3.4 <i>Os alveolare; kost alveolárního výběžku</i>	23
3.3.5 <i>Sulcus gingivalis; dásňový žlábek</i>	24
3.3.6 <i>Parodontální kapsa</i>	27
3.4 ZUBNÍ PLAK	29
3.4.1 <i>Pelikula</i>	30
3.4.2 <i>Bakteriální kolonizace pelikuly</i>	31
3.4.3 <i>Plakové hypotézy</i>	34
3.4.4 <i>Dělení zubního plaku dle lokalizace</i>	35
3.4.5 <i>Zubní kámen</i>	36
3.5 PARODONTOPATOGENNÍ MIKROBIÁLNÍ FLÓRA	38
3.5.1 <i>Bakteriální komplexy</i>	40
3.5.2 <i>Vlastnosti parodontopatogenních mikroorganismů</i>	43
3.5.2.1 <i>Virulentní faktory Porphyromonas gingivalis</i>	46
3.5.2.2 <i>Virulentní faktory Aa</i>	48
3.6 HISTOPATOGENEZE PLAKEM PODMÍNĚNÝCH PARODONTOPATIÍ	49
3.6.1 <i>Iniciální léze</i>	50
3.6.2 <i>Časná léze</i>	50
3.6.3 <i>Etablovaná léze</i>	51
3.6.4 <i>Pokročilá léze</i>	51
3.7 OBRANNÁ REAKCE HOSTITELSKÉHO ORGANISMU	52
3.7.1 <i>Zánětlivá destrukce</i>	52
3.7.2 <i>Antibakteriální obranná reakce</i>	53
3.7.3 <i>Imunologická obranná reakce</i>	55
3.7.3.1 <i>Buňkami zprostředkovaná imunita</i>	57
3.7.3.2 <i>Humorální imunita</i>	64
3.7.3.3 <i>Mediátory zánětlivé reakce</i>	69
3.8 MOLEKULÁRNĚ-BIOLOGICKÉ DNA TESTY	72
3.8.1 <i>Indikace</i>	73

3.8.2	<i>Technika</i>	74
3.8.3	<i>Provedení</i>	76
3.8.4	<i>Český trh</i>	77
3.8.4.1	<i>micro-IDent® a micro-IDent® plus</i>	77
3.8.4.2	<i>VariOr® Dento a VariOr® Dento Plus</i>	78
3.8.4.3	<i>Stoma-Gene®</i>	79
3.9	SYSTÉMOVÁ ANTIBIOTICKÁ TERAPIE V PARODONTOLOGII	80
3.9.1	<i>Indikace</i>	80
3.9.2	<i>Koncept adjuvantní ATB terapie parodontopatií</i>	81
3.9.3	<i>Příklady adjuvantních ATB</i>	83
4	PRAKTICKÁ ČÁST	87
4.1	<i>HYPOTÉZY</i>	87
4.2	<i>SOUBOR, MATERIÁL A METODIKA</i>	89
4.2.1	<i>Retrospektivní výzkum</i>	89
4.2.2	<i>Demonstrace postupu odběru vzorku</i>	93
4.3	<i>VÝSLEDKY</i>	96
4.3.1	<i>Vyhodnocení výsledků testů micro – IDent®</i>	97
4.3.2	<i>Vyhodnocení výsledků testů micro – IDent® plus</i>	99
4.3.3	<i>Vyhodnocení kompletních výsledků</i>	105
4.3.3.1	<i>VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 1</i>	105
4.3.3.2	<i>VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 2</i>	107
4.3.3.3	<i>VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 3</i>	108
4.3.3.4	<i>VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 4</i>	109
4.3.3.5	<i>VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 5</i>	111
4.3.3.6	<i>VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 6</i>	113
4.3.4	<i>Kazuistika</i>	115
5	DISKUSE	119
5.1	<i>VÝSTUPY JEDNOTLIVÝCH HYPOTÉZ</i>	120
5.2	<i>VÝSTUP KAZUISTIKY „ODBĚROVÉHO“ PACIENTA</i>	128
6	ZÁVĚR A DOPORUČENÍ DO PRAXE	131
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	133
8	SOUHRN	139
9	SUMMARY	141
10	SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ	142
11	SEZNAM PŘÍLOH	146

1 CÍL PRÁCE

Cílem *teoretické části* mé bakalářské práce bylo především shrnout dosavadní poznatky o plakem podmíněných parodontopatiích. Soustředila jsem se zejména na problematiku zrání zubního povlaku a na význam jednotlivých parodontopatogenních bakterií včetně jejich virulentních faktorů. Snažila jsem se nastínit i otázku imunitní odpovědi lidského organismu při vývoji plakem podmíněných parodontopatií a stejně tak i aktuální pohled na využití molekulárně-biologických DNA testů určených k verifikaci parodontopatogenních bakterií.

Cílem *praktické části* bylo zjistit frekvenci výskytu jednotlivých detekovatelných bakteriálních druhů, které se účastní procesu vzniku plakem podmíněných parodontopatií, a zmapovat jejich citlivost na antibiotickou terapii. K tomu byly využity výsledky provedených komerčních molekulárně-biologických DNA testů. V souvislosti s tím bylo mou snahou ověřit si správnost šesti hypotéz, jež se k problematice zánětlivého onemocnění parodontu vztahují, a kromě toho si i osvojit techniku odběru materiálu pro molekulárně-biologickou DNA analýzu parodontopatogenních druhů ve smyslu demonstrace postupu odběru vzorku obsahu parodontálních kapes ve stomatologické ordinaci.

2 ÚVOD

Téma bakalářské práce „*Etiopatogeneze plakem podmíněných parodontopatií*“ jsem si vybrala na základě svého zájmu o problematiku parodontu a procesů v něm probíhajících. V této problematice hraje totiž nejdůležitější roli mikrobiální zubní povlak. Ten představuje bělavou lepkavou vrstvu, jež se fyziologicky usazuje na zubních ploškách a přilehlých tkáních. Čištění chrupu, přesněji mechanické odstraňování zubního mikrobiálního povlaku pomocí zubního kartáčku a dalších pomůcek, proto patří k běžným hygienickým návykům moderního člověka [1]. Cílem každodenní ústní hygieny, která zahrnuje širokou škálu různých postupů, je tedy co nejkvalitněji a nejefektivněji tento povlak z povrchu zubů a měkkých tkání dutiny ústní odstranit [2]. Proč je to ale tak důležité? Protože jediné systematická a pravidelná redukce množství zubního povlaku je zásadní podmínkou prevence a terapie zánětů parodontu a nejen jich [3]. Podle Roubalíkové [1] však bohužel v řadě případů pravidelná péče o dutinu ústní není dostatečná a nepřináší očekávaný efekt.

První zmínky o existenci a manifestaci onemocnění parodontu jsou zhruba 10 000 let staré. Díky tomu parodontopatie patří k dávným známým nemocem. Autorem prvního odborného popisu onemocnění parodontu z roku 1550 je Paré, první klinickou definici podal v roce 1746 Fauchard a první pojmenování „*pyorrhoea alveolaris*“ zavedl Toirac v roce 1839. Až Weski v roce 1922 přišel s pojmem paradentóza [4]. První pokusy o klasifikaci parodontopatií pochází z přelomu 19. a 20. století. V současnosti se jejich nomenklatura řídí dělením, které v roce 1999 vydala *American Academy of Periodontology* (AAP) [5].

Studium patologie onemocnění parodontu prošlo v posledních 50 letech několika stupni vývoje. Již v 60. letech minulého století se potvrdil zásadní význam bakterií zubního plaku jako etiologického faktoru při vzniku parodontopatií. V 70. letech se pozornost vědců a lékařů začala soustředit na význam leukocytů, konkrétně T-lymfocytů, v rozvoji zánětlivého procesu a na

tuto problematiku poukázala práce, kterou v roce 1971 publikovali Ivanyi a Lehner [6]. V současné době se plakem podmíněné parodontopatie řadí mezi onemocnění s hromadným výskytem a ve svých důsledcích představují u osob starších 25 let stejně častý důvod ztráty zubu jako následky zubního kazu [7]. Výskyt plakem podmíněné gingivitidy patří k nejčastějším chronickým bakteriálním infekcím v lidské populaci. Její výskyt je dokonce odhadován až na 90 % u vyšetřovaných jedinců [8].

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Charakteristika parodontopatií

Pod pojmem parodontopatie si lze představit jak zánětlivě podmíněná, tak i nezápětlivá onemocnění složek parodontu [9]. Patologické změny tkání závěsného aparátu zubů mají různé příčiny a také různé klinické projevy [10]. Podle Urbana [11] se v běžné praxi rozpoznávají tři základní formy onemocnění parodontu:

- a) *gingivitida*,
- b) *parodontitida*,
- c) *atrofie parodontu*.

Gingivitida, záněť dásní, je, jak již bylo zmíněno v úvodu, jedním z nejčastějších zánětů v lidském organismu. Při gingivitidě nepozorujeme ztrátu attachmentu, ani vznik pravých parodontálních kapes. Nedochozí tedy k postižení hlubších parodontálních tkání. Terapie je v tomto případě zaměřena na zhojení gingivální tkáně ad integrum [9]. Onemocnění se projevuje zarudnutím a zduřením postižené části gingivy, přítomností *nepravých parodontálních kapes* bez narušení DG uzávěru (viz kapitola 3.3.6), ztrátou stipplingu a někdy i ulceracemi. Charakteristická je zvýšená tvorba sulkulární tekutiny, krvácení při sondáži a stejně tak i bolest při čištění, která se však nemusí projevovat vždy. Rozlišuje se akutní a chronická forma gingivitidy. Kromě plakem podmíněné gingivitidy existují také tzv. zvláštní formy gingivitidy způsobené například hormonálními změnami [12].

U **parodontitid**, tedy u zánětlivých onemocnění závěsného aparátu zubu s úbytkem kosti, naopak ke ztrátě attachmentu dochází [9]. Jejich hlavní příčinou je déletrvající bakteriální infekce spočívající v existující a neléčené gingivitidě. V případě, kdy je spojovací epitel po dlouhou dobu vystaven působení látek mikrobiálního původu, totiž dochází k jeho poškození, či dokonce ztrátě, což vede k prohloubení sulcus gingivalis do podoby parodontální kapsy. Právě tzv. *pravá parodontální kapsa* (viz kapitola 3.3.6)

představuje typický, obligátní klinický příznak parodontitidy. Postupem času dochází k narušení a úbytku vazů periodoncia a následně až k resorpci kosti alveolárního výběžku, jež snadno zpozorujeme na RTG snímku. Průvodním jevem je často *faetor ex ore* či parestezie gingivy. Důsledkem resorpce kosti alveolárního výběžku je patrné obnažení kořenů zubů. Postupně dochází ke změnám v jejich poloze a postavení. Pozdním symptomem parodontitidy je zvýšená mobilita až ztráta zubů [12]. Cílem léčby je zastavení progresu, případně obnova ztracených parodontálních tkání. Bohužel, oproti gingivitidě, většinou není dosaženo původního stavu [9].

Obecně se rozlišuje agresivní a chronická parodontitida, kdy obě mají formu lokalizovanou a generalizovanou. Hlavní rozdíl mezi oběma formami je v samotné etiologii onemocnění, věku manifestace a podobě progresu.

a) Chronická parodontitida

Představuje nejčastější typ plakem podmíněných parodontitid. Pokud je postiženo méně než 30 % dentice, hovoříme o její lokalizované formě [13]. Progrese onemocnění bývá pomalá s občasnými obdobími klinického zhoršení. Manifestuje se nejčastěji mezi 35. až 45. rokem. Můžeme se s ní však setkat i u dětí a mladistvých. Podle závažnosti se rozlišuje chronická parodontitida **mírná** (s mírnou ztrátou attachmentu - 1 až 2 mm a resorpcí kosti nepřesahující 30 % délky kořene), **střední** (se ztrátou attachmentu 3 až 4 mm a hloubkou sondáže nepřesahující 6 mm) a **těžká** (se ztrátou attachmentu větší než 5 mm a hloubkou sondáže nad 6 mm) [14]; [15]. Jelikož chronická forma parodontitidy je úzce spjata s nálezem většího množství subgingiválního zubního kamene, bývá často nazývána jako „špinavá“ parodontitida [16]. Typ parodontitidy, který neodpovídá na léčbu, se označuje slovem *refrakterní* [14].

b) Agresivní parodontitida

Agresivní parodontitida na rozdíl od chronické má obzvlášť rychlý průběh. V etiologii onemocnění hraje nejvýznamnější roli *Aa* a často i porucha imunity [14]. Postižení shledáváme především v oblasti

řezáků a v místě prvních stálých molárů – tedy u zubů, které jsou ve stálém chrupu nejdéle [15]. Lokalizovaná forma se nejčastěji manifestuje v období na začátku puberty (mezi 10. a 13. rokem) a je charakteristická tím, že kromě řezáků a prvních stálých molárů jsou postiženy nanejvýše dva další zuby [14]. Generalizovaná forma se manifestuje spíše mezi 20. až 30. rokem života a kromě řezáků a prvních stálých molárů jsou postiženy minimálně tři další zuby. Bylo zjištěno, že incidence tohoto onemocnění je u dívek častější [15].

Parodontitida má 3 základní příznaky (tzv. *obligátní příznaky*), které jsou přítomny od začátku onemocnění a umožňují včasnou a bezpečnou diagnostiku [17]. Někdy se můžeme setkat i s pojmenováním *parodontologická trias*:

1. *Plakem podmíněná gingivitida*
2. *Pravé parodontální kapsy*
3. *Resorpce kosti alveolárního výběžku patrná na RTG snímku*

V etiologii *zánětlivých parodontopatií*, tedy gingivitidy a parodontitidy, rozlišujeme primární a sekundární komplex příčin. Primární komplex příčin zahrnuje složky zubního mikrobiálního povlaku. Jeho přítomnost podmiňuje zánětlivé změny na parodontu. Zubní mikrobiální povlak je tedy pro vznik zánětlivého onemocnění parodontu bezpodmínečně nutný. Naproti nim stojí sekundární komplex příčin, který zahrnuje lokální i systémové faktory, které mohou různým způsobem ovlivňovat komplex primární. Tyto faktory označujeme jako kofaktory, či retenční faktory mikrobiálního povlaku. Samy o sobě ale nejsou schopny vyvolat zánětlivé parodontopatie [18]. Jedná se o vlivy, které pouze napomáhají rozvoji či vzniku patologického procesu v parodontu. Do skupiny kofaktorů řadíme například ortodontické anomálie, vysoký úpon retního frenula, mělké vestibulum, převislé výplně, zubní kámen, kouření, špatnou výživu, endokrinní vlivy a celková onemocnění, pohlaví, rasu, věk, dědičnost a obranyschopnost organismu [4].

Jako **atrofie parodontu** se označuje *nezánětlivý stav*, při kterém dochází k fyziologickému ústupu gingivy a posléze celého souboru parodontálních

tkání. Stav je spojen s výrazným obnažováním krčků a také kořenů zubů. Celý proces je involutivní povahy. Chybí zde jeden z hlavních obligátních symptomů parodontitidy, a to přítomnost pravé parodontální kapsy. Gingiva je bledá, tuhá, bez známek zánětu. V rozporu s pokročilým obnažením kořenů je mnohdy výrazná pevnost usazení zubu v kostěném zubním lůžku [4].

3.2 Klasifikace parodontopatií

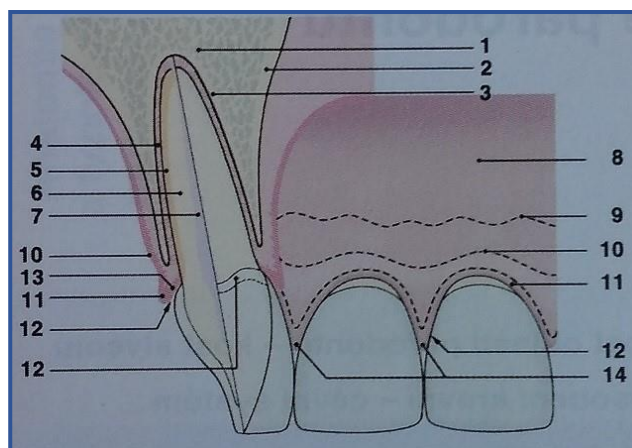
Klasifikace onemocnění parodontu prošla v minulosti velmi složitým vývojem. V současnosti se celosvětově nejvíce uznává *Klasifikace onemocnění parodontu* z roku 1999, kterou sestavila a doporučuje *American Academy of Periodontology* (AAP) [19]:

- I. Onemocnění gingivy
 - a) Onemocnění gingivy podmíněné plakem
 - b) Onemocnění gingivy bez účasti plaku
- II. Chronická parodontitida
 - a) Lokalizovaná
 - b) Generalizovaná
- III. Agresivní parodontitida
 - a) Lokalizovaná
 - b) Generalizovaná
- IV. Parodontitida jako projev systémových onemocnění
 - a) Spojená s hematologickými chorobami
 - b) Spojená s geneticky podmíněnými chorobami
 - c) Jiná, nspecifikovaná
- V. Nekrotizující parodontální onemocnění
 - a) Nekrotizující ulcerózní gingivitida
 - b) Nekrotizující ulcerózní parodontitida
- VI. Parodontální absces
 - a) Gingivální absces
 - b) Parodontální absces
 - c) Perikoronární absces

- VII. Parodontitidy spojené s endodontickým onemocněním
 - onemocnění pulpo-parodontálního komplexu
- VIII. Vývojové a získané anomálie a deformity
 - a) Dentální faktory, které modifikují nebo predisponují k plakem podmíněné gingivitidě nebo parodontitidě
 - b) Mukogingivální deformity a anomálie v ozubené čelisti
 - c) Mukogingivální deformity a anomálie v bezzubé čelisti
 - d) Traumatická artikulace [5].

3.3 Anatomie a fyziologie parodontu

Parodont – závěsný aparát zubu, představuje morfologický i funkční celek (obrázek 1). Skládá se ze 4 tkáňových struktur: **gingivy**, **periodoncia**, **zubního cementu** a přilehlé části **kosti alveolárního výběžku** [20].



Obrázek 1 - Sagitální a frontální řez parodontem
Převzato z: [22]

Legenda k obrázku 1: 1 spongióza alveolárního výběžku, 2 vnější kompakta alveolárního výběžku, 3 vnitřní kompakta alveolárního výběžku (lamina cribriformis), 4 periodoncium, 5 zubní cement, 6 dentin, 7 pulpa, 8 alveolární sliznice, 9 mukogingivální hranice, 10 připojená gingiva, 11 volná gingiva, 12 sulcus gingivalis, 13 spojovací epitel, 14 interdentální papila.

Tyto struktury vytváří komplex měkkých a tvrdých tkání, které obklopují zub a se svým zubem tvoří funkční jednotku. Zub a k němu přilehlá parodontální tkáň jsou svým vznikem, funkcí a zánikem vzájemně vázány [4]. Parodont totiž vzniká s prořezáním zubu a naopak se ztrátou zubu zaniká [21]. Hlavním úkolem parodontálních tkání je zakotvení zubu v čelistní kosti, tlumení žvýkacích sil a obrana nejen zubu ale i celého vnitřního prostředí

organismu [18]. Parodont podléhá neustálým vývojovým a funkčním přestavbám a též změnám v průběhu stáří [22]. V zásadě lze tkáň parodontu rozdělit na *vnější tkáň epitelového původu* (tkáň krycí), kam patří gingiva a spojovací epitel, a *pojivové tkáň mezenchymálního původu* (tkáň podpůrné), kam řadíme periodoncium, zubní cement a stěnu alveolárního výběžku [23].

3.3.1 Gingiva; dásně

Gingiva patří společně se sliznicí tvrdého patra ke specializované mastikační sliznici dutiny ústní [22]. Je to měkká tkáň, ve které chybí vrstva svaloviny. Pokrývá část alveolárního výběžku a část povrchu zubu, na němž její okraj sleduje paralelně cementosklovinnou hranici. Apikálním směrem přechází v orální sliznici. Rozhraní mezi gingivou a orální sliznicí tvoří tzv. mukogingivální hranice (*linea girlandiformis*). Na patře gingiva chybí [21]. Při srovnání s alveolární sliznicí je gingiva za normálních podmínek světlejší, růžovobílá, bez cévní kresby, tužší, napjatější konzistence a proti kostnímu podkladu nepohyblivá (obrázek 2). Její povrch může být jemně d'olíčkovan (tzv. stippling), tím připomíná vzhled pomerančové kůry. Na povrchu gingivy shledáváme vícevrstevnatý dlaždicový rohovějící epitel, narozdíl od převážné části ústní sliznice, kryté stejným epitelem, avšak nerohovějícím [20].



Obrázek 2 – Pohled na zdravou gingivu a alveolární sliznici

Zdroj: Archiv dentální hygienitsky Mgr. Michaely Moravcové, Santé Dents s.r.o., Chrudim

Makroskopicky lze odlišit gingivu volnou, připojenou a mezizubní papilu. Mezi volnou gingivou a zubem se nachází *sulcus gingivalis* (dásňový žlábek), jehož dno tvoří spojovací epitel [4]. Zdravá **gingiva** by podle Seydlové a Dostálové [24] měla splňovat tři základní atributy: *je bledé růžovobílé barvy, je pevná – vůči podkladu neposunlivá, a ani při jemné sondáži nekrvácí.*

3.3.1.1 Makroskopická anatomie gingivy

I. Volná gingiva – gingiva marginalis

Volná gingiva, jinak také *gingiva marginalis*, zasahuje od okraje naléhajícího na povrch zubu do úrovně dna fyziologického *sulcus gingivalis*, nemá tedy kostní podklad a navazuje koronárně na připojenou gingivu. Její nejkoronárnější část nazýváme *margo gingivalis*. Prakticky tvoří spojnici mezi interdentalními papilami [23]. Marginální gingiva má hladký povrch a je 0,8 až 2,5 mm široká [18]. Za normálních poměrů vytváří úzký lem na vestibulární i orální části krčku zubu. Mezi volnou gingivou a povrchem zubu nacházíme žlábkovitý prostor - *sulcus gingivalis* (viz kapitola 3.3.5). Odolnost volné gingivy je popisována zejména vůči mechanickým a tepelným, méně již chemickým, škodlivinám a má značné reparační schopnosti [25].

II. Interdentální papila – papilla interdentalis

Gingivu, která u zdravého parodontu zcela vyplňuje prostor mezi dvěma zuby, označujeme jako interdentalní papilu. Prakticky je součástí volné gingivy. Obemyká bod či plošku kontaktu aproximálních ploch sousedních zubů. Interdentální papily mají tvar různě širokého sedla, rozlišujeme na nich vestibulární a orální cíp, mezi nimiž se nachází sedlovitá vkleslina označovaná jako *col* [18]. Zevní povrch interdentalních papil přivrácený do dutiny ústní je kryt *rohovějícím* vícevrstevnatým dlaždicovým epitelem, který na vnitřním povrchu, přivráceném k aproximálním zubním plochám, přechází v epitel *nerohovějící* [20].

III. Připojená gingiva – *gingiva accreta, gingiva alveolaris*

Tato část gingivy pevně lpí k periostu kosti alveolárního výběžku, ke kterému je připojena vazivovými vlákny. Sahá od mukogingivální hranice do úrovně dna fyziologického dásňového žlábků, kde přechází v gingivu volnou. Tento přechod bývá zevně naznačen tzv. paramarginální rýhou. Šíře připojené gingivy je 1 až 9 mm, přičemž ve stáří můžeme pozorovat přibývání její šířky. Uvádí se, že šíře připojené gingivy, která je schopna eliminovat předpokládaný škodlivý tah mimického svalstva, spojený s mechanickým poškozováním DG uzávěru, má činit alespoň 2 mm ve frontálním úseku chrupu a 1 mm v laterálním úseku chrupu. Tyto poznatky ze 70. let jsou v poslední době však značně diskutovány. Nedostatečná šíře připojené gingivy, či její úplné chybění, ať už získané, či vrozené, se označuje jako mělké vestibulum [20]. Největší šíři připojené gingivy shledáváme obvykle ve frontální oblasti, nejužší je naopak v oblasti premolárů. Připojená gingiva je poněkud bledší než gingiva volná. Její barva závisí na tloušťce epitelové rohovějící vrstvy, na intenzitě subepitelového prokrvení a na množství obsažených pigmentových buněk [4].

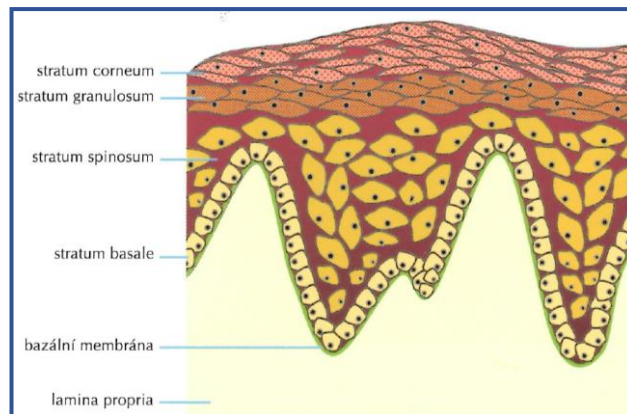
3.3.1.2 Mikroskopická anatomie gingivy

Epitel gingivy rozdělujeme na **orální sulkulární, orální gingivální a spojovací** [18]. Stavba epitelu, stupeň jeho rohovatění a připojení k zubu má velký význam pro patogenezi parodontitidy. Epitel gingivy má 4 vrstvy: *stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum corneum* a je oddělen pomocí *bazální membrány* od pojivové tkáně – *lamina propria mucosae* [22]. Tato pojivová tkáň, resp. vazivová vrstva obsahuje nervy, cévy a vysoký podíl kolagenních fibril, jež doromady utváří svazky vláken [26] čípkovitě vybíhajících do epitelového krytu. Epitel tak na straně přivrácené k vazivu vytváří epitelové lišty, které pak na povrchu připojené gingivy vyvolávají patrné d'olíčkování (stippling) [18].

V případě orálního sulkulárního a orálního gingiválního epitelu se jedná o 0,2 až 0,3 mm silný vícevrstevnatý rohovějící dlaždicový typ epitelu, jenž je s *lamina propria mucosae* spojen papilárními výběžky. Tyto dva druhy epitelů jsou mechanicky odolné a relativně nepropustné jak pro bakterie, tak jejich

produkty [26]. Orální sulkulární epitel je vně ohraničen orálním gingiválním epitelem a v sulku je ohraničen spojovacím epitelem. Epitel sulku však není na rozdíl od orálního gingiválního epitelu keratinizován, ačkoliv keratinizaci podmiňující pojivová tkáň je u obou epitelů zcela identická. Proto se předpokládá, že kontakt epitelu sulku s povrchem zubu zamezuje vzniku keratinizace. Občas se též sulkulární epitel vyznačuje určitým stupněm parakeratinizace. Orální gingivální epitel se od sulkulárního liší také pro své tmavší zbarvení díky zvýšené bazofilitě [22].

Cyklus fyziologické obměny buněk epitelu se dle Hellwiga [18] udává v rozmezí deseti až dvanácti dnů. Mikroskopicky rozlišitelné vrstvy orálního (gingiválního i sulkulárního) epitelu (obrázek 3) nepředstavují nic jiného než různá stádia tvorby a zrání epitelových buněk. Jednotlivé epitelové buňky vznikají ve **stratum basale** mitotickým dělením [4]. Takto vzniklé buňky vytlačí jiné bazální buňky do vrstvy **stratum spinosum**, kde se jednotlivé buňky přestávají dělit a navzájem jsou spojeny desmozomy. Ve **stratum granulosum** již nacházíme oploštělé buňky, které ztratily své cytoplazmatické orgány odpovědné za proteosyntézu a produkci energie. Buňky degenerují nitrobuněčnou keratinizací, aniž by se však rušilo jejich mezibuněčné spojení. Ve **stratum corneum** jsou již jádra zčásti vymizelá. Nakonec se buňky poté, co se mezibuněčné spojení zcela rozpustí, odtrhnou od povrchu epitelu do dutiny ústní. Doba od mitotického dělení bazální buňky ve stratum basale po odtržení buňky od epitelu podle Mutschelknausse [22] trvá přibližně jeden měsíc, což je o něco více, než uvádí Hellwig [18].

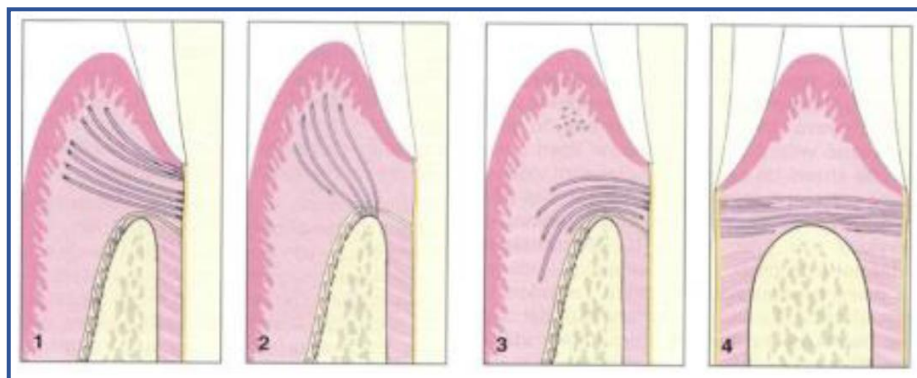


Obrázek 3 - Vrstvy orálního gingiválního epitelu
Převzato z: [26]

Gingivální vazivo (obrázek 4 a 5) se skládá zejména ze svazků kolagenních vláken, fibroblastů a krevních cév. Typická pevná konzistence gingivy je dána především zvláštním systémem uspořádání a hustotou vazivových vláken. Kromě svazků vláken kolagenních zde můžeme nalézt i vzácnější vlákna oxytalanová a elastická, a to převážně perivaskulárně.

Jednotlivé svazky vláken se podle svého průběhu obecně rozdělují na:

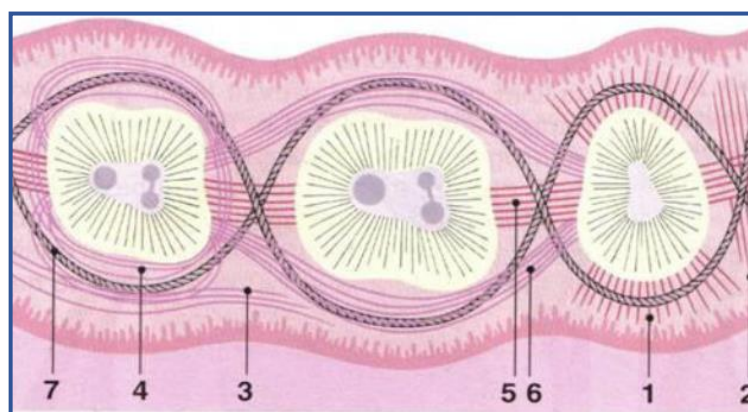
1. *Dentogingivální vlákna* - vyzařují vějířovitě od supraalveolárního cementu zubu do gingivy. Dále je ještě rozdělujeme na svazky koronární, horizontální a apikální.
2. *Dentoperiostální vlákna* - běží od supraalveolárního cementu zubu přes hřeben kosti alveolárního výběžku k vestibulárnímu nebo orálnímu periostu kosti alveolu.
3. *Cirkulární vlákna* - probíhají prstencovitě okolo supraalveolární části kořene zubu.
4. *Semicirkulární vlákna* - běží obloukovitě vestibulárně nebo orálně od jedné ke druhé aproximální plošce téhož zubu.
5. *Transseptální vlákna* - probíhají přes interdentální kostěné septum do aproximálního cementu kořene zubu k cementu jiného zubního kořene. Těmto vláknům se přikládá velká důležitost při udržování postavení zubů v zubním oblouku.
6. *Transgingivální vlákna* - odstupují od cementu jednoho zubu a vyzařují do gingivy zubu druhého, kde se často přidávají k semicirkulárním vláknům.
7. *Intergingivální vlákna* - probíhají podél marginální gingivy.
8. *Alveologingivální vlákna* - spojují hřeben kosti alveolárního výběžku s gingivou.
9. *Interpapilární vlákna* - křížují interdentální gingivu ve vestibulo - orálním směru.



Obrázek 4 - Funkční průběh vláken marginální a připojené gingivy na sagitálním řezu

Převzato z: [22]

Legenda k obrázku 4: 1 - DG koronární a horizontální vlákna, 2 - alveolární vlákna, 3 - DG apikální vlákna, 4 - transseptální vlákna.



Obrázek 5 - Funkční průběh vláken na horizontálním řezu

Převzato z: [22]

Legenda k obrázku 5: 1 - DG vlákna, 2 - interpapilární vlákna, 3 - intergingivální vlákna, 4 - cirkulární a semicirkulární vlákna, 5 - transseptální vlákna, 6 - intercirculární vlákna, 7 - transgingivální vlákna

Popsaná vazivová vlákna označujeme jako **supraalveolární vazivový aparát** (tzv. *plexus fibrosus marginalis*), jde vlastně o pokračování infraalveolárního vazivového aparátu zubu v koronárním směru [18]. Co se týče zastoupení buněčných typů, z 65 % se vazivo skládá z fibroblastů, kromě jiného odpovědných za tvorbu kolagenu. Mimo fibroblasty tu ale nacházíme taktéž řadu buněk imunitního systému – granulocyty, monocyty, lymfocyty. Makrofágy nacházíme zejména v zóně vaziva, která naléhá na spojovací epitel. V této oblasti se nachází také anastomozující cévní pleteň, *plexus gingivalis*, která v případě zánětu výrazně zvýší svou propustnost.

3.3.2 Periodoncium; ozubice

Periodoncium představuje funkční soubor vazivových vláken, cév, nervů a lymfatických kanálků, který vyplňuje prostor periodontální štěrbiny [18]. Jedná se o nemineralizovanou tkáň, která sestává převážně ze svazků kolagenních vláken a zajišťuje pružné, ale zároveň pevné upevnění zubu v kostěném alveolu tím způsobem, že spojuje na jedné straně kořenový cement a na straně druhé lamina cribriformis kostěného zubního lůžka [26]. Šířka periodontální štěrbiny podle Hellwiga [18] činí $0,25\text{ mm}$ a je koronárně a apikálně širší než ve své střední části – typicky tak připomíná tvar přesýpacích hodin.

Relativně vysoká schopnost regenerace periodoncia zajišťuje jeho rychlou přestavbu. Ta je podkladem fyziologických preeruptivních, posteruptivních a stejně tak i ortodonticky podmíněných pohybů zubu [26]. Vlákná periodoncia jsou navzájem propletena, a navíc neprobíhají přímo, nýbrž vlnitě, čímž umožňují vyrovnávat žvýkací tlak [22].

Primární vlákna periodoncia představují převážně vlákna kolagenní, která běží od kosti alveolárního výběžku k zubnímu cementu. Seskupují se do svazků. Část těchto svazků je zapuštěna do tvrdých zubních tkání (dále TZT) a označujeme je jako *Sharpeyova vlákna*. Svůj definitivní směr získávají teprve po prořezání zubu do dutiny ústní. Označujeme je potom jako svazky horizontální, šikmé, apikální a interradiální [18]. **Sekundární vlákna** nejsou seskupena do svazků, leží mezi hlavními primárními svazky a probíhají v náhodném směru periodonciem nebo obklopují cévy a nervy. Jsou složena z kolagenních a elastických vláken [18].

3.3.3 Cementum; zubní cement

Zubní cement, *cementum*, kryje oblast krčku a kořene zubu. Svou stavbou je podobný hutné kosti, proto se někdy označuje jako *substantia ossea dentis* [27]. Narozdíl od kosti však nemá cévní a nervové zásobení [20]. Slouží jako „kotviště“ periodontálních vazů, a tím umožňuje jejich spojení s povrchem zubu. Úbytek cementu proto vždy představuje redukci kotevní plochy pro

periodontální vlákna a vzniklý stav se projeví mobilitou jednotlivých zubů [28]. Cement se na povrch kořene ukládá nejen během vývoje zubu, ale také po jeho dokončení, a to zejména v místech vystavených nadměrnému zatížení nebo traumatu [27]. V 60 % případů cement při krčku zubu přesahuje na sklovinu, kterou tak zčásti pokrývá. Ve 30 % případů se zubní cement skloviny pouze dotýká a v 10 % případů je mezi sklovinou a zubním cementem pás obnaženého dentinu, kdy zubní cement není v žádném kontaktu se sklovinou [20].

Podle Klepáčka a Mazánka [27] lze rozlišit 2 typy cementu:

1 Acelulární cement (bezbuňčný) – primární

Tento typ cementu vzniká nejdříve. Na povrch kořenového dentinu se ukládá během vývoje zubu, a to činností buněk, jež se diferencují z tzv. vazivového pláště zubního zárodku [20]. Obvykle ho nalézáme v prvních dvou třetinách kořene zubu směrem od krčku zubu. Naopak v poslední třetině povrchu kořene zubu, tedy v blízkosti hrotu, může zcela chybět. V těchto místech na něho navazuje cement celulární, kterého směrem ke hrotu zubu přibývá. Funkcí acelulárního cementu je především zakotvení vazivových vláken periodoncia, proto se často označuje jako cement *fibrilární* [27].

2 Celulární cement (buňčný) - sekundární

Tento druh cementu se ukládá na povrch kořene zubu až po úplném ukončení jeho vývoje [20]. Setkáváme se s ním i v místech, která jsou vystavena nadměrnému zatížení nebo traumatu. Typickými lokalizacemi jsou furkace a oblast hrotu kořene zubu [27]. Tam jeho nejsilnější vrstva dosahuje tloušťky 0,2 až 0,6 mm [20]. Přítomnost celulárního cementu obecně signalizuje úbytek vláken periodoncia v příslušné oblasti. Skládá se z lamel s dutinkami nazývanými jako *Howshipovy lakuny*. Tyto dutinky obsahují cementocyty, jejichž výběžky jsou uloženy v kanálcích – *canaliculi cementi*, které se stáčí směrem k ozubici, z níž je cement vyživován [27]. Nadměrné dráždění může vést k vytvoření tzv. hypercementózy v oblasti hrotu

zubního kořene [20]. Následkem může být *ankylóza*, kdy dochází k výrazné redukci šíře periodontální štěrbiny, což může vyústit až ve srůst zubního cementu s přilehlou stěnou alveolárního výběžku [28].

Oba typy cementů jsou postupně vytvářeny **cementoblasty**, které se poté zabudují do hmoty cementu jako **cementocyty**. Po uložení cementocytů se celková šíře vrstvy cementu pohybuje v rozmezí 50 až 150 μm koronárně a 200 až 600 μm apikálně [22].

3.3.4 Os alveolare; kost alveolárního výběžku

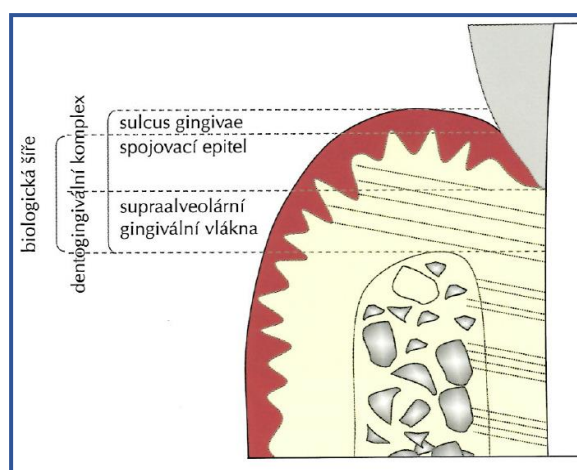
Alveolární výběžek je částí horní a dolní čelisti, do níž jsou zapuštěny zuby. Podléhá neustálé remodelaci [18]. Povrch alveolárního výběžku včetně vnitřního povrchu zubních lůžek (tzv. alveolů) je tvořen trámčitou kompaktní kostí – *lamina compacta*. Pod kompaktní kostí nacházíme kost spongiózní s kostní dřevinou, jejíž složení se s věkem mění [20]. Tenká děrovaná vnitřní kompaktní kost, která vystylá jednotlivé alveoly, se nazývá *lamina cribriformis* – tzv. vlastní alveolární kost. Četnými otvory, *Volkmannovými kanály*, jsou tudíž vedeny nervy a cévy do periodoncia [18]. Rentgenologicky se kompaktní kost uvnitř alveolu oproti spongióze jeví jako denzní linie – tzv. *lamina dura* [18]. Jednotlivé alveoly jsou od sebe odděleny *interdentálními septy*. Uvnitř alveolů vícekořenových zubů se nacházejí navíc *septa intraalveolární*, která se někdy nazývají také jako *septa interradiální* [20]. Kost alveolárního výběžku není v celém rozsahu čelisti stejně silná. Ve frontálním úseku chrupu obvykle bývá slabší, zvláště na vestibulární straně může být až papírově tenká, někdy s fenestracemi až dehiscencemi (s okénky až kostními rozestupy) [20]. S poměrně tenkou kostí se setkáváme i na straně bukální, taktéž zde někdy vznikají dehiscence a fenestrace kostní tkáně. Je tomu tak nejčastěji u špičáků a premolárů dolní čelisti a prvních molárů čelisti horní [22].

3.3.5 *Sulcus gingivalis*; *dásňový žlábek*

Mezi volnou gingivou a stěnou zubu se nachází úzký štěrbinovitý prostor, *sulcus gingivalis*. Je široký přibližně 0,15 mm a jeho fyziologická hloubka je do 3,5 mm. Histologická hloubka se pohybuje v rozmezí od 0,3 do 0,5 mm [28]. Cirkulárně obklopuje zub a na profilu má tvar písmene V, čímž umožňuje snadné vyšetření za pomoci parodontální sondy. Na dně *sulcus gingivalis* se nachází **dentogingivální** (dále jen DG) **uzávěr**. Ten má svůj koronární a apikální oddíl [26]. Spojení gingivy a zubu zajišťuje prstenec tzv. spojovacího (těsnícího) epitelu, který představuje koronární oddíl DG uzávěru [29]. Apikální oddíl DG uzávěru je naopak formován gingiválními vazivovými vlákny [26]. Podobné rozlišení tkání DG uzávěru (obrázek 6) uvádí i Mazánek [30], který tento systém mimo jiné označuje slovem **attachment**. Dvě hlavní komponenty attachmentu by v sebe v ideálním případě měly přecházet v úrovni *cementosklovinné hranice*. Jedná se o:

- a) spojovací epitel = *komponenta epiteliální* - realizována adhezí epiteliálních buněk (spojovacího epitelu) prostřednictvím bazální membrány na povrch zubu,
- b) supraalveolární gingivální vlákna = *komponenta vazivová* - realizována úponem vazivových vláken do zubního cementu.

Obě části tvoří společně se *sulcus gingivalis* tzv. **dentogingivální komplex**.

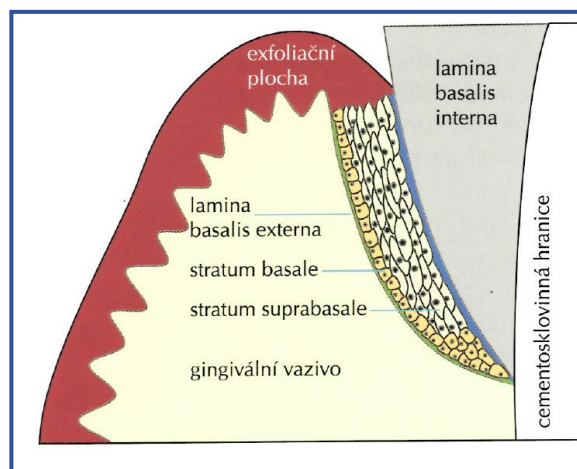


Obrázek 6 - Komponenty DG uzávěru

Převzato z: [26]

Při sondáži gingiválního sulku definovaným tlakem, který činí **0,25 N**, by supraalveolární gingivální vlákna měla bránit hlubšímu průniku sondy. Situace se však mění v případě zánětlivé obranné reakce organismu na mikroorganismy plaku setrvávající v sulcus gingivalis, kdy dochází postupnému odbourávání vazivových vláken. Tento stav je již spojen s hlubší sondáží [26]. Dojde-li k prohloubení sulcus gingivalis nad normu, hovoříme obvykle o tzv. parodontálním chobotu (nověji dále parodontální kapsa – z angl. *periodontal pocket*), pravém či nepravém. Termín sulcus gingivalis používáme proto pouze ve spojení se zdravým parodontem, kdežto termín parodontální kapsa je využíván ve spojení s „nemocným“ parodontem [29]. Podle Škacha [4] i Mazánka [30] je DG uzávěr nejzranitelnějším a nejexponovanějším místem parodontu. Tomu logicky odpovídá i jeho vysoká regenerační schopnost [30].

Spojovací epitel, představující koronární oddíl DG uzávěru, prstencově objímá oblast zubního krčku v podobě kruhové manžety [26]. Slouží k připojení gingivální tkáně k povrchu zubu. Od cementosklovinné hranice dosahuje až na dno sulcus gingivalis, kde kontinuálně přechází v orální sulkulární epitel. Spojovací epitel vzniká přeměnou z redukovaného sklovinného epitelu. Tato přeměna začíná po ukončení tvorby skloviny a končí asi rok po začátku prořezávání daného zubu [18]. Na rozdíl od ostatních typů vícevrstevnatého dlaždicového orálního epitelu sestává tento epitel pouze ze dvou vrstev (obrázek 7) – **stratum basale** (mitoticky aktivní) a **stratum suprabasale**.



Obrázek 7 - Vrstvy spojovacího epitelu
Převzato z: [26]

Připojení spojovacího epitelu k subepitelovému vazivu gingivy je realizováno za pomoci *hemidesmozomů* a *lamina basalis externa*. Hranice mezi spojovacím epitelem a vazivem vykazuje pravidelný průběh bez jakýchkoliv čípkovitých výběžků vaziva zasahujících do vrstvy epitelu. Od povrchu zubu odděluje buňky *lamina basalis interna* [26]. Regenerační schopnost spojovacího epitelu je velmi rychlá. Trvá zhruba 4 až 6 dnů. Orální sulkulární epitel k tomu potřebuje 10 až 12 dnů [22]. Buňky spojovacího epitelu se tedy dělí 2x až 3x rychleji než ostatní epiteliální buňky v dutině ústní a během života putují z bazálních vrstev spojovacího epitelu směrem koronárním a na dně sulcus gingivalis se poté odlučují [29]. Schopnost regenerace nebo i vytvoření zcela nového spojovacího epitelu je při adekvátní terapii parodontitidy podstatou hojení pravých parodontálních kapes [29].

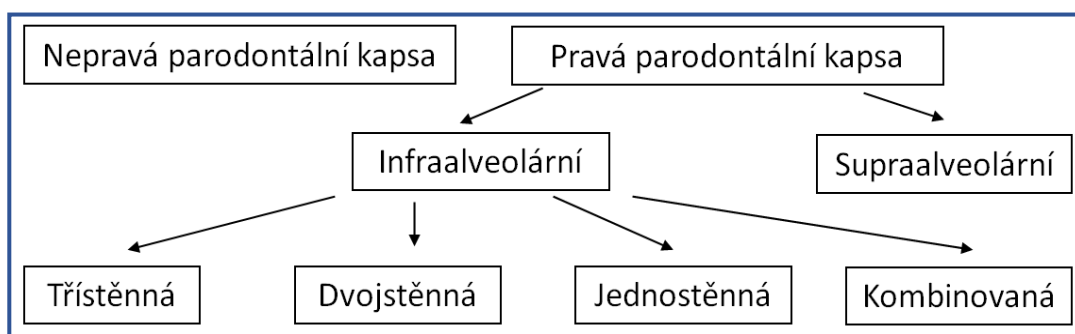
Při zavedení parodontální sondy do subgingiválního prostoru může ve spojovacím epitelu docházet spíše než k jeho odloučení od povrchu zubu, k jeho natržení a tvorbě spár. Tyto mezibuněčné spáry umožňují difúzi látek jak z vnějšího prostředí, tak i směrem opačným [26]. Fyziologicky se však mezi jednotlivými buňkami spojovacího epitelu nachází široké intercelulární prostory [18]. Tato skutečnost umožňuje případný rychlý průnik leukocytů [29] - zejména lymfocytů a makrofágů, do sulcus gingivalis. Vycestovávají sem z přilehlého vaziva [18]. Stupeň migrace leukocytů s intenzitou zánětlivých změn roste [26]. Společně se samotnými buňkami spojovacího epitelu, které mají částečnou fagocytární schopnost, tak představují *periferní buněčnou obranu* [18], která je další a zásadní funkcí spojovacího epitelu [26]. Kromě buněk imunitního systému skrz spojovací epitel proniká řada léčiv, mimo jiné i antibiotik, přičemž jejich koncentrace v gingivální tekutině může být až mnohonásobně vyšší než v séru. V opačném směru je spojovací epitel prostupný pro některé bakterie a jejich škodlivé metabolity [29]. Bakterie, které pronikly do spojovacího epitelu, jsou však ihned rozpoznány, opsonizovány a fagocytovány [26].

Jediný volný povrch spojovacího epitelu se nachází na dně sulcus gingivalis a nazývá se *exfoliační plocha* spojovacího epitelu. Pouze zde dochází k intenzivní deskvamaci epiteliálních buněk, která představuje nespecifickou

imunitní obranu proti průniku adherovaných bakterií, a navíc usnadňuje jejich odplavení z prostoru sulcus gingivalis [22].

3.3.6 Parodontální kapsa

Termín parodontální kapsa označuje patologický stav sulcus gingivalis, který vzniká v důsledku degenerativních změn tkání parodontu [25]. Obecné rozdělení parodontálních kapes je schematicky znázorněno na obrázku 10.



Obrázek 8 - Schematické rozdělení parodontálních kapes

Volně upraveno dle: [10]

Parodontální kapsy se dělí na základě následujících kriterií:

a) Dle vztahu k zánětu gingivy a k případné resorpci kosti alveolárního výběžku:

1. Nepravá parodontální kapsa

Vzniká zvětšením rozměru marginální gingivy na podkladě edému nebo hyperplázie. Má stěnu gingivální a dentální, rozsah dentální stěny je shodný s hloubkou sulcus gingivalis, protože úroveň úponu spojovacího epitelu se nemění. Hloubku nepravé kapsy tedy určuje výška stěny gingivální. Nejčastějším důvodem těchto změn je zánět. Vzniklá nepravá parodontální kapsa představuje prostor pro retenci substancí tekutých i pevných, dochází v ní ke stagnaci produktů tkáňového metabolismu, mikrobů a drobných částí potravy. Tyto dráždivé faktory mohou v dalších fázích vyvolat sestup úponu spojovacího epitelu směrem apikálním, případně spojení epitelu s povrchem zubu rozrušit [25]. V případě nepravé parodontální kapsy ale DG uzávěr, ani kost alveolárního výběžku nejsou narušeny.

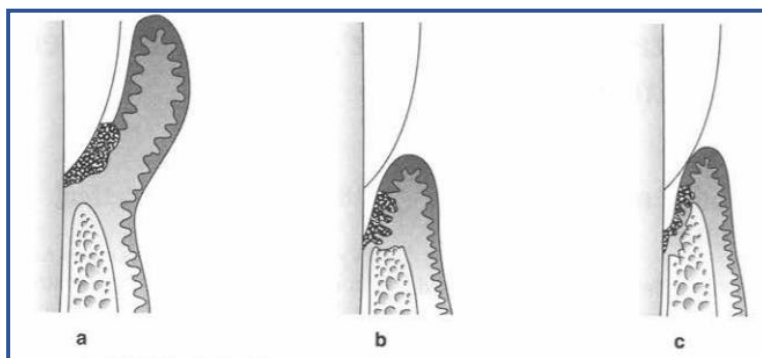
2. Pravá parodontální kapsa

Vzniká tehdy, prohloubí-li se původní fyziologický sulcus gingivalis tím, že dojde k posunu DG uzávěru směrem apikálním, ztrátě vláken periodontia a zároveň k resorpci kosti alveolárního výběžku [25].

3. Kombinovaná parodontální kapsa

Vzniká kombinací pravých a nepravých patologických změn sulcus gingivalis. Přítomno je zde jak zánětlivé zduření gingivy, tak posun DG spojení směrem apikálním se ztrátou vláken periodontia a resorpcí kosti alveolárního výběžku [20]. Prvními, ale důležitými změnami na RTG snímku, které svědčí pro diagnózu parodontitidy, je zeslabení kresby *lamina compacta* a prořídnutí spongiózy při vrcholu interdentalních sept [31].

- b) Dle vztahu ke kosti alveolárního výběžku lze rozeznat kapsy supraalveolární a infraalveolární (obrázek 8). Dno supraalveolární kapsy – tedy DG uzávěr – leží v měkkých tkáních nad vrcholem alveolární kosti. Dno infraalveolární kapsy leží zčásti nebo zcela pod okrajem kosti alveolárního výběžku. Ve druhém případě se jedná o důsledek nepravidelně probíhající resorpce kosti s výraznější vertikální složkou. Tyto případy představují horší prognózu.

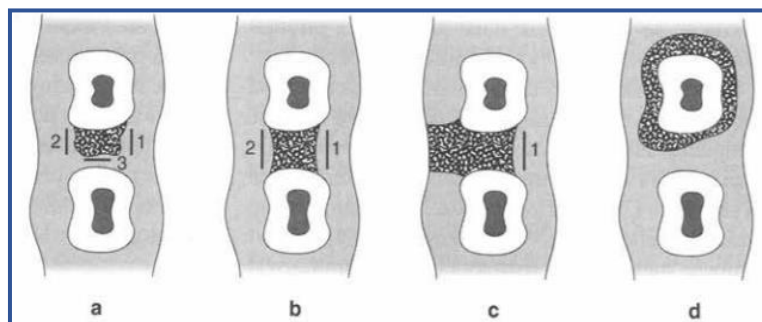


Obrázek 9 - Základní formy parodontálních kapes

Převzato z: [18]

Legenda k obrázku 8: a) nepravá parodontální kapsa (tzv. pseudokapsa), b) supraalveolární parodontální kapsa s horizontální destrukcí kosti, c) infraalveolární parodontální kapsa s vertikální destrukcí kosti.

- c) Dle počtu kostních stěn, které defekt ohraničují lze infraalveolární kapsy dále rozdělit (obrázek 9) na kostní defekty tří- (a), dvou- (b) a jedностěnné (c). Poslední skupinou jsou defekty kombinované (d).



Obrázek 10 - Rozdělení kostních defektů

Převzato z: [18]

d) Dle hloubky dělíme parodontální kapsy na:

1. *mělké* - do 5,5 mm,
2. *středně hluboké* - 5,5 až 8,5 mm,
3. *hluboké* - nad 8,5 mm [28].

Parodontální kapsy lze dále dělit na **aktivní** a **neaktivní**. V aktivní kapse jsou známky probíhajícího zánětu, v klidové, neaktivní nejsou zánětlivé příznaky markantní. Klinicky má toto dělení velký význam. Pro aktivitu procesu svědčí hnisavá exsudace a krvácení po sondáži [32].

Hloubka parodontální kapsy je tedy dána dvěma veličinami – velikostí zánětlivého zbytnění a ústupem DG spojení apikálním směrem [20].

3.4 Zubní plak

Vznik a průběh zánětlivých onemocnění parodontu je primárně indukovaný zubním plakem [18]. Zubní plak představuje získaný měkký, strukturovaný povlak, který lne pevně k povrchu zubu a který lze zcela odstranit pouze mechanicky (obrázek 11) [3]. Není možné ho odstranit vodní sprejí. Mikroskopicky se jedná o vysoce organizovanou ekologickou jednotku obsahující velké množství bakterií usazených v makromolekulární matrix bakteriálního a slinného původu [33]. Zubní plak sestává kromě *hlubších vrstev bakteriálních* ještě z *povrchové vrstvy* – ***materia alba*** [24], která představuje bělavou, snadno odlučitelnou hmotu krémovité konzistence, obsahující i zbytky potravy [1].

Zubní plak se primárně usazuje v místech se sníženou samoočišťovací schopností chrupu, na místech habituálně nečistých [24]. Predilekčními místy

retence plaku je *fisurální komplex okluzálních plošek, krčková partie zubu*, tedy ta oblast zubní korunky, jež se nachází pod linií maximální konvexity, a nakonec i *aproximální prostor*, a to zejména oblast pod bodem kontaktu [34].



Obrázek 11 - Obarvený zubní plak na zubních ploškách

Zdroj: Archiv dentální hygienistky Michaely Moravcové – Santé Dents s.r.o., Chrudim.

3.4.1 Pelikula

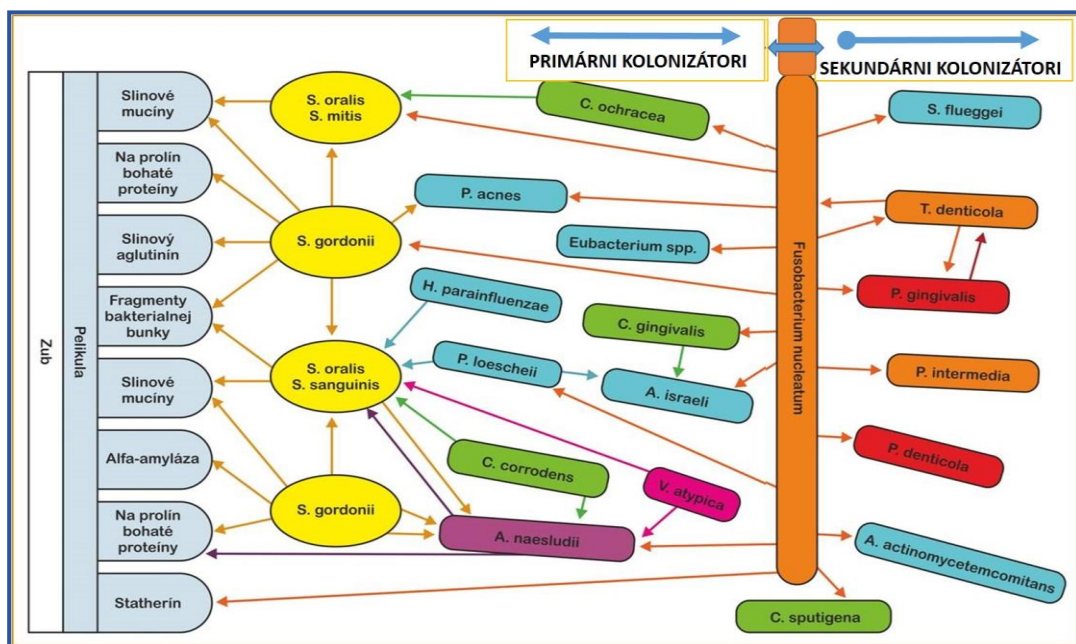
Během několika sekund po očištění zubní plošky se na jejím povrchu postupně začíná vytvářet pelikula. Jedná se o slabě granulovanou, acelulární, tenkou vrstvu slinných proteinů, která následně podléhá bakteriální kolonizaci. Ve skladbě pelikulových proteinů nejdříve převažují sulfoproteiny a fosfoproteiny, poté se k nim přiřazují i glykoproteiny [34]. Hlavní konkrétní složku pelikuly tvoří albumin, amyláza, lysozym, glukosyltransferáza, imunoglobuliny IgA a IgG a fosforylovaný albumin schopný vázat ionty vápníku. Vazba pelikulových proteinů na zmíněné vápenaté a také fosfátové ionty hydroxyapatitu TzT je umožněna díky elektrostatickému náboji [18].

Tloušťka pelikuly dosahuje 1 až 10 μm a přibývá jí nejvíce během prvních 60 až 120 minut po očištění [33]. Po 48 hodinách dosahuje tloušťky 500 až 1 000 nm [34]. Zdá se však, že původní předpoklad o ukončení tvorby pelikuly po 2 hodinách již neplatí, byl totiž zjištěn její další nárůst i v průběhu několika dnů. Pelikula je schopna odolávat působení slabých kyselin. Vyšší koncentrace kyselin ji však už rozrušují. Kromě toho, že slouží jako substrát pro kolonizaci a adhezi mikroorganismů dutiny ústní [3], se jí obvykle přisuzují ještě následující funkce:

- ochrana povrchu skloviny (zvlhčuje ji a tím ji při jídle chrání před abrazi),
- zásobárna iontů Ca a P [33].

3.4.2 Bakteriální kolonizace pelikuly

Bakteriální kolonizace pelikuly se nevyvíjí nahodile. Jde o proces, který podléhá mnoha různým vlivům. Navíc tvorbu plaku nelze chápat pouze jako prostou kumulaci – zvětšování jeho objemu – to je pouze nejzásadnější projev. Mnohem důležitější jsou z hlediska etiopatogeneze onemocnění parodontu změny, ke kterým během tvorby plaku dochází. Týkají se především kvalitativních a metabolických změn v mikrobiální flóře. První bakterie lze izolovat již po dvou hodinách po očištění. Bakteriální kolonizace pelikuly se uskutečňuje v předurčeném pořadí [33]. Rozeznáváme tzv. *časné* (primární) a *pozdní* (sekundární) kolonizátory (obrázek 12).



Obrázek 12 - Formování biofilmu
Převzato z: [71]

První fáze kolonizace nevykazuje patogenitu a je typická pro zdravý parodont. Jedním z hlavních *časných kolonizátorů* je *Actinomyces naeslundii*. Má na svém povrchu fimbrie obsahující adhesiny, proto je společně s dalšími druhy *Actinomyces* zásadním prvkem v osídlení pelikuly a následné tvorbě jakéhosi „lešení“ biofilmu. V pozdních fázích kolonizace, kde již převažují G-

bakterie, dominuje *Fusobacterium nucleatum*. Představuje podstatnou součást maturace biofilmu. Je důležité zmínit, že většina *pozdních kolonizátorů* nemá vazby s časnými kolonizátory, dokonce nepozorujeme ani vazby mezi jednotlivými pozdními kolonizátory navzájem. Nicméně právě *Fusobacterium nucleatum* představuje důležitý spojovací článek mezi těmito dvěma skupinami kolonizujících bakterií. Jeho funkce se obrazně přirovnává k „mostu“ [35].

Osídlování pelikuly probíhá ve 3 fázích:

- I. První fáze osídlování pelikuly a tvorby plaku je popisována časovým intervalem **4 až 48 hodin**. Jedná se o tzv. **časné stádium formace plaku**. Nejprve se na pelikulu vážou G+ koky, které jsou schopny adheze k zubní plošce. V mikrobiologickém obrazu převládají **streptokoky** (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* a *Streptococcus mutans*). Kromě kmene streptokoků lze z časného plaku izolovat i **aktinomycey** a **laktobacily** [22]. V plaku starém 24 hodin představují streptokoky až 95 % kultivované flóry. Počet bakterií v časném plaku se každé 3 hodiny zdvojnásobuje prostřednictvím buněčného dělení. V oblastech, kde není plak narušován mechanickou ani chemickou cestou, se postupně zvětšuje jeho objem a v souvislosti s tím dochází ke kvalitativním změnám mikroflóry, kdy původní průkopnické bakteriální kmeny jsou postupně nahrazovány jinými. Tento jev se podle Kiliana [33] označuje jako **bakteriální posloupnost**.
- II. Druhá fáze tvorby plaku se odehrává v časovém intervalu od **3. do 5. dne**. Vyznačuje se především změnou bakteriální flóry [22]. Metabolismus aerobních bakterií snižuje oxidoredukční potenciál plaku, a tím zvyšuje příznivost podmínek pro růst anaerobních bakterií. Mimo to je v silnější vrstvě plaku stížena difúze O₂, což značně omezuje aeroby a naopak prospívá právě anaerobům [33]. Přibývající tloušťka plaku, která v hloubce indukuje vznik patřičných anaerobních podmínek, tedy umožní kolonizaci fakultativními a obligátními anaeroby [22]. Původní mikrobiální obraz, v němž dominovaly G+ koky, se začne měnit. Nacházíme zde *aktinomycey*, jakožto G+ tyčky

(*Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*), z řad G+ tyček nesmíme opomenout ani *Corynebacterium*, dále zde nacházíme G- koky (*Veillonella*, *Neisseria*) a stejně tak i G- tyčky (rod *Bacteroides*) [22]. Je důležité si uvědomit, že pro ukládání G- druhů je předchozí kolonizace nezbytná [33]. Mezi bakteriemi se též shromažďují produkty jejich látkové výměny - např. glukany a levany, které ještě více upevňují vazbu mezi bakteriemi a povrchem zubu. Obecně tedy lze říci, že čím je plak starší, tím více nabývá anaerobního charakteru [18].

III. Třetí fáze tvorby plaku se odehrává v časovém intervalu od **5. do 7. dne** od počátku jeho tvorby. Mikrobiální obraz se obohacuje o *spirochety* a *fusiformní bakterie* [22].



Obrázek 13 - Postupné vyvrávání zubního povlaku
Převzato z: [71]

Další kumulaci a vývoj plaku umožňuje tvorba intermikrobiální substance – tzv. **matrix plaku**. Ta sestává z extracelulárních polysacharidů, jakožto metabolických produktů určitých druhů mikroorganismů, dále z mukopolysacharidů a proteinů pocházejících ze sliny, subgingiválně ze sulkulární tekutiny [33]. Jedná se vlastně o jakýsi amorfní materiál, ve kterém jsou umístěny a k sobě hustě naskládány bakterie [18]. V průběhu vývoje zralého plaku, který nadále zvětšuje svůj objem, patřičně řídne podíl G+ anaerobních bakterií ve prospěch **G- anaerobů** [22].

3.4.3 Plakové hypotézy

V etiologii plakem podmíněných parodontopatií rozeznáváme tři hypotézy, jež hovoří o škodlivosti zubního plaku a objasňují úlohu bakterií a imunitního systému [36].

1. Specifická plaková hypotéza

Podle této hypotézy průběh zánětu parodontálních tkání závisí na tom, z jakých bakterií je vlastní plak složen. Již v roce 1976 Loesche tvrdil, že rozvoj parodontitidy se odvíjí od typu mikroorganismů, ne od jejich množství [36]. Pro specifickou plakovou hypotézu svědčí fakt, že například akutní nekrotizující ulcerózní gingivitida (ANUG) má své typické etiologické agens – *fusobakterie* a *spirochety* [37]. Stejně tak pro agresivní typy parodontitid je zase typické přemnožení bakterie *Aa* [36].

2. Nespecifická plaková hypotéza

Tato hypotéza naopak předpokládá, že jen velké bakteriální společenství zaručí přítomnost dostatečného množství faktorů virulence nutných pro destrukci parodontálních tkání [37]. Už v roce 1986 Thielade tvrdil, že zánětlivé parodontopatie vzniknou tehdy, pokud množství přítomných mikroorganismů plaku překročí určitou hranici [36].

3. Ekologická plaková hypotéza

Podle této hypotézy je příčinou vzniku onemocnění parodontu celé subgingivální mikrobiální prostředí. Ekologickou plakovou hypotézu představili v roce 1991 Haffajee a kolektiv. Podle této hypotézy je možné odstranit parodontopatogenní bakterie pravidelnou eliminací druhů jako je *Streptococcus sanguis*, jelikož parodontopatogenní bakterie ke svému životu a růstu využívají právě jeho produkty. V případě neagresivních forem parodontitid se v parodontální kapse vyskytuje 300 až 500 druhů mikroorganismů, z nichž pouze 10 až 30 je patogenních. Z toho plyne, že k rozvoji plakem podmíněných parodontopatií jsou kromě parodontopatogenních mikroorganismů

jako takových nezbytné i mikroorganismy nepatogenní, které jim vytváří vhodné podmínky pro život a rozmnožování. Tato hypotéza je v současné době akceptována nejvíce [36].

3.4.4 Dělení zubního plaku dle lokalizace

I. PLAK KORONÁRNÍ

Pokrývá hladké plochy povrchu zubů a kumuluje se v gingivální třetině zubní korunky. V jeho složení dominují zejména *streptokoky*, *aktinomyceety*, *veilonely* a *laktobacily* [33].

II. PLAK FISURÁLNÍ

Vyskytuje se v jamkách a rýhách fisurálního komplexu okluze zubů. Na zastoupení bakteriálních druhů je obvykle chudší. Fisurální mikroflóra se skládá převážně z G+ koků a tyček. Laktobacilů a kvasinek je zde málo. Taktéž bakteriální matrix je méně a pelikula je zde degradována, proto jsou mikroorganismy fisurálního plaku vždy v přímém kontaktu se sklovinou [33].

III. PLAK SUPRAGINGIVÁLNÍ

Nachází se těsně nad okrajem marginální gingivy, nezasahuje do gingiválního sulku. Jeho struktura se podobá plaku koronárnímu [33].

IV. PLAK SUBGINGIVÁLNÍ

Skladba a organizace subgingiválního plaku se liší podle toho, zda se jedná o plak sulcus gingivalis, nebo plak paradontální kapsy. U zdravého závěsného aparátu zubu, kde stále nacházíme fyziologickou hloubku sulcus gingivalis, se plak svojí skladbou podobá plaku supragingiválnímu. V paradontálních kapsách však zaznamenáváme podstatné rozdíly (tabulka 1). Nacházíme zde především G- koky, tyčky a spirochety. V paradontálních kapsách je nedostatečný obsah kyslíku, proto zde převládají ananerobní mikroorganismy. Ty neprodukují extracelulární polysacharidy, i proto subgingivální plak adhezuje jen volně a užívá se pro něj označení **plovoucí plak** [33].

Tabulka 1 - Srovnání supragingiválního a subgingiválního plaku

	SUPRAGINGIVÁLNÍ PLAK	SUBGINGIVÁLNÍ PLAK
Matrix	50 % objemu	Téměř žádná, plak není připojen
Flóra	Převažuje G+	Převažuje G-
Motilní bct	Velmi málo	Běžně
Anaeroby	Menšina	Většina
Metabolismus	Převážně sacharidy	Převážně proteiny
Rozmanitost druhů	Zpočátku malá, časem se zvyšuje	Velká

Volně upraveno dle: [33]

3.4.5 Zubní kámen

Supragingivální i subgingivální plak mohou mineralizovat a tvořit tak zubní kámen (obrázek 14). Důležitým činitelem je zde slina, která představuje přesycený roztok minerálů - solí fosforu a vápníku [33]. Dlouhou dobu byl zubní kámen považován za nejvýznamnější zevní faktor vývoje parodontopatií. Nakonec se však ukázalo, že tomu tak není [4].



Obrázek 14 - Zubní kámen v dolním frontálním úseku

Zdroj: Archiv dentální hygienistky Mgr. Michaely Moravcové – Santé Dents s.r.o., Chrudim.

Zánětlivé změny na parodontu jsou totiž ze všeho nejvíce závislé na přítomnosti měkkého mikrobiálního povlaku. Přesto ale zubní kámen představuje důležitou zevní škodlivinu [4]. Podle Kiliana [33] má zubní kámen v etiopatogenezi onemocnění parodontu nepřímý účinek. Primárně funguje jako nosič plaku, jelikož jeho hrubý povrch usnadňuje retenci měkkého

mikrobiálního povlaku. Sekundárně působí též mechanicky, kdy se zánětlivě zduřelá gingiva zraňuje o jeho ostré hrany, a to až už vlastním tlakem, nebo při posunu ukusovaného sousta potravy přes gingivu [4].

Zubní kámen lze v závislosti na jeho lokalizaci rozdělit na 2 skupiny:

1. Supragingivální zubní kámen

Obyčejně bývá žlutavě bílý a měkký. Účinkem chromatogenních látek (např. káva, čaj, tabák, červené víno) se však může zbarvit tmavě. Predilekční místa vzniku supragingiválního kamene leží především na zubních ploškách v oblasti vývodů velkých slinných žláz – tedy linguálně na ploškách dolních frontálních zubů a bukálně na ploškách horních molárů [22]. Může pokrývat také plošky zubů, které nemají antagonistu a usazuje se i na povrchu zubních náhrad [4].

2. Subgingivální zubní kámen

Většinou bývá zbarven na základě odbouraného hemoglobinu rozložených erytrocytů z krve, a to hnědě až černě. Tento typ zubního kamene se může nalézat na všech zubech, resp. plochách zubních kořenů. Zejména jej však nacházíme na aproximálních a linguálních ploškách [22]. Subgingivální zubní kámen je většinou patrný až po odtažení marginální gingivy. Někdy se dokonce mění barva gingivy nad zubním kamenem na šedavou, což je dáno jeho prosvítáním. Je-li v subgingiválním prostoru však přítomno větší množství zubního kamene, poté tyto nánosy odtahují gingivu od zubu a kámen je viditelný i bez jejího odtažení. V porovnání se supragingiválním kamenem je tento kámen značně tvrdší [4]. Procentuální zastoupení minerálů je u supragingiválního kamene asi 40 %, kdežto u kamene subgingiválního asi 60 % [14].

Mineralizační pochody začínají v organické matrix plaku, přičemž první známky krystalizace probíhají již během několika hodin tvorby plaku. Mineralizace probíhá z tzv. **kalcifikačních center**. Struktura zubního kamene je podobná slupce cibule, přičemž vnější vrstva je drsná a skládá se

z nemineralizovaného zubního povlaku. Vnitřní vrstva je nepravidelně mineralizovaná a skládá se z tenkých jehlicovitých a sloupcovitých krystalů. Epidemiologické studie ukázaly, že supragingivální zubní kámen je většinou doprovázen gingivitidou, zatímco subgingivální zubní kámen doprovází ztráta DG spojení a tvorba parodontálních kapes [22]. Součástí mikrobiálního povlaku mohou být mikroorganismy, které samy mineralizaci vyvolávají. Takové vlastnosti shledáváme např. u *Corynebacterium matruchotii*, *Streptococcus salivarius* a *Actinomyces israeli*. Tvorbu zubního kamene však ovlivňuje i skladba potravy. Vyšší přísun bílkovin a vitamínu A jeho tvorbu podporuje. Vitamín C má ve vyšších dávkách naopak efekt inhibiční [4].

3.5 Parodontopatogenní mikrobiální flóra

Dnešní doba přinesla řadu důkazů o tom, že mikroorganismy dutiny ústní sehrávají primární roli v etiopatogenezi parodontitid. Orální prostředí představuje velmi složitý ekosystém. Nachází se tu přibližně 500 druhů bakterií. Je dokázáno, že bez přítomnosti určitých druhů bakterií v tkáních parodontu různé formy gingivitid a parodontitid nevzniknou. Na bakteriální patogeny kolonizující povrch měkkých tkání ústní dutiny, později pronikající do měkkých parodontálních tkání a disponující širokou nabídkou virulentních faktorů vznikají v organismu místní a systémové imunologické reakce. Jejich počáteční formou je zánět. Hlavním cílem zánětlivého pochodu je odstranit infekční agens z postižené tkáně [19]. Jak již bylo nastíněno v kapitole 3.4.2, v průběhu iniciálních fází zánětu v parodontu převažují G+ bakterie, které jsou z největší části zodpovědné za vznik gingivitidy. S postupující závažností zánětu, kdy v mikrobiálním plaku probíhají další změny v jeho vyvrávání, začnou převažovat G- mikroorganismy. U závažnějších forem onemocnění se navíc významně zvyšuje podíl anaerobních druhů [38].

Poznatky o etiopatogenezi parodontitid poukazují na skutečnost, že v jejich různých klinických formách jsou konkrétní skupiny etiologických faktorů v jiném poměrném zastoupení (tabulka 2). Straka [19] ve své knize dále uvádí, že většina vědeckých prací prokázala subgingivální bakteriální flóru

jako hlavního etiopatogenetického činitele vzniku a přetrvávání plakem podmíněných parodontitid.

Tabulka 2 - Přehled výskytu bakteriálních kmenů u různých stavů parodontu

ZDRAVÝ PARODONT	<i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus mitis</i> <i>Veillonella parvula</i> <i>Actinomyces viscosus</i> <i>Rothia dentocariosa</i>
PLAKEM PODMÍNĚNÁ GINGIVITIDA	● <i>Treponema denticola</i> ● <i>Prevotella intermedia</i> ● <i>Fusobacterium nucleatum</i>
CHRONICKÁ PARODONTITIDA	● <i>Treponema denticola</i> ● <i>Prevotella intermedia</i> ● <i>Porphyromonas gingivalis</i> ● <i>Tannerella forsythensis</i> ● <i>Fusobacterium nucleatum</i> ● <i>Peptostreptococcus micros</i> ● <i>Aa</i>
AGRESIVNÍ LOKALIZOVANÁ PARODONTITIDA	● <i>Aa</i> a další mikroorganismy
AGRESIVNÍ GENERALIZOVANÁ PARODONTITIDA	● <i>Treponema denticola</i> ● <i>Aa</i> ● <i>Porphyromonas gingivalis</i> ● <i>Tannerella forsythensis</i> ● <i>Campylobacter rectus</i> ● <i>Eikenella corrodens</i>
REFRAKTERNÍ PARODONTITIDA	● <i>Aa</i> ● <i>Porphyromonas gingivalis</i> ● <i>Tannerella forsythensis</i> ● <i>Prevotella intermedia</i> ● <i>Peptostreptococcus micros</i>

Zdroj: LISTGARTEN, M. A. The structure of dental plaque. *Periodontology* 2000, 1994, 5.1.

Legenda k tabulce 2: barevná kruhová označení v tabulce představují přiřazení dané bakterie k určitému barevnému bakteriálnímu komplexu.

Pod pojmem parodontopatogenní (dále jen PP) bakterie si lze představit skupinu asacharolytických bakterií – bakterií, jejichž základní potravou nejsou sacharidy. Tyto bakterie tedy neumí tvořit kyseliny, jako je tomu u kariogenních sacharolytických bakterií, proto ani neumí přežít v kyselém prostředí. Naopak v takovém prostředí hynou. PP bakterie žijí v neutrálním až zásaditém prostředí. Základní vlastností těchto

mikroorganismů je, že na jejich přítomnost reaguje náš organismus procesem imunitní odpovědi [36].

3.5.1 Bakteriální komplexy

PP bakterie byly rozřazeny do jednotlivých skupin barevných komplexů (tabulka 3), přičemž podle nejnovějších poznatků **největší destrukce kosti alveolárního výběžku byly zaznamenány při přítomnosti bakterií červeného komplexu**. Virulence a patogenita jednotlivých komplexů je značně heterogenní. Komplexy jsou charakteristické svojí lokalizací, symbiotickými, kompetitivními a patogenetickými vlastnostmi [19].

Tabulka 3 - Přehled bakteriálních komplexů

ČERVENÝ KOMPLEX	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Tannerella forsythensis</i> <i>Treponema denticola</i>
ORANŽOVÝ KOMPLEX	<i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Prevotella nigrescens</i> <i>Peptostreptococcus micros</i> <i>Campylobacter rectus</i>
ŽLUTO-ZELENÝ KOMPLEX	<i>Eikenella corrodens</i> <i>Aa (fenotyp A)</i> <i>Streptococcus sanguis</i>
KOMPLEX Aa - RŮŽOVÝ KOMPLEX	<i>Aa</i>

Volně upraveno dle: [19]

I. Červený komplex

Tyto exogenní bakterie nacházíme především v hlubších parodontálních kapsách. Jsou silně virulentní. Pronikají do parodontálních tkání a produkují proteolytické enzymy. Jsou stejně jako *Aa* typické a specifické zejména pro akutní stádium parodontitid. Bakterie červeného komplexu (zejména *Porphyromonas gingivalis*) jsou schopny ovlivňovat imunitní odpověď neutrofilních granulocytů. Svými toxiny mohou způsobovat buněčnou smrt leukocytů, lipopolysacharidy mohou aktivovat a udržovat destrukci parodontálních tkání [19].

Porphyromonas gingivalis je G- anaerob, který je asociovaný s těžkou chronickou parodontitidou a způsobuje výraznou destrukci

parodontálních tkání. Ovlivňuje i některá systémová onemocnění, především aterosklerózu [35]. V iniciační fázi akutního zánětu způsobuje inaktivaci leukocytů. Tímto mechanismem značně oslabuje imunitní hostitelskou obrannou reakci, díky tomu je schopna se velmi rychle množit a taktéž podporovat růst ostatních bakteriálních druhů v rámci mikrobiálního biofilmu. Tyto skutečnosti vysvětlují, proč v přítomnosti *Porphyromonas gingivalis* často dochází k výrazné destrukci tkání [5]. S rostoucí hloubkou parodontálních kapes stoupá i podíl tohoto G- anaeroba na celkové subgingivální mikroflóře. Vysoká prevalence *Porphyromonas gingivalis* u těžkých chronických forem parodontitid, jakož i u jiných klinických forem tohoto onemocnění, a velký mnohočetný virulentní potenciál předurčují tuto bakterii k roli **primárního dominantního patogenu parodontitid**, především tedy *chronických*. Mezi virulentní faktory této anaerobní bakterie patří například přítomnost fimbrií, které umožňují fixaci bakterie k měkkým tkáním parodontu a k hydroxyapatitům TZT. Dále je schopna produkovat cysteinové proteinázy degradující mnohé bílkovinné substance imunitního systému, či lipopolysacharidový (dále jen LPS) toxin [19].

Tannerella forsythensis představuje mikroorganismus, který byl prvotně popisován jako *Bacteroides forsythus*, avšak v roce 2002 byl překlasifikován na *Tannerella forsythensis* [36]. Jako všechny bakterie červeného komplexu i *Tannerella forsythensis* představuje G- anaerob. Je asociována s agresivní a refrakterní parodontitidou [35]. Představuje jednoho ze základních parodontálních patogenů. V adhezi této bakterie má značný význam její povrch, stejně jako její škodlivé produkty (protein bohatý na leucin). Aktivuje zánětlivé mediátory – cytokiny, které spouští zánětlivou reakci a též resorpci kosti alveolárního výběžku [36].

Treponema denticola je spirálovitá pohyblivá bakterie, která je spojována s časně vzniklou parodontitidou [35]. Na jejím povrchu nacházíme vnější membránu s výraznými antigeny (dále jen Ag). V případě této bakterie se jedná zejména o LPS toxin. Typická je i její

vysoká invazivita, už jednu hodinu po infekci totiž proniká do krve, obliteruje kapiláry a způsobuje lokální ischémii [36].

II. Oranžový komplex

Tento komplex bakterií je velmi silně asociován s červeným komplexem. Jedná se o endogenní gramnegativní anaerobní bakterie, které jsou zodpovědné za vznik oportunních infekcí [5].

Prevotella intermedia představuje nepohyblivou bakterii tvořící hydrolytické proteázy, které dokáží štěpit bílkovinné řetězce na nižší peptidy a aminokyseliny. Tím se aktivně podílí na výživě jiných mikroorganismů. Bakterie je schopna proteolyticky katabolizovat tkáňe parodontu a účastnit se tvorby abscesů. Tento černě pigmentovaný bakteroid má podobné virulentní faktory jako *Porphyromonas gingivalis*, nicméně jeho celková patogenita vůči tkáním parodontu tak významná není [19]. *Prevotella intermedia* užívá steroidy jako růstové faktory, z toho důvodu se vyskytuje ve zvýšeném množství u těhotných žen [36]. Taxonomicky je na místě dále uvést *Prevotella nigrescens*. Ve vzorcích plaku parodontologických pacientů však častěji najdeme právě druh *Prevotella intermedia*.

Fusobacterium nucleatum představuje gramnegativní anaerobní nepohyblivou bakterii tvaru kužele. Velmi často je izolována ze vzorků subgingiválního plaku pocházejícího z různých forem parodontitid, především chronických. Většinou tvoří až jednu desetinu z celkového množství izolovaných bakterií. Některé bílkoviny jeho vnější membrány dokáží indukovat buněčné usmrcení lidských lymfocytů.

Peptostreptococcus micros představuje grampozitivní anaerobní kok. Jeho vysoká prevalence (47 %) je spojována s aktivní progresí a destrukcí parodontálních tkání. U pacientů s neaktivním onemocněním je jeho prevalence pouze 14 %. Tato bakterie disponuje vícero virulentními faktory. Jde například o faktor adheze k epiteliálním buňkám [19].

III. Žluto-zelený komplex

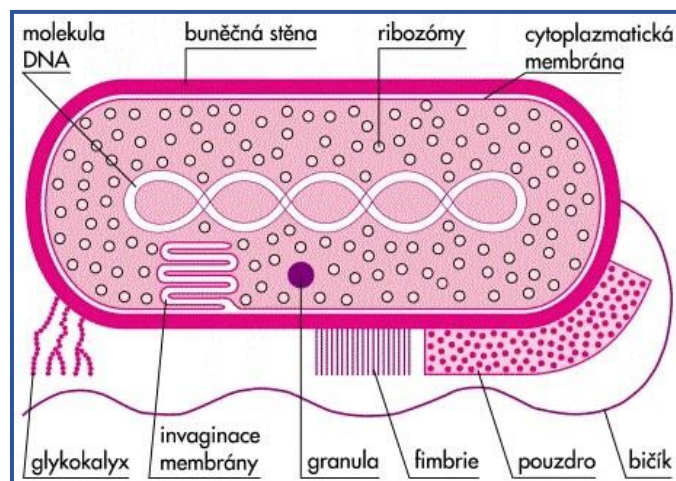
Tyto bakterie jsou jen vzácně asociovány s bakteriemi červeného nebo oranžového komplexu. S největší pravděpodobností mezi nimi existuje antagonistický vztah, díky němuž je koexistence bakterií žlutého a zeleného komplexu s bakteriemi červeného nebo oranžového komplexu nepravděpodobná, nebo dokonce až nemožná. Jedná se o komplex zahrnující méně agresivní a méně virulentní druhy bakterií [5].

IV. Růžový komplex – komplex obsahující Aa

Tato nepohyblivá G- tyčka žije v anaerobním až kapnofilickém prostředí. Pro svůj život vyžaduje oxid uhličitý. Je dominantním patogenem při agresivní typech parodontitid. Její patogenita je konkrétně spojována s lokalizovanou formou agresivní parodontitidy. Aa je velmi citlivý na kyselé, ba už i na slabě kyselé prostředí, při poklesu pH pod hodnotu 6 klesá její životaschopnost [36]. Aa je také ve 30 % součástí chronických zánětlivých parodontálních lézí a je velmi častým dominantním patogenem i u refrakterních forem parodontitid. Infekce tímto anaerobem postihuje převážně mladší jedince. Řada studií uvažuje o intrafamiliárním přenosu. Za zmínku stojí i zajímavost, že žlutá rasa má frekvenci této bakterie v parodontu vyšší [19].

3.5.2 Vlastnosti parodontopatogenních mikroorganismů

Parodontální patogeny jsou obdařeny specifickými vlastnostmi, které se jednak podílejí na vzniku zánětlivého poškození parodontu, ale také napomáhají přežití bakterií a jejich rozmnožování v subgingiválním prostředí [19]. **Bakteriální buňka** (obrázek 15) se liší od buňky rostlinné a živočišné tím, že má podstatně jednodušší vnitřní strukturu. Co do složitosti a organizovanosti je o řád níže než buňka živočišná i rostlinná. Bakteriální buňka je nazývána *buňkou prokaryotní* na rozdíl od eukaryotní buňky rostlinné a živočišné. Velikost bakteriální buňky kolísá, je však často přirovnávána k velikosti mitochondrie [39].



Obrázek 15 - Schéma bakteriální buňky

Zdroj: https://leporelo.info/pics/pic/bunka-_schema.jpg

Mezi nejvýznamnější struktury bakteriálních buněk obecně patří **jádro**, které u prokaryot na rozdíl od eukaryot není od cytoplasmy odděleno membránou a nemá stálý tvar. Samotné jádro bakteriální buňky tvoří jediná, do kruhu uzavřená dvouzávitnicová molekula DNA [40]. Jaderná bakteriální genetická informace je tedy uložena na jediném kruhovém chromozomu (nukleotidu) a má formu dvojité šroubovice [26]. Bakterie kromě jaderné DNA mohou (ale nemusí) také obsahovat další úseky DNA. Tyto úseky představují do kruhu uzavřené molekuly a jsou asi stokrát menší než jaderný chromozom. Nazývají se **plazmidy** [39].

Vnitřní prostor bakteriální buňky vyplňuje viskózní hmota, **cytoplasma**. Kromě jaderné DNA a plazmidů se volně v cytoplasmě vyskytuje velké množství **ribosomů**. Ty jsou stejně jako u eukaryotních buněk složeny ze dvou podjednotek, které se spojují v jednu funkční jednotku zprostředkovávající proteosyntézu. Molekulárně se jedná o ribosomální RNA [39].

Cytoplasmu bakteriální buňky obklopuje **cytoplasmatická membrána**, jejímž základem je dvojvrstva fosfolipidů. Membrána je hladké a napjaté konzistence, ve výjimečných případech tvoří invaginace. Primární funkcí této membrány je izolace vnitřního prostředí bakteriální buňky od prostředí vnějšího [39]. Nad cytoplasmatickou membránou bakterie nacházíme **buněčnou stěnu**. Jedná se o jediný pevný útvar v této buňce, hraje roli buněčného skeletu, uděluje buňce tvar a mechanicky ji chrání. Buněčná stěna

G- bakterie je značně jiná než v případě bakterie G+. Je tenčí, ale složitější co do struktury [39]. Její součástí je LPS toxin, který je nositelem mnohých antigenních vlastností [19]. LPS je molekula velice pozoruhodná a neexistuje nikde jinde než ve vnější povrchové membráně G- bakterií [39].

Buněčná stěna může být navíc chráněna i **bakteriálním pouzdem**, jež zvyšuje rezistenci proti makroorganismu, a to zejména proti procesu fagocytózy [19]. Je-li pouzdro bakteriální buňky tvořeno síťovinou z jednotlivých vláken „trčících“ z buňky, nazývá se **glykokalyx** [39]. K vláknům glykokalyx řadíme fimbrie a pily. Na jejich koncích nacházíme *lecitiny* a *adheziny*, které mají specifickou afinitu k některým složkám pelikuly [41]. **Fimbrie** jsou proto taktéž řazeny mezi důležité morfologické bakteriální struktury. Jedná se o mnohočetné, povrchové, adhezenční trubičkovité útvary, obsahující významné Ag zvyšující virulenci příslušného mikroorganismu. Stejně tak je třeba na tomto místě uvést **bičíky** – pohybové orgány některých tyčinkovitých mikroorganismů. **Pilus** je stejně jako bičík specializovaným druhem fimbrie. Představuje tenké adhezenční filamentum, jež zprostředkovává přenos genetických informací mezi bakteriemi navzájem. Součástí povrchových morfologických struktur bakterií bývají velice často i různé virulentní faktory a toxiny, které bakteriím napomáhají překonat linii nespecifické a specifické imunity [19]. Mezi tyto faktory lze podle Hellwiga [18] zařadit:

1. *Enzymy a produkty metabolismu bakterií* – rozpouštějí mezibuněčnou hmotu a usnadňují tak průnik bakterií do tkáně (kolagenázy, hyaluronidázy, chondroitinsulfatázy, neuraminidázy a amoniak, indol, sirovodík)
2. *Endotoxiny* = tepelně stabilní komplexy LPS-protein tvořící strukturální složky buněčných stěn G- bakterií. Uvolňují se při lýze těchto bakteriálních buněk. Vyvolávají vystupňovanou zánětlivou reakci [42].
3. *Exotoxiny* = tepelně labilní proteiny vylučované určitými druhy bakterií. Jsou secernovány z bakteriální buňky do okolního prostředí jako Ag (leukotoxin) [42].

Burýšek [43] uvádí 7 taxonomických bakteriálních druhů (tabulka 4), jejichž zvýšené hladiny v sulcus gingivalis (resp. parodontální kapse) mají podle něho významnou výpovědní hodnotu o závažnosti onemocnění.

Tabulka 4 - Významné parodontální patogeny

Významné parodontální patogeny
<i>Aa</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Tannerella forsythensis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Treponema denticola</i>
<i>Peptostreptococcus micros</i>

Převzato z: [43]

Za nejdůležitější bakteriální patogeny v parodontu jsou však považovány ***Porphyromonas gingivalis*** (bakterie červeného komplexu), hrající klíčovou roli u *chronických forem parodontitid*, a ***Aa*** (bakterie růžového komplexu), který je pokládán za hlavního původce *agresivních forem parodontitid*. U obou parodontopatogenů byl definován molekulární mechanismus, kterým aktivně narušují celý parodont. Prohlubují subgingivální prostor a umožňují tak dalším anaerobním patogenům osidlovat oblast parodontální kapsy [43]. Podle Burýška [43] však tyto klíčové parodontopatogeny vykazují značně odlišnou citlivost na současná antibiotika (dále jen ATB). Proto není možné zvolit univerzální plán terapie pro obě formy onemocnění. U těchto dvou nejvíce „podezřívavých“ PP bakterií jsou také detailně prozkoumány jejich virulentní faktory.

3.5.2.1 Virulentní faktory *Porphyromonas gingivalis*

Virulentní faktory *Porphyromonas gingivalis* lze rozdělit do 5 skupin:

I. *Fimbrie*

Tyto vláknité povrchové struktury zprostředkovávají primární přichycení a následnou fixaci bakterie k měkkým tkáním parodontu a ke slinou obaleným TZT. Fimbrie se dokáží vázat na bílkoviny slin a také na různé typy buněk hostitele (fibroblasty, makrofágy, epiteliální buňky) [19].

Bílkoviny fimbrií navíc přispívají k produkci *tumor nekrotizujícího faktoru – alfa* (dále jen TNF- α) a stimulují povrchové adhezivní molekuly endoteliálních buněk, které do místa zánětu začnou přitahovat neutrofilů a fagocyty. Tím nastává další propagace zánětlivého procesu v parodontu [44]. Tato stimulace je s největší pravděpodobností aplikovatelná na všechny endoteliální buňky v lidském organismu. Při systémovém rozšíření této bakterie do organismu hostitele by tedy čistě hypoteticky mohla být propojením mezi plakem podmíněnými parodontitidami a aterosklerotickými změnami [45].

II. **Bakteriální pouzdro**

Tato povrchová struktura má na adhezi *Porphyromonas gingivalis* k buňkám epitelu taktéž významný vliv. Bakteriální pouzdro totiž ovlivňuje hydrofobicitu bakterie a ta v konečném důsledku určuje její celkovou adhezní schopnost a tím i virulenci a míru patogenity [46].

III. **Extracelulární cysteinové proteinázy**

Jedná se o polypeptidy degradující mnohé bílkovinné substance imunitního systému hostitele. Řadíme sem arg-gingipain (RGP) a lys-gingipain (KPG). V dnešní době se tyto látky považují za nejdůležitější katabolické enzymy *Porphyromonas gingivalis*. Kromě nich však tento mikroorganismus dokáže produkovat i mnoho dalších typů proteináz. Příkladem můžou být kolagenázy nebo aminopeptidázy [19].

IV. **Lipopolysacharidový (LPS) toxin**

Jeho výhradní lokalizací je buněčná membrána a to nejen *Porphyromonas gingivalis*, ale i jiných G- bakterií. Jeho chemická skladba determinuje především endotoxickou aktivitu. Některé studie však potvrzují, že LPS toxin *Porphyromonas gingivalis* nemá tak zásadní endotoxické účinky jako LPS toxin jiných G- bakterií a nevyvolává tak masivní tvorbu cytokinů typu IL-1 nebo TNF- α (viz kapitola 3.7.3.3). LPS toxin taktéž inhibuje diferenciaci osteoblastů [19].

V. **Zvýšená aktivita osteoklastogeneze**

Při přítomnosti *Porphyromonas gingivalis* v tkáních parodontu se aktivně zvyšuje novotvorba osteoklastů. Děje se tak prostřednictvím triády OPG/RANK/RANKL. Osteoblasty alveolární kosti produkují molekulu nazývanou RANKL (receptor activator of nuclear faktor-kappa B ligand), tato molekula funguje jako ligand pro receptory RANK, které se vyskytují na hemopoetických buňkách. Tyto receptory aktivují diferenciaci hemopoetických buněk a udržují jejich funkci. Osteoblasty produkují a secernují také osteoprotegerin - OPG, který funguje jako lákající receptor pro zábranu vazby RANKL na RANK. RANKL náleží rodině TNF, prozánětlivých cytokinů. Membránově vázaný RANK a solubilní OPG patří do rodiny receptorů pro TNF. Tato triáda je tedy zodpovědná za koordinaci osteoklastogeneze a resorpci kosti alveolárního výběžku [47].

3.5.2.2 **Virulentní faktory Aa**

Virulentní faktory Aa můžeme rozdělit do 4 skupin:

- I. **Kolonizační faktory** - zajišťují adhezi a invazi.
 - a) *Adheziny* – zajišťují přichycení bakterie na měkké i tvrdé tkáně
 - b) *Invaziny* – zajišťují invazi bakterie do měkkých parodontálních tkání
 - c) *Bakteriociny* – znesnadňují přichycení a kolonizaci jiných bakterií
 - d) *ATB rezistiny* – podmiňují inaktivaci některých ATB (tetracyklinů) [48].
- II. **Imunomodulační a imunodestrukční faktory** – ničí protizánětlivou a obrannou imunitní reakci organismu hostitele.
 - a) *Leukotoxin* – poškozuje membrány neutrofilů, některých lymfocytů, monocytů a indukuje apoptózu bakteriálních buněk [49].
 - b) *Imunosupresivní bílkoviny* – inhibují syntézu IgG a IgM [19].
 - c) *Inhibitory chemotaxe* – znesnadňují proces chemotaxe leukocytů do místa zánětu, tím umožňují přežití bakterie v tkáni [48].
 - d) *Inhibitory Fc-proteinů* – vážou se na specifický Fc receptor v molekule protilátky. Tato vazba zapříčiní jeho patologickou změnu a tím zablokuje případnou vazbu receptoru se specifickým místem na

povrchu PMN leukocytů, čímž se inhibuje proces opsonizace a fagocytózy [48].

III. *Destrukční tkáňové faktory* – podílí se přímo na destrukci parodontálních tkání, umožňují tak další šíření zánětu.

a) *Kolagenázy* – degradují kolagen [48].

b) *Toxiny* – potlačují syntézu DNA v nejdůležitějších pojivových buňkách parodontu – fibroblastech. Tím zabraňují jejich proliferaci [48].

c) *Resorpční kostní faktory* – nacházejí se buď uvnitř bakteriální buňky (proteolytický faktor), nebo přímo na povrchu bakterie [48].

d) *Faktory stimulující zánět* – stimulují resorpci kosti, agregaci trombocytů a stejně tak i indukují tvorbu IL-1- β a TNF- α v buňkách makrofágů. Tyto funkce v největší míře zastává LPS toxin [50].

IV. *Faktory tlumící reparaci poškozených tkání* – potlačují reparační mechanismy v zánětem postižené parodontální tkáni. Řadíme sem zejména *inhibitory novotvorby kostní tkáně* [48].

3.6 Histopatogeneze plakem podmíněných parodontopatií

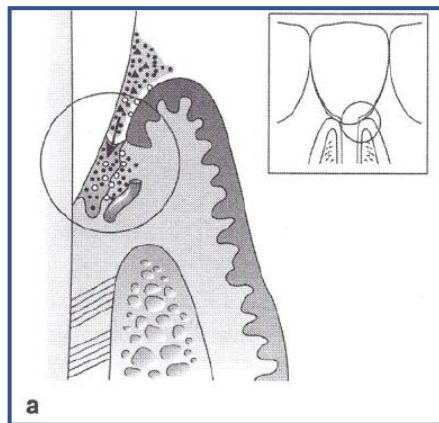
Vývoj plakem podmíněných parodontopatií má z histologického hlediska **čtyři stádia**:

- *iniciální léze,*
- *časná léze,*
- *etablovaná léze,*
- *pokročilá léze.*

Iniciální a časná léze jsou klinicky popisovány jako akutní gingivitida, etablovaná léze odpovídá obrazu chronické gingivitidy. Pokročilá léze představuje přechod mezi chronickou gingivitidou a parodontitidou. Je však třeba zdůraznit, že ne každá plakem podmíněná gingivitida musí nutně přejít v parodontitidu. Avšak každé parodontitidě vždy předcházela plakem podmíněná gingivitida [18].

3.6.1 Iniciální léze

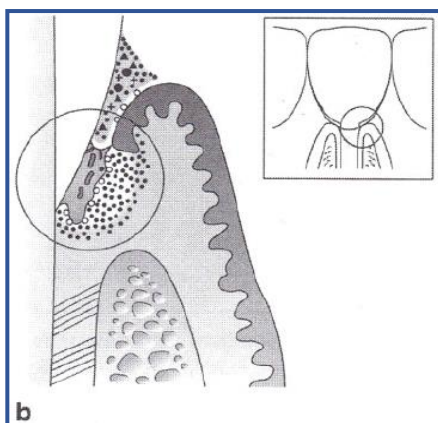
Iniciální léze (obrázek 16) se vyvíjí po 2 až 4 dnech kumulace plaku z klinicky zdravé gingivy. Jedná se o stav plně reverzibilní a charakterizuje se akutní reakcí cévního plexu pod spojovacím epitelem. Typická je exsudace sulkulární tekutiny, migrace leukocytů do spojovacího epitelu a perivaskulární odbourávání kolagenu. Dochází k postupnému uvolňování koronární části DG uzávěru se současným otokem marginální gingivy [18].



Obrázek 16 - Iniciální léze
Převzato z: [18]

3.6.2 Časná léze

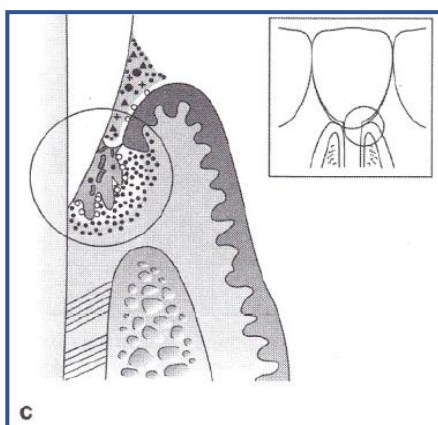
Časná léze (obrázek 17) představuje druhé stádium, které se vyvíjí během 14 dnů z neovlivňované iniciální léze. Kromě zesílených znaků iniciální léze dále pozorujeme nahromadění T-lymfocytů poblíž spojovacího epitelu, další ztráty kolagenu, „trhlinu“ spojovacího epitelu na dně sulcus gingivalis a jeho proliferaci do vaziva v laterálním směru. Kromě toho je patrná také tvorba epiteliálních lišt - prstovitých výběžků do tkáně [18].



Obrázek 17 - Časná léze
Převzato z: [18]

3.6.3 Etablovaná léze

Etablovaná léze (obrázek 18) se vytváří několik málo týdnů po časné lézi. Je stále reverzibilní. Typická bývá přítomnost jak subgingiválního plaku, tak zubního kamene. Obecně se popisují známky akutních zánětlivých pochodů. V důsledku dominance B-lymfocytů se ve vazivu poblíž spojovacího epitelu vyskytují imunoglobuliny. Dochází ke značné ztrátě gingivální podpůrné tkáně, ovšem stále bez osteolytických procesů. Patrná je apikálně i laterálně směřovaná proliferace spojovacího epitelu [18].

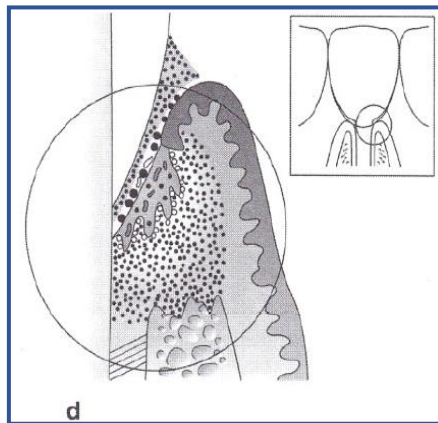


Obrázek 18 - Etablovaná léze
Převzato z: [18]

3.6.4 Pokročilá léze

Pokročilou lézi (obrázek 19) již není možné pouhou ústní hygienou navrátit ad integrum. Je spojena s osteolytickými destrukčními procesy a

výraznou proteolýzou parodontálních vazů. Charakteristické pro tuto lézi jsou proliferativní aktivity spojovacího epitelu, a to jak apikálním, tak laterálním směrem [19]. Sledujeme tvorbu pravé parodontální kapsy a rozsáhlou zánětlivou a imunologickou reakci, která nabývá chroničtějšího a destruktivnějšího charakteru [18]; [5].



Obrázek 19 - Pokročilá léze
Převzato z: [18]

3.7 Obranná reakce hostitelského organismu

Obranou hostitelského organismu proti PP bakteriím a jejich virulentním faktorům není nic jiného než *zánětlivá reakce*. Mechanismy této reakce ale rovněž přispívají k další destrukci parodontálních tkání [18]. Podle Straky [19] se ***parodontitida definuje jako infekční onemocnění podmíněné nevyváženými interakcemi mezi specifickou G- anaerobní mikroflórou a imunologickými reakcemi organismu***. Primárně obranné procesy se tedy mohou rychle změnit na procesy destruktivní, jelikož chronické přetrvávání bakteriálních patogenů v parodontu postupně navozuje stav, při kterém se zánětlivá obranná reakce změní na *destrukční zánětlivý proces*.

3.7.1 Zánětlivá destrukce

Těsný kontakt tkání parodontu s mikroorganismy plaku a jejich toxickými produkty tedy vyvolává obrannou reakci hostitelského organismu ve smyslu *zánětu*. Pro zánětlivou reakci je typické, že do parodontální kapsy ve zvýšené míře migrují fagocyty a taktéž se zvyšuje tvorba sulkulární tekutiny [19]. Projevem akutního zánětu je tedy kromě zvýšené cévní permeability i

tvorba nescifického obranného leukocytárního valu v oblasti vaziva pod defektním spojovacím epitelem. Spojovací epitel na dně parodontální kapsy se mění, jeho vrstva se koronoapikálním směrem snižuje a postupně se stává průchodným pro další bakterie. Povrch zubního kořene je intoxikován zplodinami plaku, postupně denaturován a stává se vlastní antigenně cizorodou tkání. Organismus se snaží infekci průběžně likvidovat, avšak za cenu dalšího poškození parodontálních tkání. Tento děj se může cyklicky opakovat za vzniku exacerbací a remisí onemocnění. Zánětlivá destrukce parodontálních tkání samozřejmě probíhá postupně a jednotlivé fáze se odlišují svým histologickým obrazem [20], jak již bylo popsáno v kapitole 3.6.

3.7.2 Antibakteriální obranná reakce

Antibakteriální, tedy zejména protikolonizační a antiadherenční obranné reakce, lze rozdělit na dvě části v závislosti na místě, kde probíhají. Místem jejich realizace je totiž **sulkulární tekutina** a **slina**. Jak již bylo zmíněno, vlastní tkáň parodontu před invazí PP druhů významně chrání vrstva orálního gingiválního, orálního sulkulárního a spojovacího epitelu, a právě tyto tkáňe jsou chráněny antibakteriálním potenciálem sliny a sulkulární tekutiny. Pokud však velké množství vysoce virulentních parodontopatogenů překročí obrannou bariéru epitelu, nastane jejich invaze do subepitelové tkáňe. Existují případy, kdy si proti pronikajícím bakteriím nejsme schopni vystačit pouze s mechanickými hygienickými postupy. Za takových okolností je nutno přistoupit k jejich aktivnímu ničení za pomoci adjuvantních ATB látek [19].

1. Sulkulární tekutina – tekutina dásňového žlábků

Sulcus gingivalis, dásňový žlábek, je hlavním „bitevním polem“, na kterém se odehrává většina obranných reakcí parodontu. V zásadě se jedná o štěrbinovitou mezeru mezi zubem a vnitřní plochou volné gingivy (viz kapitola 3.3). Sulcus gingivalis je vyplněn tekutinou a právě v ní se odehrávají mnohé imunologické pochody chránící tento epitel před invazivními druhy bakterií [19]. Zejména při zánětu totiž do sulcus gingivalis neustále pomalu prýští tekutina podobná krevní plazmě, tzv.

liquor gingivalis. Vylučuje se z kapilár cévního plexu pod spojovacím epitelem. Tekutina ovlivňuje mikrobiální ekologii dásňového žlábků hned v několika směrech:

1. Je zdrojem **živin** i **růstových faktorů** pro mikroby
2. Udržuje specifické **pH**
3. Obsahuje řadu **obranných faktorů** [37]: *Imunoglobuliny* – především IgG [40]; *PMN leukocyty* se schopností degranulace a fagocytózy [19]; *proteiny komplementu*; *B i T lymfocyty*; *enzymy* pocházející jak z makroorganismu, tak i z bakteriálních buněk (kolagenáza, elastáza, trypsin). Právě enzymy mohou ničit hostitelské tkáně a přispívat k destruktivním procesům typickým pro onemocnění parodontu [37]. Aktivita těchto enzymů se podle Ryškové [40] při chronické gingivitidě a parodontitidě radikálně zvyšuje.

Při zánětu se také v sulkulární tekutině rozkládají bílkoviny, čímž vzniká čpavek. Na základě toho se pH v parodontální kapse zvedá až k hodnotám kolem 7,8. To podněcuje množení některých parodontopatogenů, zejména typu *Porphyromonas gingivalis*. Kromě toho se hovoří i o tom, že zvýšená produkce sulkulární tekutiny během zánětu má vliv i na přímé mechanické vyplavování mikroorganismů z parodontální kapsy [37]. Výše zmíněné obranné mechanismy potvrzují, že sulkulární tekutina je primárním místem likvidace PP bakterií [19].

2. Slina

Také slina představuje jednu z prvních obranných bariér. Ochraňuje orální epitel, a tím i celý parodont, před bakteriální kolonizací [19]. Ochranná funkce sliny spočívá v zachování stability prostředí dutiny ústní a udržení mikrobiální rovnováhy [51].

V imunologické a protiinfekční ochraně parodontu a orálních sliznic jsou její důležitou součástí **imunoglobuliny** (dále jen Ig). Hlavním Ig ve slině je, na rozdíl od sulkulární tekutiny, sekreční **IgA**, který údajně inhibuje adhezi orálních bakterií k různým povrchům [19]. IgA představuje hlavní

složku specifické imunity ve slinách [37]. Má schopnost aherovat k povrchu mikroorganismů plaku, čímž dochází ke snížené schopnosti jejich vazby na ústní povrchy [13].

Typickou antimikrobiální bílkovinou obsaženou ve slinách je **lysozym**. Jedná se o enzym, který dokáže hydrolyticky štěpit mukopeptidy v buněčných stěnách G+ bakterií. Tím způsobuje jejich oslabení až lýzu. Buněčnou stěnu G- bakterií je však schopen rozkládat jen za spoluúčasti komplementu [40]. Slina obsahuje také bílkovinu **laktoferin**. Ten svůj antimikrobiální účinek realizuje tím, že na sebe váže železo, které si dokáže udržet i při nízkých hodnotách pH. Železo je potřebné pro růst, množení a virulenci patogenních bakterií. Dá se tedy říci, že je u něho popsán spíše bakteriostatický účinek, nežli účinek bakteriocidní [21]. Je tvořen některými z řad PMN leukocytů [40]. Další důležitou slinnou bílkovinou je **mucin**. Ovlivňuje adhezi bakterií tím, že vyvolává jejich agregaci (shlukování). Uspodňuje tak odstraňování bakterií z úst [37]. Z řad antimikrobiálně působících peptidů byly ve slině popsány též **histatiny**, **cystatiny** a **defenziny**. Histatiny představují skupinu bazických peptidů bohatých na histidin, které působí proti kvasinkám. Cystatiny působí jako inhibitory bakteriálních proteáz. Defenziny se pro svůj vysoký mikrobicidní účinek někdy označují jako tkáňová ATB, vytvářejí totiž otvůrky v cytoplasmatických membránách bakterií [37]. Ve slině jsou dále různé **růstové faktory**, které ovlivňují hlavně regeneraci a hojení parodontálních tkání [19].

3.7.3 Imunologická obranná reakce

Proti patogenním bakteriím organismus nedokáže bojovat jen antibakteriálními a protikolonizačními mechanismy, které byly popsány v kapitole 3.7.2. Proti pronikajícím mikroorganismům je třeba zakročit všemi dostupnými protiinfekčními postupy. Nejpohotovější obrannou reakcí je, jak již bylo zmíněno, **akutní zánět**. Jeho cílem je **zředit**, **zlikvidovat**, **vyločit** infekční agens a zajistit **regeneraci** tkání [19]. Tomu jsou podřízeny veškeré **mechanismy zánětu**, jejichž projevem je zejména:

a) *Dilatace cév*

Slouží k zajištění dostatečného množství krve a krevních elementů v místě zánětu.

b) *Zvýšená permeabilita cév*

Umožňuje prostup humorálních i buněčných obranných látek krevního séra do postižených tkání [28]. Zvýšená permeabilita cévní pleteně, která leží přímo pod spojovacím epitelem, je podle Straky [19] vyvolána látkami pocházejícími z krevní plazmy – bradykininem, kalikreinem, aktivátorem plasminogenu, složkami komplementu, fibrinovými produkty; nebo látkami uvolňovanými přímo z tkání nebo z buněk – histaminem, serotoninem, prostaglandiny, lymfokiny, lysozomálními produkty. Nepříznivým dopadem zvýšené cévní permeability je však edém dané tkáně.

Imunologická obrana parodontu se skládá z nespecifické a specifické imunity, z nichž každá má buněčnou a humorální složku. Jejich přehledné srovnání je uvedeno v tabulce 5.

- I. V prvních fázích je aktivována **NESPECIFICKÁ IMUNITNÍ ODPOVĚĎ** organismu, která však není dostatečně účinná proti všem antigenně působícím substancím. Kromě toho, že je reakcí nespecifickou, což znamená, že dochází ke vzniku stejné reakce bez ohledu na typ vyvolávajícího činitele, je také reakcí okamžitou, což znamená, že vzniká v přímé časové návaznosti na působení vyvolávajícího činitele [13].
- II. Většinou je však ještě aktivována **SPECIFICKÁ IMUNITNÍ ODPOVĚĎ**, kterou reprezentují T- a B-lymfocyty [18]. Na rozdíl od nespecifické imunitní reakce se jedná o reakci specifickou v tom smyslu, že je efektivnější a cíleně zaměřená na vyvolávajícího činitele. Vzhledem k nutné identifikaci patogenu a následné produkci protilátek má delší latenci [13].

Tabulka 5 - Srovnání nespecifické a specifické imunity

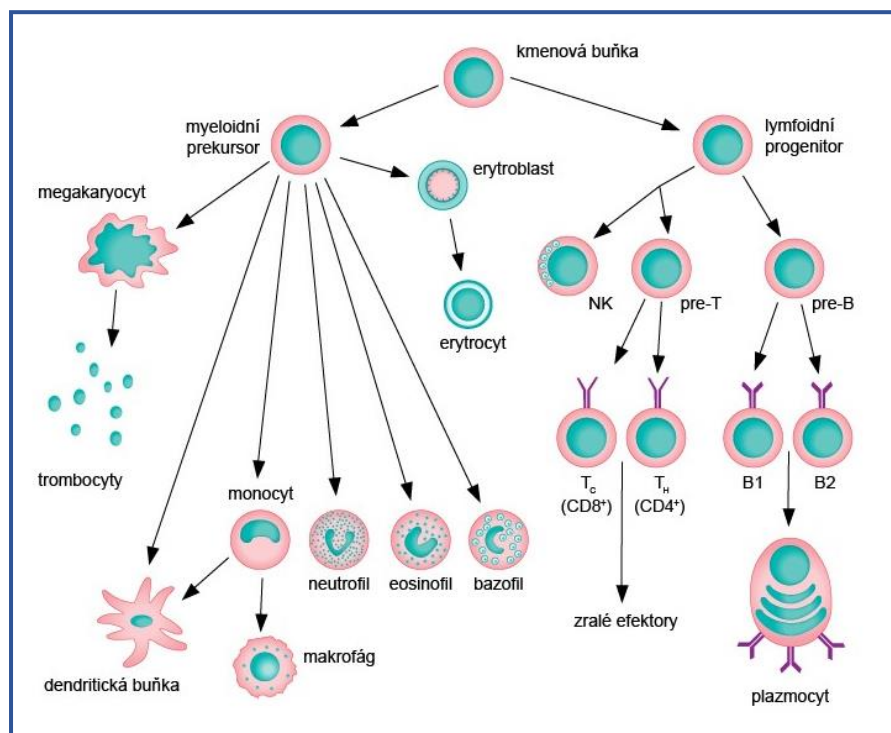
	Nespecifická imunita	Specifická imunita
Jiný název	Vrozená, přirozená, neadaptivní	Získaná, Adaptivní
Původ	Evolučně starší, dědí se	Evolučně mladší, nedědí se
Účinnost	Proti široké skupině patogenů	Proti určitému patogenu
Imunologická paměť	CHYBÍ	PŘÍTOMNA
Humorální složka	Komplement, IFN, IL , histamin, bílkoviny akutní fáze	Imunoglobuliny (Ig) – protilátky; cytokiny
Buněčná složka	<u>Fagocytující buňky</u> (hlavně neutrofil, monocyty a makrofágy); <u>Dendritické buňky</u> – hlavní Ag prezentující buňky; <u>Žírné buňky</u> – mastocyty; <u>NK buňky</u> - zabíječi	<u>T-lymfocyty</u> ; <u>B-lymfocyty</u> ; <u>Plazmatické buňky</u> produkující protilátky; <u>Paměťové buňky</u> diferencované z B-lymfocytů
Vedlejší účinky	Destrukce parodontu ve větším rozsahu	Destrukce parodontu v menším rozsahu

Volně upraveno dle: [13] a [68]

3.7.3.1 Buňkami zprostředkovaná imunita

Za buňkami zprostředkovanou imunitu jsou zodpovědné různé druhy buněk imunitního systému – tzv. **imunocytů** (obrázek 20).

Základním předpokladem úspěšné obrany organismu je jeho schopnost odlišit vlastní buňky od buněk a substancí těla cizích. Pro organismus cizorodé buňky představují bakterie, které na svém povrchu nesou konkrétní patogenní molekulární struktury (vzory) – zkráceně jsou označovány jako PAMPs (Pathogens Associated Molecular Patterns). Na imunocytech, které jsou v kontaktu s cizorodými bakteriemi, rozlišujeme receptory schopné identifikovat struktury PAMPs – označujeme je jako receptory identifikující vzory, PRRs (Patterns Recognition Receptors) [19].



Obrázek 20 - Přehled krevních elementů

Zdroj: <https://publi.cz/books/151/13.html>

Polymorfonukleární leukocyty (PMN leukocyty)

Nejdůležitějšími, dominantními imunocyty akutního zánětu jsou PMN leukocyty. Jinak se nazývají také jako neutrofilní granulocyty, či zkráceně neutrofil. Vyvíjí se z myeloidních prekursorů pocházejících z pluripotentních kmenových buněk kostní dřeně. Představují první linii periferní obrany parodontu [52]. Tvoří asi 70 % všech cirkulujících leukocytů [36]. V parodontálních lézích jsou dokonce nejpočetnějšími buňkami [19]. Za běžných podmínek totiž zaujmají 95 % všech leukocytů v sulcus gingivalis [52]. Nutno říci, že hrají velice důležitou roli v etiopatogenezi parodontitid [19]. PMN leukocyty vznikají v kostní dřeni a asi 5 dní v ní setrvávají. Teprve poté migrují do krevního oběhu a na základě chemotaktických podnětů se přesouvají do tkání na místo zánětu [36]. Hlavní funkcí PMN leukocytů je zabíjení a likvidace parodontálních patogenů usilujících o adhezi a kolonizaci, jakož i bakterií, které již pronikly do vlastních tkání parodontu [19].

Jejich zesílený vstup spojivacím epitelem se děje na základě zvýšené permeability cév gingiválního plexu, jež podmiňuje zvýšenou produkci sulkulární tekutiny [18]. Právě sulkulární tekutina je totiž zdrojem PMN

leukocytů. Bylo dokonce zjištěno, že PMN leukocyty v zásadě představují trvalou složku sulkulární tekutiny a jsou do tohoto místa přitahovány na základě chemotaxe. Nahromaděná tekutina v sulku slouží mimo jiné pro obousměrný pohyb, kdy se v jednom směru realizuje difúze chemotaktických faktorů a jiných substancí do pojivové tkáně, ve druhém směru se děj týká transportu protilátek, komplementových proteinů, zánětlivých mediátorů mimo gingivální tkáň [52].

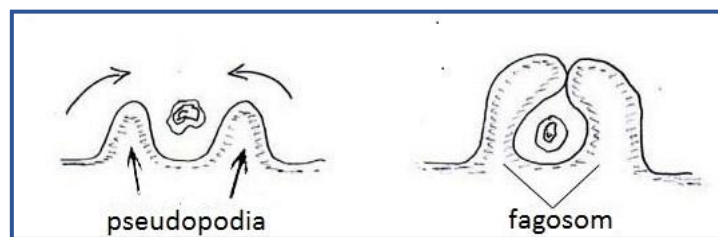
Aby PMN leukocyty mohly naplnit své poslání a cíleně prostoupit tkáň k Ag, musí se nejprve dostat mimo cévu do tkáně parodontu. Opuštění krevního řečiště a přecházení PMN leukocytů do tkáně je složitý a vícestupňový proces. Za normálních okolností, tedy při nezápovědném stavu, PMN leukocyty proudí krevním řečištěm a jejich maximální koncentrace se nachází v centrální části lumena krevních cév [53]. V situaci zánětu se však rychlost jejich cirkulace zpomalí, PMN leukocyty se začnou přesouvat k periférii cévního lumena a shromažďovat podél cévních stěn. Jejich pohyb se nakonec omezí až do takové míry, že se začnou kutálet (rolovat) po endotelu cév. Tento proces označujeme jako *rolling* a *marginace*. Následný prostup PMN leukocytů extravazálně se označuje slovem *diapedéza* (neboli *interendoteliální transmigrace*). Konečnou fází je rozpuštění bazální membrány endotelu cév, kdy leukocyty spustí svoji degranulaci za účelem rozrušení bazální membrány pomocí proteolytických enzymů. Ve finále se leukocyty ocitnou v pojivové tkáni parodontu [19]. Poté, co PMN leukocyty opustí cévní plexus, pronikají pojivovou tkáň a cestou lamina basalis externa vcházejí do spojovacího epitelu. Pohybem, který je stimulován za pomoci chemotaktických faktorů, se skrz spojovací epitel dostávají na dno sulcus gingivalis (resp. parodontální kapsy) [52]. Cílený prostup PMN leukocytů tkáň k Ag nazýváme *chemotaxí*. K antigenní bakteriální buňce mohou být PMN leukocyty přitahovány buď endogenními, nebo exogenními chemotaktickými faktory. Mezi *exogenní chemotaktické faktory* řadíme peptidové produkty patogenních bakterií. Ty jako první přitahují PMN leukocyty do místa infekce. Bakteriální chemotaktické faktory jsou představovány různými oligopeptidy, které se odštěpují z tvořících se bakteriálních proteinů. U klasických eukaryotních buněk se při

tvorbě bílkovin s podobnými oligonukleotidovými odštěpkami nesetkáváme, proto bakteriální oligopeptidy působí jako velmi účinný a hlasitý signál přítomnosti dané bakterie v našem organismu [37]. *Endogenní chemotaktické faktory* naopak pochází z vnitřního prostředí hostitelského organismu. Jedná se zejména o prostaglandiny, leukotrieny, interleukiny (IL-8 z monocytů a makrofágů) nebo fragmenty komplementu (C5a) [18]. Základním předpokladem chemotaktického pohybu PMN leukocytů je rozpoznávání těchto chemotaktických látek za pomoci receptorů [19]. Proces chemotaxe však může být do jisté míry omezován různými faktory, které uvolňuje například *Aa*, *Prevotella melaninogenica*, či další *G-* bakterie. Navíc k poruchám chemotaxe může docházet i při některých celkových onemocněních, jakým je například Chediak–Higashiho syndrom [53].

PMN leukocyty mají schopnost **fagocytózy**, jsou označovány jako *profesionální fagocyty* [36]. Proces fagocytózy představuje nejdůležitější obranný mechanismus spadající do první obranné linie parodontu. Pomocí tohoto procesu jsou bakterie identifikovány, zničeny a odklizeny. Jedná se o vrozený, **nespecifický imunitní mechanismus** a jeho selhání navodí procesy specifických imunitních mechanismů [19].

Jelikož PMN leukocyty nedisponují dostatečným množstvím identifikačních a rozpoznávacích mechanismů, rozeznání cizorodých buněk a substancí jim usnadňují látky nazývané **opsoniny** [37]. PMN leukocyty proto mají pro opsoniny příslušné povrchové receptory [18]. Mezi opsoniny řadíme *protilátky*, jakožto specifické opsoniny, a *fragmenty komplementu*, jakožto nespecifické opsoniny. Mají schopnost se vázat na povrch cizorodých bakteriálních buněk určených ke strávení a tím je pro PMN leukocyty patřičně „označují“ a upraví jejich povrch tak, aby bakterie mohly být snadněji pohlceny [37]. Imunologickou reakci, která svým mechanismem usnadňuje identifikaci patogenů, nazýváme slovem **opsonizace**. V rámci opsonizace tedy dochází k identifikaci infekční částice, v tomto případě parodontopatogenu, a její vazbě k povrchu PMN leukocytu [19]. Vazba opsonizované částice na příslušné receptory fagocytu vyvolá do fagocytární buňky signál, na nějž reaguje systém buněčného *aktinu* a *myosinu*. Na základě toho fagocyt začne vysílat

panožky, jimiž označenou částici nakonec obklopí a ta se ocitne ve fagocytární vakuole – **fagosomu** (obrázek 21)[37].



Obrázek 21 - Schéma fagocytózy

Zdroj: <http://user.mendelu.cz/sladek/cytologie/vymena.html>

Samotné pohlcení infekční částice do fagocytární vakuoly (fagosomu) se odborněji nazývá **ingesce** [19]. Krátce nato s fagosomem splyne nejbližší buněčný lysosom a vznikne struktura nazývaná jako **fagolysosom**. Do něho se vylije obsah buněčných granul, jež začnou na pohlcenou bakterii působit a postupně ji likvidovat [37]. Ve stádiu fagolysosomu tedy dochází k intracelulární likvidaci parodontálního patogenu [19].

Po fagocytóze a následném strávení mikroorganismů pomocí lysozomálních enzymů (matrix-metallo-proteinázy, tzn. **kolagenázy** a **elastázy**) dochází k uvolňování těchto enzymatických látek, zejména kolagenáz, do okolí fagocytu [18]. Uvolněné enzymy v bezprostřední blízkosti PMN leukocytů způsobují postupnou denaturaci okolních vazivových i kostních struktur. Tím je kromě buněk bakterií postupně poškozována vlastní tkáň [36].

Profesionální fagocyty žijí krátce – méně než 24 hodin, a pokud se nezúčastní procesu fagocytózy, hynou apoptózou [36]. Straka [19] ve své knize shrnul nejdůležitější změny a děje, které PMN leukocyty musí při své cestě k infekčnímu agens překonat, do následujícího přehledu:

1. *Vývoj, zrání a diferenciace v kostní dřeni*
2. *Uvolnění z kostní dřene a cirkulace v krvi*
3. *Rolling, marginace a diapedéza*
4. *Chemotaxe do místa zánětu*
5. *Opsonizace bakterie*
6. *Pohlcení částice a tvorba fagosomu*
7. *Vytvoření fagolysosomu*

8. Degradace fagolysozomu na jednoduché proteiny a cukry
9. Navození specifické imunitní reakce za pomoci proteinů bakterií a rozpadlých buněk.

Dalším druhem buněk, které se účastní likvidace bakteriální infekce v parodontu, jsou:

Monocyto - makrofágové buňky

Tyto buňky zahrnují *krevní monocyty*, jež vznikají v kostní dřeni, a *tkáňové makrofágy*. Obecně zastávají funkci druhé obranné linie [19]. **Makrofágy** představují největší leukocyty. Celkem tvoří 4 až 6 % cirkulujících leukocytů. Diferencují se z monocytů v momentě, kdy opouští krevní řečiště. Jejich hlavní funkcí je fagocytóza velkého množství bakterií a jiných cizorodých látek. Často fagocytují také zahynulé PMN leukocyty [36]. Fagocytární kapacita makrofágů je však *menší* než u PMN leukocytů [19]. Jejich obranná funkce je i tak významná, ale z důvodu uvolňování *kolagenáz* a dalších enzymů hrají, stejně jako PMN leukocyty, svoji roli i v ničení samotných parodontálních tkání [36]. Produkci a uvolňování kolagenáz z buněk makrofágů dokážou indukovat i různé toxiny - zejména LPS toxin z *Aa* a *Prevotella gingivalis* [19]. Populace makrofágů nepředstavuje jednotnou skupinu buněk, ale směs buněk s relativně rozdílnými funkcemi. Plně aktivovaný makrofág likviduje intracelulární patogeny a je schopen produkovat velké množství prozánětlivých cytokinů. Tvorbu těchto cytokinů uvnitř makrofágů dokáže indukovat i *Aa* a jeho LPS toxin. Jedná se především o IL-1 a TNF- α , které mohou spustit proteolýzu a osteolýzu parodontálních tkání. Dlouhodobá přítomnost aktivovaných makrofágů v parodontu se proto považuje za významný etiologický prvek v rozvoji chronických parodontitid [19].

Lymfocyty

Ke třetí obranné linii přiřazujeme lymfocyty. Tvoří 25 až 33 % všech cirkulujících leukocytů. Jsou menší než PMN leukocyty a tvoří se v lymfatických orgánech. Jejich hlavní úlohou v organismu je tvorba protilátek a stejně jako předešlé imunocyty dokážou rozpoznat cizí antigenní molekuly. Takzvané

atigen-prezentující buňky (obvykle makrofágy) fungují tak, že navážou konkrétní Ag a transportují ho k lymfocytům. Rozpoznávání jednotlivých Ag je v tomto případě specifické, protože daný lymfocyt reaguje pouze s příslušným Ag, čímž dochází k jeho aktivaci [36].

Mezi lymfocyty řadíme 3 typy buněk:

1. T-lymfocyty

Tento druh lymfocytů je zodpovědný za **buněčný typ specifické imunitní reakce**. Progenitorové buňky T- i B- lymfocytů mají svůj původ v kostní dřeni. T-lymfocyty se poté přesouvají do *Thymu* (odtud T-lymfocyty), kde dozrávají a podstupují patřičný „výcvik“. Jsou zde postupně vybavovány příslušnými povrchovými receptory a po nějaké době se z nich vyvinou plně aktivní T-lymfocyty schopné specifické buněčné reakce [19].

Hlavními představiteli T-lymfocytů v parodontu jsou **Th-lymfocyty** (CD4+) [54]. Podporují humorální imunitní odpověď B-lymfocytů [18]. Existují v organismu v několika populačních stádiích:

- *Th1-lymfocyty* - aktivují makrofágy, produkují interferon gamma (IFN- γ) a TNF- α , likvidují hlavně intracelulární patogeny.
- *Th2-lymfocyty* - aktivují B-lymfocyty a vytvářejí IL-4, IL-5, IL-6, IL-13; likvidují hlavně extracelulární patogeny [19].

Existují však ještě **Ts-lymfocyty** (supresorové T-lymfocyty). Jejich produktem jsou působky, které mají schopnost regulovat Th-lymfocyty. Dále je třeba se zmínit i o **Tc-lymfocytech** (cytotoxických T-lymfocytech), které jsou schopny usmrtit buňky infikované virem nebo buňky tělu cizí [18].

Hellwig [18] uvádí, že aktivované T-lymfocyty uvolňují **lymfokiny**, které mají nejrůznější funkce: regulace produkce protilátek, regulace proliferace T-lymfocytů, aktivace makrofágů, chemotaxe a zábrana zpětného vstupu do cév u PMN leukocytů, regulace proliferace fibroblastů a produkce kolagenu, aktivace osteoklastů, nespecifická cytolýza buněk hostitele, zamezení reprodukce virů.

2. B-lymfocyty

Tento druh lymfocytů je zodpovědný za **humorální typ specifické imunitní reakce** [19]. Primární nediferencované B-lymfocyty vznikají v kostní dřeni a jejich další zrání (u ptáků) pokračuje v bursa Fabricii (odtud B-lymfocyty). U člověka se tomu děje v kostní dřeni a dále například v Peyerevých plátech střeva. Zralé B-lymfocyty se shromažďují v lymfatických orgánech – lymfatických uzlinách a slezině. Kromě typických lymfatických orgánů existují i tzv. terciární lymfatické orgány, v nichž se shromažďují poslední vývojová stádia B-lymfocytů – **plazmatické buňky**. Právě chronicky zánětlivě změněná gingiva je považována za terciární lymfatickou tkáň spojenou s kumulací plazmatických buněk [19]. Diferenciace B-lymfocytů v plazmatické buňky se realizuje na základě kontaktu s Ag [18] a samotnou diferenciaci stimulují Th2-lymfocyty. Hlavní funkcí jednotlivých plazmatických buněk je **tvorba protilátek**. Kromě toho B-lymfocyty stimulují další T-lymfocyty s cílem posilnit imunitní odpověď hostitele [36].

3. NK-buňky

NK buňky představují velké lymfocyty, které se uplatňují v nespecifické imunitní odpovědi. Tvoří samostatnou skupinu a zaujímají asi 5 % ze všech lymfocytů. Aktivované NK buňky produkují cytokiny – IL-3, IFN, TNF. Usmrcují cizorodé buňky, nádorové buňky, buňky infikované virem, a to již při prvním setkání [40].

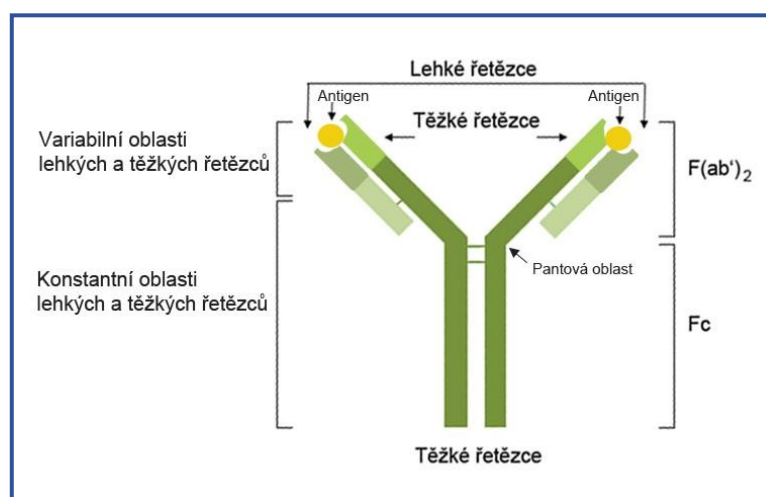
3.7.3.2 Humorální imunita

Kromě buňkami zprostředkované imunity, za kterou jsou zodpovědné rozličné druhy imunocytů, jsou v organismu přítomny také různé imunokompetentní substance zodpovědné za humorální typ imunity. Nejčastěji se hovoří o *látkách proteinového charakteru*, které se vytvářejí v různých buňkách našeho těla. Z nich se vylučují do krevního séra a následně do tkání [19].

- Z prvků **vrozené, nespecifické humorální imunity** jsou to především *bílkoviny akutní fáze a komplement*.
- Z prvků **získané, specifické humorální imunity** jsou to *specifické protilátky* [19].

1. **Specifické protilátky - imunoglobuliny (Ig)**

Specifické protilátky mají bílkovinnou povahu a jsou namířeny proti konkrétním parodontálním patogenům a jejich virulentním faktorům [19]. Jedná se o molekuly složené ze 4 proteinových řetězců - dvou těžkých „H“ a dvou lehkých „L“ (obrázek 22)[40].



Obrázek 22 - Schéma imunoglobulinu

Zdroj: <http://labguide.cz/protilatky/>

Jednotlivé řetězce mají schopnost specificky se vázat s Ag, ale i nespecificky se vázat s komplementem a buňkami [40]. Vznik Ig představuje *pozdější* specifický typ imunitní odpovědi organismu a setkáváme se s ním u pacientů s *dlouhodobou kolonizací subgingiválního prostoru PP mikroorganismy*. Pozdější, specifická humorální imunitní reakce s tvorbou specifických Ig totiž potvrzuje pokročilost a chronicitu parodontálního postižení [19].

Obecně lze Ig rozdělit do **pěti základních tříd**:

- o **IgG**

Tvoří 75 až 85 % všech Ig [19]. Snadno přechází z krve do tkání a také přes placentu. Novorozenec je tedy v prvních dnech života

chráněn protilátkami IgG získanými od matky [40]. Jeho hlavní úlohou je opsonizace bakterií, čímž usnadňuje proces fagocytózy [18], aktivuje komplement a výrazně se uplatňuje při neutralizaci bakteriálních toxinů [40].

- **IgA**

Tvoří 10 až 20 % všech Ig [19]. V menším množství je přítomen v séru (*sérový IgA*). Ve větším množství působí na sliznicích lidského těla, v sulkulární tekutině a ve slinách jako *sekreční IgA*. Ten neutralizuje toxiny a viry, vyvolává aglutinaci bakterií [40] a tím brání vniknutí infekčních částic do organismu [36]. Sekreční IgA obsažený ve slinách zabraňuje vazbě bakterií na povrchy v dutině ústní [18], čímž brzdí vznik a rozvoj nežádoucího infekčního procesu [40].

- **IgM**

Tvoří přibližně 5 % všech Ig [19]. Má největší molekulu složenou z pěti jednotek. Neprochází placentou [40]. Reakcí IgM, ale i IgG, s Ag vznikají komplexy Ag-protilátka, čímž dochází k neutralizaci daného Ag. Tyto komplexy mohou také aktivovat komplement [18].

- **IgD**

Spolu s IgE dohromady tvoří pouze 1 % všech Ig [19]. IgD se vyznačuje tvorbou receptorů na membránách B-lymfocytů za účelem reakce s příslušným Ag [40].

- **IgE**

Tato protilátka, jinak nazývaná také jako *alergická protilátka*, se za normálního stavu nachází v séru jen ve stopovém množství. Její koncentrace však stoupají při alergických reakcích typu anafylaxe a atopie (alergické reakce typu I.) [40]. IgE se ve tkáních váže na mastocyty nebo bazofilní granulocyty a při kontaktu s Ag způsobí jejich degranulaci. Tím se do tkáně uvolní velké množství vazoaktivních látek, tedy látek se schopností

ovlivňovat průsvit a průtok cév: *histaminu, heparinu a leukotrienů* [18].

2. Komplement

Komplement představuje složitý komplex asi 40 sérových a membránových proteinů, které mají jednak schopnost kooperovat mezi sebou, ale kromě toho reagují i s mnoha dalšími imunitními složkami [28]. Tím zajišťují důležitou antimikrobiální obrannou reakci v parodontu [19]. Tyto proteiny v séru zaujímají asi 5 % [36]. Hlavní složkou komplementu je **9 sérových proteinů** označovaných jako **C1 - C9**. Většina z nich je vytvářena v játrech, méně již v buňkách makrofágů nebo fibroblastů. Jednotlivé složky komplementu způsobují cytotoxické a cytolytické poškození bakteriálních buněk [28]. Komplement, který není aktivován, klidně cirkuluje v krevním séru. Jeho aktivace je podmíněna přeměnou ústřední komplementové složky **C3** na složku C3b. Tak začíná kaskádovitá reakce, kdy dochází k postupnému procesu přeměny jedné komplementové bílkoviny v jinou. Jedna z nově vzniklých bílkovin je vždy enzym, který štěpí další proteinový produkt kaskády. Aktivace komplementu je tedy podmíněna vytvořením enzymu C3 konvertázy, který zprostředkuje přeměnu bílkoviny C3 na C3b. Finálním produktem komplementové kaskády je MAC – membrány atakující komplex, který svoji vazbou na povrchové membrány bakterií realizuje jejich lýzu [19].

Komplement může být v organismu aktivován prostřednictvím 3 cest:

- *Klasická cesta aktivace komplementu*
 - pomocí imunokomplexů, C reaktivního proteinu, Ig
- *Alternativní cesta aktivace komplementu*
 - pomocí mikroorganismů a jejich virulentních faktorů (LPS toxin)
- *Lektinová cesta aktivace komplementu*
 - pomocí některých lektinů a sacharidů [54]

Meziprodukty, nebo konečné produkty těchto kaskádovitých reakcí mohou mít podle Hellwiga [18] na svědomí různé nejen imunitní děje. Shrnuje je tabulka 6.

Tabulka 6 - Přehled funkcí jednotlivých složek komplementu

C3a, C5a, C5b, C6, C7	Vyvolání chemotaxe PMN leukocytů
C3b, C5b	Opsonizace – usnadnění fagocytózy bakterií
C3a, C5a	Uvolnění histaminu z mastocytů – ↑ cévní permeability
C3b	Aktivace B-lymfocytů
C5b, C6, C7, C8, C9	Lýza erytrocytů a G- bakterií = lytický komplex

Převzato z: [18]

3. Bílkoviny akutní fáze

Bílkoviny akutní fáze jsou v zásadě sekreční proteiny jaterních buněk. Samotná reakce akutní fáze představuje adaptační odpověď na narušení integrity organismu. Obecně je odpověď jaterních buněk na systémové poškození vždy charakterizována změnami v proteosyntéze. Nastává totiž koordinovaný vzestup tvorby několika pro obranu hostitele nezbytných plazmatických proteinů za současného poklesu syntézy proteinů strukturálních [55].

Mezi hlavní zástupce proteinů akutní fáze řadíme látky nazývané jako **pentraxiny**, pentagonálně uspořádané sekreční proteiny. Syntéza pentraxinů je regulována *prozánětlivými cytokiny* (IL-6, IL-1, TNF- α , IL-8). Nejdéle známým představitelem pentraxinů je **C-reaktivní protein** (dále jen CRP). Patří mezi hlavní reaktanty akutní fáze a působí jako opsonin v rámci fagocytózy bakterií a imunokomplexů (komplexů „antigen-protilátka“). Pentraxiny vykazují různé imunologické aktivity – aktivují klasickou komplementovou kaskádu, mají antioxidantní vlastnosti, inhibují shlukování trombocytů, ovlivňují proliferační aktivity [55]. CRP je považován za *klíčový mediátor vrozené imunitní reakce*. Jeho koncentrace v krvi se dnes považuje za důležitý marker různých bakteriálních zánětlivých onemocnění [19]. Koncentrace CRP při bakteriální infekci

významně stoupá již během 6 až 12 hodin od začátku zánětlivého procesu. Po eliminaci příslušného patologického procesu jeho koncentrace naopak rychle klesá. Za normu se obvykle považuje koncentrace do 10mg/l [56].

3.7.3.3 *Mediátory zánětlivé reakce*

Zánětlivý proces v parodontu je vyvolán a dále udržován tzv. mediátory zánětu [19]. Můžeme se také setkat s označením *poslové zánětu* [36]. Tyto mediátory vznikají v různých imunokompetentních buňkách a jsou zodpovědné za progresi a rozvoj chronicity vzniklého zánětu [19]. Jsou představovány především různými **cytokiny** a poskytují komunikaci a spolupráci mezi jednotlivými buňkami, které se účastní obranné reakce hostitelského organismu [36].

➤ *Cytokiny*

Představují proteiny, především *glykoproteiny o nízké molekulární hmotnosti*, uvolňované zejména leukocyty a endoteliálními buňkami do okolního prostředí. Na rozdíl od hormonů působí cytokiny *lokálně* přímo v místě zánětu. Jen v iniciálních fázích zánětu při nadprodukci cytokinů mohou působit i systémově, endokrinní cestou, a iniciovat tak systémovou zánětlivou odpověď. Efekty cytokinů se překrývají, ovlivňují a vzájemně doplňují. Přestože řada cytokinů plní v organismu prakticky totožné funkce, na cílové buňky působí prostřednictvím specifických receptorů [55].

Cytokiny nemají žádné jednotné pojmenování. Velké množství cytokinů je označováno jako *interleukiny* (IL-1 až IL-17). Jiné cytokiny jsou pojmenované podle své funkce, jako například *tumor nekrotizující faktor - alfa* (TNF- α). Rozdělení cytokinů většinou vyplývá z jejich základní role, kterou sehrávají v průběhu imunitní obranné reakce [36].

Podle funkce můžeme cytokiny rozdělit do několika skupin:

a) *Cytokiny prozánětlivé* – solubilní bílkoviny, které indukují obranné zánětlivé reakce v organismu a parodontu, mezi nejdůležitější patří:

➤ IL-1, IL-6, a TNF- α .

b) *Cytokiny protizánětlivé* – mezi nejdůležitější patří:

➤ IL-4, IL-10.

c) *Růstové faktory* – řídí hojení a regeneraci

➤ PDGF.

d) *Chemotaktické faktory (chemokiny)* – mezi nejdůležitější patří:

➤ IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-8 a IFN-gama [19].

1. INTERLEUKINY (IL)

Zahrnují zánětlivé solubilní mediátory s prozánětlivým i protizánětlivým účinkem (tabulka 7). Mezi IL řadíme hlavní prozánětlivé cytokiny IL-1 a IL-6 spolu s *tumor nekrotizujícím faktorem* (TNF), kterému byl ponechán ne zcela vystihující původní název [55].

Tabulka 7 - Přehled nejdůležitějších interleukinů

Název	Buňky, kterými je il syntetizován	Funkce
IL - 1	Monocyty, makrofágy, B-lymfocyty	Aktivace T lymfocytů, makrofágů; vazbou na T-lymfocyt indukuje tvorbu receptorů pro IL-2; aktivace osteoklastů; podpora zrání a mitotické aktivity B-lymfocytů
IL - 2	T-lymfocyty	Růst T-lymfocytů; podpora zrání a mitotické aktivity B-lymfocytů
IL - 4	T-lymfocyty, mastocyty	Růst B-lymfocytů; útlum Th1 lymfocytů
IL - 5	T-lymfocyty, mastocyty	Růst a diferenciaci B-lymfocytů; produkce IgA
IL - 6	Monocyty, makrofágy, buňky endotelu	Růst a diferenciaci T i B-lymfocytů; zvýšení tvorby protilátek
IL - 8	Makrofágy, T i B-lymfocyty, endoteliální i epiteliální buňky	Chemotaxe neutrofilů do místa zánětu; podpora fagocytózy
IL - 10	Monocyty, makrofágy	Aktivace B-lymfocytů; inhibice sekrece IL-1, IL-2, IL-12
TNF- α	Monocyty, makrofágy, T-lymfocyty, NK buňky	Aktivace endotelu

Volně upraveno dle: [52] a [36]

2. INTERFERONY (IFN)

Jedná se o látky, které ovlivňují metabolismus, dělení i funkční aktivitu buněk. Vyznačují se protivirovým a protinádorovým účinkem [40]. Dokáží se navázat na specifické receptory virem infikovaných i dosud zdravých buněk a indukují v nich syntézu enzymů, které potlačují replikaci virů [68].

Podle Ryškové [40] se rozlišuje:

- a) **IFN- α** (leukocytový), který je syntetizován makrofágy, B-lymfocyty a NK buňkami po kontaktu s cizorodými, nádorovými nebo virem infikovanými buňkami,
- b) **IFN- β** (fibroblastový), který je produkován fibroblasty, epiteliálními buňkami, makrofágy po indukci virem nebo nukleovou kyselinou,
- c) **IFN- γ** (imunitní), jehož tvorbu mají na starosti T-lymfocyty.

3. CHEMOKINY

Chemokiny, jinak také *chemotaktické faktory*, lze považovat za sekundární prozánětlivé cytokiny. Představují finální vykonavatele rozkazů, přičemž jejich produkce je stimulována „klasickými“ prozánětlivými cytokiny [19]. Tyto látky jsou, jak již název napovídá, zahrnuty do procesu chemotaxe, znamená to, že chemicky indukují a řídí pohyb imunocytů [36]. Jedná se o peptidy s chemotaktickým efektem na granulocyty, makrofágy a další skupiny leukocytů. Rovněž zvyšují adhezi leukocytů k endoteliálním buňkám a stimulují cytolytické funkce leukocytů [55].

4. RŮSTOVÉ FAKTORY

Na tomto místě je hodno zmínit *Růstový faktor pocházející z trombocytů* (PDGF - *Platelet Derived Growth Factor*) - jeden z nejlépe prozkoumaných růstových faktorů v parodontologii. Uvolňuje se z trombocytů během regenerace kosti, aktivně se účastní regenerace parodontálních vazů a kosti alveolárního výběžku a je všeobecně uznáván jako anabolický činitel kostního metabolismu. Kromě PDGF

existuje celá řada dalších růstových faktorů (cévní endoteliální růstový faktor, epidermální růstový faktor) [19]. Do růstových faktorů zahrnujeme mimo jiné *Kolonie stimulující faktory (CSF - Colony Stimulating Factor)*. Jedná se o růstové faktory hemopoetických kmenových buněk [55].

5. PROSTAGLANDINY

Prostaglandiny jsou *deriváty kyseliny arachidonové* a představují látky z velké míry podobné hormonům [18]; [36]. Jejich produkci podporuje např. histamin, serotonin, naopak kyselina acetylsalicylová ji omezuje. K funkcím prostaglandinů patří: vazodilatace, zvýšení cévní permeability, regulace agregace trombocytů, stimulace osteoklastů, vyvolání horečky a bolesti [36].

3.8 Molekulárně-biologické DNA testy

Mikrobiologické DNA testy jsou používány k důkazu přítomnosti PP bakterií v subgingiválním plaku [26]. Obecně lze říci, že použití mikrobiologických důkazních postupů k určení PP bakterií ve stomatologické praxi má řadu předností:

1. *zabrání se podcenění nebo přecenění potřebné terapie parodontu,*
2. *výrazně se zvýší úspěšnost zvolené terapie,*
3. *nasazená ATB léčba může být lépe cílená a z epidemiologického hlediska oprávněná [57].*

Podpůrná, jiným slovem adjuvantní, ATB terapie, která případně doprovází parodontologické ošetření, bývá podle Nölkena [57] pouze tehdy smysluplná, jestliže počáteční hygienická fáze nepřinesla kýžený efekt. V případě, že se klinický stav pacienta po pečlivě provedeném *scalingu a root planingu* (dále jen SRP) a po optimalizovaném stavu ústní hygieny podle předpokladů nezlepší, pak je třeba uvažovat o tom, že v přilehlých měkkých tkáních, nebo v těžko přístupných oblastech parodontální kapsy PP bakterie přetrvávají a jsou příčinou stále progredující infekce se všemi jejími příznaky. Teprve poté by se jistými kroky mělo přistoupit k likvidaci PP bakterií právě

cestou adjuvantní ATB terapie. Jedině tak je totiž možno přítomnou infekci potlačit a tím i pomoci pacientovi ke zlepšení jeho klinického stavu [57].

3.8.1 Indikace

Stále se setkáváme s převahou parodontitid, které lze úspěšně léčit pouhou mechanickou kontrolou plaku - tedy efektivní individuální hygienou dutiny ústní a prvky profesionální dentální hygieny. Existují ale případy, kdy v subgingiválním prostoru i přes pečlivé mechanicko-hygienické postupy patogenní mikroorganismy přetrvávají. Takové stavy už adjuvantní systémovou ATB léčbu vyžadují [58]. Znalost složení subgingivální mikroflóry, třeba právě cestou molekulárně-biologických DNA testů, je v tomto směru velkým přínosem. Podává nám dodatečné informace mající význam pro prognózu a strategii terapie onemocnění [26]. Na základě společného stanoviska *Německé parodontologické společnosti* a *Německé stomatologické společnosti* jsou mikrobiologické postupy v rámci léčby parodontitidy indikovány u následujících diagnóz:

1. *Agresivní parodontitida*
2. *Těžká (generalizovaná) chronická parodontitida*
3. *Parodontitidy, kde i přes adekvátní terapii dochází k progresivním ztrátám attachmentu*
4. *Těžké parodontitidy asociované se systémovým onemocněním (HIV infekce)*

Eickolz [26] ve své publikaci zdůrazňuje, že ***mikrobiologickému vyšetření vždy předchází klinická pracovní diagnóza. Samotné mikrobiologické vyšetření nevede k diagnóze, ale naopak je spíše zdrojem informací pro plán terapie.*** Z výsledků mikrobiologického vyšetření tedy vždy vyvozujeme závěry důležité pro strategii léčby [26]. Nabors [59] navíc uvádí, že ATB léčba infekčního onemocnění, jakým je parodontitida, je bez adekvátního mikrobiologického vyšetření z epidemiologického hlediska dokonce kontraindikována. Hrozí totiž riziko vzniku rezistentních

bakteriálních kmenů a některé důležité skupiny ATB mohou být posléze pro léčbu infekce již prakticky nevyužitelné.

3.8.2 Technika

Základem molekulárně-biologických technik je analýza bakteriální chromozomální *deoxyribonukleové kyseliny* (dále jen DNA) za pomoci *polymerázové řetězové reakce* (dále jen PCR). Technika molekulárně-biologického DNA testování narozdíl od metod kultivačních nevyžaduje přítomnost živých bakterií. Doba převozu do laboratoře proto není nijak omezena a vzorky lze transportovat poštovními zásilkami. Izolace bakteriální DNA ze zaslaných vzorků subgingiválního plaku se v laboratoři děje enzymatickým rozkladem bakteriálních buněk [26]. Pro zjednodušení lze říci, že v laboratoři je DNA replikována na papírových čepech a pak analyzována pomocí PCR. Tím získáme informaci o typu a množství bakterií ve vyšetřovaném vzorku [60].

Polymerázová řetězová reakce (PCR – Polymerase chain reaction)

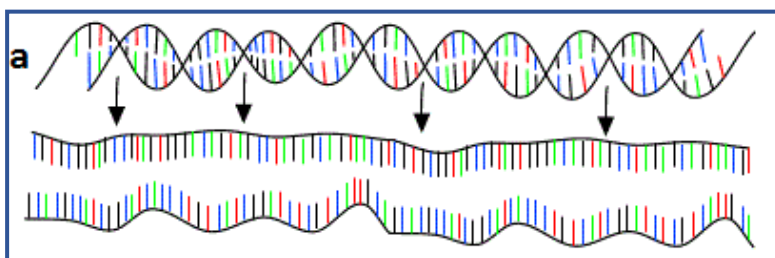
Objevitelem postupu PCR, genového kopírování, je Kary Mullis [22]. Jedná se o techniku používanou v současné molekulární biologii. Název získala podle svých klíčových kroků [60]. PCR představuje in-vitro amplifikační techniku, s jejíž pomocí lze po izolaci bakteriální DNA namnožit přesně definovanou část dvoušroubovice DNA v počtu milionu kopií [26]. Exponenciální pomnožování určitého úseku DNA je nutné k průkazu přítomnosti specifické sekvence genomu parodontálního infekčního agens [39]. Pomocí PCR lze získat od jedné kopie vyšetřované DNA po několikamilionové vzorky replikované dle původní šablony. Část DNA je totiž za pomoci *DNA-polymerázy* zmnožena a takto vzniklá DNA je nakonec sama použita jako šablona pro další replikaci – tím se spouští řetězová reakce, v níž se vzorek DNA exponenciálně množí [60].

Při PCR se používají dva tzv. **primery**, pro každý DNA řetězec jeden [39]. Primery, přesněji specifické oligonukleotidové primery, jsou sekvence tvořené asi 15-ti až 25-ti oligonukleotidy, jež slouží jako „startovní čára“ pro

termostabilní enzym *DNA-polymerázu*. Dva komplementární primery se napojují na odpovídající sekvence na obou koncích protilehlých vláken DNA [26]. Amplifikace - zmnožení sekvencí, probíhá opakovaním reakčního cyklu sestávajícího ze **3 kroků** [26]:

A. **DENATURACE** (obrázek 23)

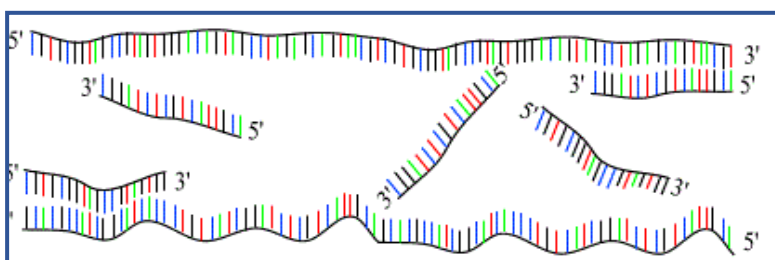
Dvoušroubovice DNA se zahřátím na 94°C rozštěpí na 2 jednoduchá vlákna, tím dochází k rozvolnění dvoušroubovice, tzv. denaturaci.



Obrázek 23 - DENATURACE (1 minuta, 94°C)
Zdroj: <https://users.ugent.be/~avierstr/index.html>

B. **HYBRIDIZACE** (obrázek 24)

Synteticky připravený primer, který je komplementární s počátkem a koncem hledané sekvence DNA, se naváže na odpovídající místo [22]. Aby mohlo dojít k vazbě primerů na jednotlivá vlákna tzv. templátové DNA, musí být teplota reakční směsi snížena na 37 až 55°C [26]. Jelikož jsou navzájem komplementární nukleotidy rozdílného původu, označuje se tato reakce jako hybridizace [22].

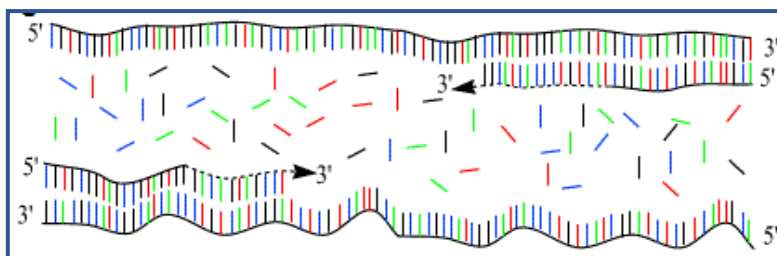


Obrázek 24 - HYBRIDIZACE (45 sekund, 54°C)
Zdroj: <https://users.ugent.be/~avierstr/index.html>

C. **ELONGACE** (obrázek 25)

Do reakční směsi přidáme termostabilní DNA-polymerázu a trifosfát, který je nutný pro výstavbu dvoušroubovice [22]. Termostabilní DNA-

polymeráza připojuje nukleotidy na 3' OH-konec každého primeru, čímž se syntetizuje sekvence DNA, jež je komplementární k výchozímu vlákně DNA [26]. Proces probíhá za teploty cca 72°C [22]. Novým úsekům DNA se říká *amplikony*.



Obrázek 25 - ELONGACE (2 minuty, 72°C)

Zdroj: <https://users.ugent.be/~avierstr/index.html>.

Celý cyklus – rozpletení, nasednutí primerů, syntéza nové DNA (prodlužování primerů) se obvykle opakuje 30 až 40 krát. Pro shrnutí, k rozplétání DNA se užívá teplota zvýšená (nad 90°C), k nasedání primerů teplota okolo 50°C, k syntéze nové DNA teplota okolo 70°C [39]. Po provedení PCR následuje fluorescenční **označení** DNA sekvence patogena a tzv. „skenování“ – **elektronická detekce** patogena a jeho kvantifikace.

3.8.3 Provedení

Odběr vzorků subgingiválního plaku se provádí zpravidla pomocí sterilních papírových čepů. Je možné použít i sterilní kyretu, avšak komerční systémy testů jsou dnes téměř výlučně založeny na odběru vzorků právě papírovými čepy [22]. Po osušení odběrové oblasti uchopíme papírový čep sterilní pinzetou a ihned ho zavedeme na dno parodontální kapsy, resp. co možná nejapikálněji. Důležité je rychlé provedení daného pohybu. Jakmile se čepy nasají tekutinou, změknou a ohýbají se. Při nedokonalém provedení odběru hrozí nebezpečí předčasného ohnutí čepu tak, že jím nelze proniknout dostatečně hluboko apikálně. Po 10-ti až 20-ti vteřinách čepy vyjmeme a vložíme do transportní zkumavky [26]. Pro odběr se v dutině ústní obvykle volí 5 míst, 5 parodontálních kapes, s největší aktivitou parodontitidy (hloubka sondáže, krvácení po sondáži, hnisavá exsudace) [5].

3.8.4 Český trh

Na tomto místě bych ráda uvedla 3 nejvýznamnější firmy na českém trhu, které provádí DNA verifikaci parodontálních patogenů. Jedná se o firmu Eurotex s.r.o. s testy micro-IDent® a micro-IDent® plus, firmu Gen-Trend s testy VariOr® Dento a VariOr® Dento Plus a firmu Protean s testem Stoma-Gene®. Přehled bakteriálních detekčních spekter uvedených testů je shrnut do tabulky 8.

Tabulka 8 - Bakteriální detekční spektrum jednotlivých DNA testů

	micro-IDent®	micro-IDent® plus	VariOr® Dento	VariOr® Dento Plus	Stoma-Gene®
<i>Aa</i>	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Pg</i>	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Tf</i>	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Td</i>	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Pi</i>	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Pm</i>		✓	✓	✓	✓
<i>Fn</i>		✓	✓	✓	✓
<i>Cr</i>		✓		✓	
<i>Ec</i>		✓		✓	
<i>En</i>		✓		✓	
<i>C spp.</i>		✓		✓	
<i>Sm</i>					✓
<i>Lb spp.</i>					✓
<i>Am spp.</i>					✓

Legenda k tabulce 8: *Porphyromonas gingivalis* **Pg**, *Fusobacterium nucleatum* **Fn**, *Tannerella forsythensis* **Tf**, *Campylobacter rectus* **Cr**, *Treponema denticola* **Td**, *Eubacterium nodatum* **En**, *Prevotella intermedia* **Pi**, *Eikenella corrodens* **Ec**, *Peptostreptococcus micros* **Pm**, *Capnocytophaga species* **C spp.**, *Streptococcus mutans* **Sm**, *Lactobacillus species*, **Lb spp.**, *Actinomyces species* **Am spp.**

3.8.4.1 micro-IDent® a micro-IDent® plus

Analýza vzorků obsahu parodontálních kapes pomocí těchto testů poskytuje informaci o přítomnosti **5** nebo **11** parodontálních patogenů. Součástí výsledku je i přiřazení patogenů k určitému komplexu bakterií [61].

1. micro-IDent®

Analyzuje **5** nejvýznamnějších parodontopatogenů – *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola* a *Prevotella intermedia*.

2. *micro-IDent® plus*

Analyzuje **11** patogenů. Kromě výše uvedených se jedná o následující kmeny: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* a *Capnocytophaga species*.

Odběr vzorku obsahu parodontálních kapes lze pro oba testy provést jednoduše, bezbolestně a rychle přímo v ordinaci zubního lékaře, či dentální hygienistky. Jelikož analýza probíhá pouze na základě genetického materiálu - DNA, není třeba transportního média, pro transport odběrových čepů tedy postačí suchá sterilní zkumavka [61]. V závislosti na klinickém stavu je možné si vybrat mezi 2 hlavními formami analýzy. První, nejčastěji využívanou formou je **screening**, kde použijeme všech 5 papírových odběrových čepů. Čepy zasuneme na 10 sekund do vybraných parodontálních kapes a po vysunutí je smícháme do jedné zkumavky za účelem stanovení přítomnosti parodontálních patogenů bez ohledu na jejich lokalizaci. Druhou formou je **analýza jednoho konkrétního místa**, kdy pro získání informací o bakteriální flóře jedné parodontální kapsy do transportní zkumavky vložíme pouze 1 odběrový čep [61].

Výsledky testů jsou běžně zpracovány do *10 dnů* od doručení vzorku do laboratoře. Poskytují přehled ve vzorku detekovaných bakteriálních druhů, jejich množství a přiřazení k určitému bakteriálnímu komplexu. V rámci výsledků dále bývá uvedena i doporučená ATB léčba. Kontrolní analýza testy *micro-IDent®* i *micro-IDent® plus* je doporučována po 6 týdnech ATB léčby. Během sledování léčby je také doporučováno opakovat test každého 0,5 roku za účelem předejití rizika recidiv. Pokud jsou výsledky stále pozitivní, příčinou mohou být následující faktory: *nedostatečná spolupráce pacienta v užívání ATB, neúčinné odstraňování biofilmu* během ATB terapie [61].

3.8.4.2 *VariOr® Dento a VariOr® Dento Plus*

Oba tyto typy testů jsou taktéž založeny na metodě PCR. Testy opět nepracují s živými mikroorganismy, ale pouze s jejich genetickým materiálem –

DNA, proto případná nekróza sledovaných anaerobů během odběru a transportu vzorku není pro vyšetření hrozbou. Výsledky jsou k dispozici dokonce *do 24 hodin* od doručení vzorku do laboratoře [62]. Samotné provedení testů je obdobné jako u testů zmiňovaných výše. Realizace je tedy v běžné praxi opět velice snadná.

1. **VariOr®-Dento**

Detekční souprava VariOr® Dento umožňuje detekci **7** PP bakterií. Jedná se o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros* a *Fusobacterium nucleatum*.

2. **VariOr® Dento Plus**, novější verze testu, umožňuje detekci rozšířeného spektra **11** bakterií. Kromě výše jmenovaných jde o následující kmeny: *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum* a *Capnocytophaga species*.

Obě detekční sady obsahují i doplňkový test umožňující průkaz genů bakterií produkujících nejčastější typ *beta-laktamázy*, enzymu schopného inaktivovat některé druhy ATB. Nastiňuje tak další cenný údaj pro volbu ATB terapie [62].

3.8.4.3 **Stoma-Gene®**

Test Stoma-Gene® se od testů zmíněných výše poněkud liší. Umožňuje totiž detekci nejen důležitých parodontálních, ale i kariogenních patogenů včetně jejich citlivosti k ATB. Jedná se o *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus species*, *Actinomyces species*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus micros* a *Prevotella intermedia*. Odběr i vyšetření vzorků se provádí stejně jako u testů popsaných výše. Výsledky testů, spolu s doporučenou ATB terapií, jsou známy *do 10 dnů* od doručení vzorku do laboratoře [63].

3.9 Systémová antibiotická terapie v parodontologii

Základem ošetření parodontu samozřejmě zůstává mechanické odstranění plaku a zubního kamene. Medikamenty, kterými jsou ATB nebo chemoterapeutika, mohou tento způsob léčby podpořit, nikoliv však nahradit. Ve většině případů postačí samotné mechanické ošetření, naproti tomu ale samotná medikamentózní léčba účinná není [22]. Systémové podávání antimikrobiálně působících látek lze tedy realizovat jedině jako podporu správně prováděné mechanické terapie. S pomocí adjuvantních ATB látek totiž zničíme zbylé subgingivální PP bakterie, které se nepodařilo odstranit mechanicky, a zvýhodníme tak pacientovu imunitní obranu [64]. Pojem **antibiotikum (ATB)** se striktně vzato používá pouze pro přírodní antimikrobiálně působící metabolické produkty mikroorganismů a jejich syntetické deriváty. Plně syntetické antimikrobiálně působící léčivo je označováno naopak jako **chemoterapeutikum** [26]. V průběhu vývoje se však rozdíl mezi oběma skupinami antimikrobiálních látek postupně stírá, většina ATB je v dnešní době chemicky modifikována nebo připravována uměle. Proto pod pojem ATB bývají někdy zahrnovány všechny látky používané k terapii infekčních onemocnění [56]. Pro jednoduchost se v této práci budeme setkávat pouze s názvem *antibiotikum - ATB*.

3.9.1 Indikace

Adjuvantní ATB terapie má podle Eickolze [26] význam u pacientů s nálezem *agresivní parodontitidy; generalizované těžké chronické parodontitidy; parodontitidy, kde je i přes adekvátní mechanickou terapii patrná progresse ztráty parodontálních tkání; těžké parodontitidy u systémových onemocnění či stavů narušujících funkci imunitního systému*. Systémová ATB léčba se dle Meyera [60] řídí jak v rovině obecné, tak v rovině parodontologické *dvěma základními pravidly*:

1. **Akutní infekci**, jejíž léčba nesnese odklad, je možno léčit širokospektrými druhy ATB (ANUG/ANUP; akutní nekrotizující ulcerózní gingivitida či parodontitida). Tato ATB léčba je nazývána jako

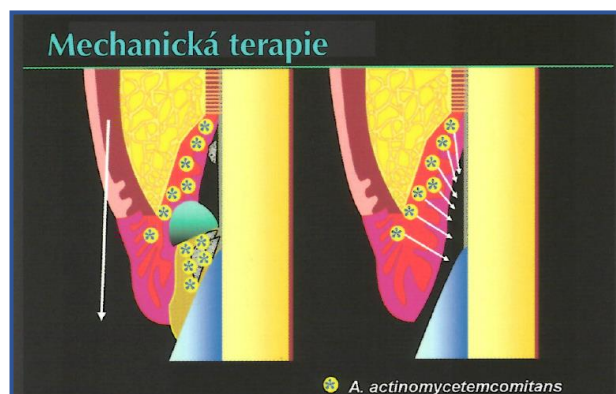
expektativní [26]. ATB v zásadě nejsou indikována při léčbě gingivitid, v tomto případě totiž nad terapeutickou hodnotou ATB převažují vedlejší účinky a tvorba rezistence. Těžká forma ANUG však představuje výjimku.

2. **Chronické infekce** po předešlém mikrobiologickém vyšetření vyžadují volbu vhodného, tedy proti prokázanému parodontopatogenu účinného druhu ATB. Právě chronický průběh je pro parodontitidu charakteristický.

Pro používání ATB v léčbě onemocnění parodontu je pro každého stomatologa nutná znalost subgingiválně se vyskytujících parodontopatogenů a jejich antimikrobiální citlivosti vůči ATB. Předepsání nevhodných ATB může způsobit přemnožení některých bakterií se současným nežádoucím léčebným výsledkem. Preskripci konkrétního ATB musí předcházet i vyšetření celkového zdravotního stavu pacienta a zjištění aktuální celkové medikace [60].

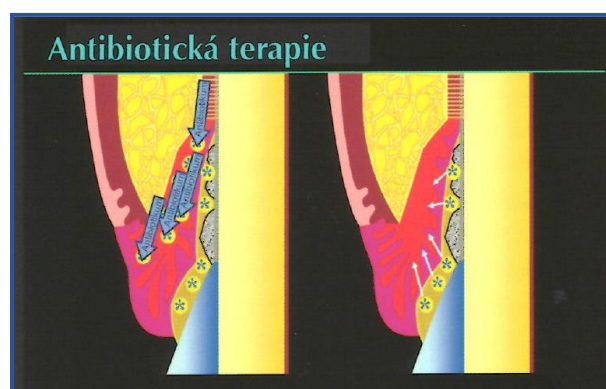
3.9.2 Koncept adjuvantní ATB terapie parodontopatií

I těžké formy parodontitid lze v mnoha případech, dokonce i při výskytu subgingiválních parodontopatogenů, jež jsou s etiologií parodontitidy úzce spjaty (např. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Eikenella corodens* a další), úspěšně léčit pouhou mechanickou cestou – subgingivální SRP. Výjimku zde však tvoří bakterie *Aa*, která má charakter exogenního patogena a ve většině případů jej není možno mechanickými postupy zcela vymýt. *Aa* je totiž schopný proniknout z parodontální kapsy do okolních tkání, nebo dokonce osidlovat oblasti s parodontem nesouvisející (jazyk, tonzily). Pokud bychom tedy přistoupili pouze na mechanickou terapii, mohli bychom se posléze přesvědčit o tom, že i po odstranění subgingiválních nánosů z povrchu kořene zubu *Aa* setrvává v měkkých tkáních a odtud následně parodontální kapsu reinfikuje (obrázek 26) [26].



Obrázek 26 - Výhradně mechanická terapie parodontální léze, jež je infikována Aa
Převzato z: [26]

Na druhé straně pouhá ATB terapie bez důkladně provedeného SRP sice usmrtí *Aa* osidlující měkké tkáně, ale nemá schopnost penetrovat do biofilmu adherujícího k povrchu zubu. V důsledku toho *Aa* na zubním kořeni persistuje a parodontální kapsu opětovně reinfikuje (obrázek 27) [26]. I Slezák [70] ve svém díle uvádí, že chemická (antibiotická) inhibice mikrobiálního plaku představuje vždy jen **adjuvantní terapii**, která je samostatně nedostatečně účinná.



Obrázek 27 - Výhradně systémová ATB terapie parodontální léze, jež je infikována Aa
Převzato z: [26]

Pokud odstraníme subgingivální povlaky obsahující *Aa* a navíc bakterie nacházející se v měkkých tkáních usmrtíme pomocí ATB, dosáhneme kýženého výsledku. Mechanická instrumentace biofilm dezintegruje a ATB terapie může zasáhnout mikroorganismy v něm obsažené. Teprve poté má léze šanci začít se postupně hojit (obrázek 28) [26].



Obrázek 28 - Kombinovaná mechanicko-ATB terapie parodontální léze, jež je infikována Aa
Převzato z: [26]

3.9.3 Příklady adjuvantních ATB

AMOXICILIN

Amoxicilin patří do skupiny penicilinů a je významně účinný proti G- i G+ bakteriím. Výborně se absorbuje po podání *per os* a bez problému proniká do sulkulární tekutiny. Jeho strukturální součástí je beta-laktamový kruh, který může být hydrolyticky štěpen enzymem *beta-laktamázu*, produkovaným některými druhy bakterií. Koncentrace tohoto enzymu v parodontální kapse narůstá s její hloubkou. Samotný proto není v léčbě parodontitidy příliš účinný. Před více než 10 lety začal být kombinován s *kyselinou klavulanovou*, která sama o sobě nemá žádné antimikrobiální účinky, ale obsahuje beta-laktamový kruh, kterému bakterie dávají přednost před samotným amoxicilem. Nejčastěji užívaným takto upraveným amoxicilem je **AUGMENTIN** [52].

TETRACYKLINY

Skupinu tetracyklinových ATB tvoří **tetracyklin hydrochlorid** (tetracyklin-HCl), **doxycyklin**, **minocyklin**. Jedná se o širokospektrá bakteriostatická ATB s působením proti G+ i G- bakteriím, která potlačují proteosyntézu bakterií [52]. Svým účinkem například potlačují tvorbu bakteriální kolagenázy a tím brzdí kostní resorpci. Tetracykliny jsou jedny z prvních ATB, které byly použity v léčbě parodontitidy [22]. Ščigel [38] ve své knize píše: „Dosud se předpokládalo, že tetracykliny dosahují v gingivální tekutině až 7krát vyšší koncentrace, než v plazmě“. Zmiňuje se však i o tom, že

nejnovější práce tuto skutečnost nepotvrzují. Pouze u 50 % jedinců totiž tetracykliny v gingivální tekutině dosahují vyšších koncentrací, než v plazmě [38]. Ve většině případů jsou tetracykliny indikovány u parodontálních lézí způsobených pouze *Aa*, u smíšených infekcí bohužel nemohou zajistit dostatečné potlačení PP bakterií a zastavit tak progresi onemocnění. Tvrdí se, že tetracykliny významně inhibují gingivální kolagenázu. *Doxycyklin* má největší vazebnou kapacitu k proteinům a nejdelší poločas, *Minocyklin* se ze všech tetracyklinových ATB nejlépe absorbuje a proniká tkáněmi. Všechny druhy tetracyklinů však poškozují vyvíjející se zubní a kostní tkáň, z toho důvodu je jejich podávání u dětí do 12 let věku a u těhotných žen kontraindikováno [60].

KLINDAMYCIN

Klindamycin je bakteriostatické ATB taktéž narušující proteosyntézu bakteriální buňky. Je účinný vůči většině G+ bakterií a výrazně ničí i G- anaerobní parodontální patogeny. Přesto *Eikenella corrodens* a *Aa* jsou bakterie na tento druh ATB rezistentní [52]. Je prokazatelně účinný u refrakterních parodontitid, což by měla být jeho nejzásadnější indikace [22]. I podle Ščigela [38] se většinou ponechává jako rezervní ATB pro léčbu refrakterních parodontitid nereagujících na primární terapii tetracyklinem či metronidazolem. Jeho preskripce by však měla být prováděna s náležitou opatrností. Užívání klindamycinu je totiž spojeno s rizikem výskytu pseudomembranózní kolitidy z důvodu přemnožení *Clostridium difficile* na sliznici střeva [60].

METRONIDAZOL

Jedná se o chemoterapeutikum, které spadá pod nitroderiváty imidazolu – *nitroimidazoly*. Je charakteristický výraznou aktivitou proti anaerobním bakteriím, u kterých narušuje jejich genetickou informaci. Účinek proti aerobním bakteriím je u něho nulový [37]. Na metronidazol byla zjištěna rezistence u významné části populace *Aa* [52]. Účinně však zastavuje progresi refrakterních parodontitid potlačením *Porphyromonas gingivalis* nebo *Prevotella intermedia*. Snadno dosahuje antibakteriální koncentrace

v gingivální tkáni a sulkulární tekutině. Většina vedlejších účinků metronidazolu je bezvýznamná. Neměli bychom však zapomenout na jeho interakci s Warfarinem [60].

AZITHROMYCIN

Tento druh ATB spadá do skupiny *makrolidů* - makrocyclických laktonů. Váže se na ribosomální RNA bakterií a tím inhibuje proces proteosyntézy. Výsledný efekt je tedy pouze bakteriostatický [37]. Vykazuje velmi dobrou aktivitu proti celé řadě G- parodontopatogenů včetně *Porphyromonas gingivalis* a navíc i proti všem známým sérotypům *Aa*. Dalo by se říci, že je účinný proti většině parodontálních patogenů [52] [38]. Je relativně netoxický, s minimálním množstvím nežádoucích účinků. Dobře proniká do zdravých i patologicky změněných parodontálních tkání. Pro jeho přestup do mateřského mléka je kontraindikován u kojících žen [52].

CIPROFLOXACIN

Ciprofloxacin řadíme do skupiny *fluorochinolonů* - novější skupinu chinolonů obohacenou o atom fluoru. Jeho účinek je dokonce bakteriocidní. Terčem všech chinolonů je enzym DNA-gyráza, která odpovídá za štěpení a opětovné spájení řetězce DNA [37]. Veškeré fluorochinolony, tedy i ciprofloxacin, snadno pronikají do zánětem postižených parodontálních tkání a sulkulární tekutiny, kde dosahují vyšších koncentrací než v séru. Působí na *Aa* a další mikroorganismy [60].

Kombinací 2 ATB látek můžeme rozšířit antimikrobiální spektrum. Sníží se tím možnost vzniku rezistence, ošetří se smíšená infekce a posílí se terapeutický efekt [22]. Účinnou kombinací může být:

➤ **METRONIDAZOL + AMOXICILIN** (tzv. *Winkelhoffův koktejl*)

Tato kombinace se v posledních letech úspěšně ujala při eliminaci *Aa* [65]. Kromě toho, že zajistí relativně předvídatelnou eradikaci *Aa*, jsou důkazy i o tom, že je účinná při supresi *Porphyromonas gingivalis* u agresivních forem parodontitid dospělých i u recidivujících forem [60].

➤ **METRONIDAZOL + CIPROFLOXACIN**

Metronidazol s ciprofloxacinem může nahradit kombinaci metronidazolu s amoxicilinem u pacientů s alergií na beta-laktamová ATB a u pacientů mladších 18 let. Viridující streptokoky, jejichž přítomnost v parodontálních lézích může mít potenciální inhibiční efekt na růst patogenů v subgingiválním prostoru, jsou navíc vůči této ATB kombinaci rezistentní [60].

Tabulka 9 shrnuje příklady běžně používaných ATB i s jejich doporučeným denním dávkováním.

Tabulka 9 – Příklady ATB terapie v systémové léčbě parodontitid

ANTIBIOTIKUM	DÁVKA PRO DOSPĚLÉ
METRONIDAZOL	500 mg / 3x denně / 8 dní
KLINDAMYCIN	300 mg / 3x denně / 8 dní
DOXYCYKLIN nebo MINOCYKLIN	100 až 200 mg / 1x denně / 21 dní
CIPROFLOXACIN	500 mg / 2x denně / 8 dní
AZITHROMYCIN	500 mg / 1x denně / 7 dní
METRONIDAZOL + AMOXICILIN	250 mg / 3x denně / 8 dní (oba léky)
METRONIDAZOL + CIPROFLOXACIN	500 mg / 2x denně / 8 dní (oba léky)

Převzato z: [60]

4 PRAKTICKÁ ČÁST

Praktická část mé bakalářské práce se skládá ze dvou oddílů:

1. První část představuje **retrospektivní analýzu** souboru pacientů, kteří byli na základě své diagnózy podrobeni molekulárně-biologické verifikaci PP bakterií.

Cílem této části bylo zjistit frekvenci výskytu jednotlivých detekovatelných bakteriálních druhů za pomoci dostupných komerčních DNA testů a zmapovat jejich citlivost na antibiotickou terapii. Na tomto místě bylo mou snahou také ověřit si správnost šesti vyslovených hypotéz, jež se k problematice vztahují.

2. Ve druhé části jsem se pokusila o **samostatné provedení jednoho z dostupných molekulárně-biologických testů**, konkrétně testu micro – IDent® plus.

Cílem této části bylo především osvojení si techniky odběru materiálu pro molekulárně-biologickou analýzu parodontopatogenních druhů.

4.1 Hypotézy

Hypotéza 1

Na základě všeobecně platných indikací molekulárně-biologických DNA testů lze v souboru předpokládat převahu agresivních parodontitid a závažnějších forem chronických parodontitid. Proto v rámci laboratorních výsledků můžeme usuzovat na výskyt bakterií červeného a oranžového komplexu u závažnějších forem chronických parodontitid a na výskyt *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) u agresivních forem parodontitid.

Hypotéza 2

Na základě dostupných informací o vztazích mezi jednotlivými bakteriálními komplexy lze předpokládat, že detekce bakterií žlutozeleného komplexu bude

minimální až nulová, jelikož bakterie tohoto komplexu obvykle nebývají asociovány s bakteriemi komplexu červeného a oranžového.

Hypotéza 3

Na základě dostupných informací o bakteriálním osídlení parodontálních kapes kuřáků lze předpokládat, že právě u nich budou s velkou pravděpodobností detekovány tyto bakteriální druhy: *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythensis* (Tf), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Peptostreptococcus micros* (Pm) a *Campylobacter rectus* (Cr).

Hypotéza 4

Na základě poznatků o patogenním potenciálu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) lze předpokládat, že pozitivní nález této bakterie bude korelovat s nálezem hlubokých parodontálních kapes spojených s výrazným ústupem kosti alveolárního výběžku, mladším věkem pacienta (< 30 let) a častějším zastoupením žen.

Hypotéza 5

Na základě poznatků hovořících o nevhodnosti volby univerzálního plánu terapie pro obě formy onemocnění parodontu (agresivní parodontitidu i chronickou parodontitidu) lze předpokládat, že indikace ATB terapie se bude lišit podle toho, zda ve vzorku byly detekovány pouze anaerobní druhy, nebo zda společně s nimi byl detekován i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa).

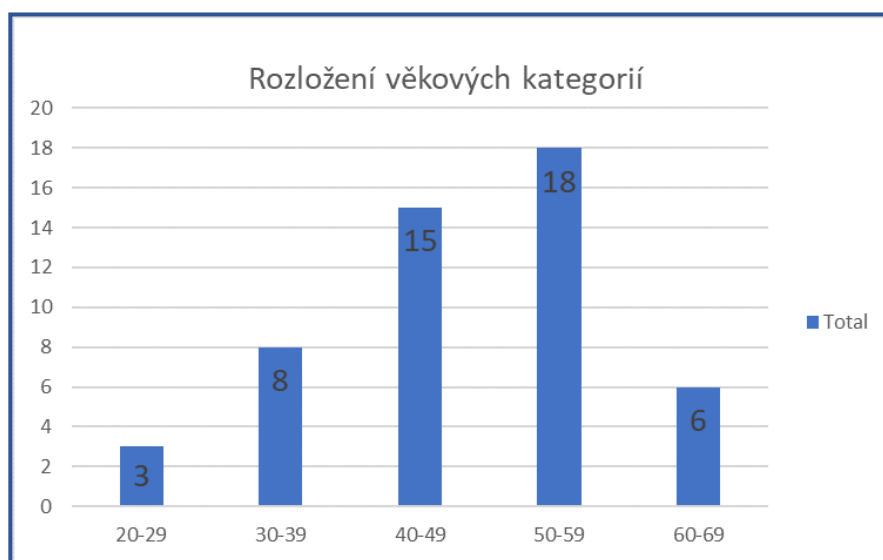
Hypotéza 6

Citlivost bakterií na ATB látky se obecně časem mění, proto i zde lze předpokládat, že citlivost PP bakteriálních druhů se v průběhu let změnila. Předpoklad by měl v rámci tohoto souboru přinést změny týkající se typů antibiotik indikovaných podle doporučení ATB centra, a to i při podobném nálezů bakteriálního spektra v rámci odlišných vzorků.

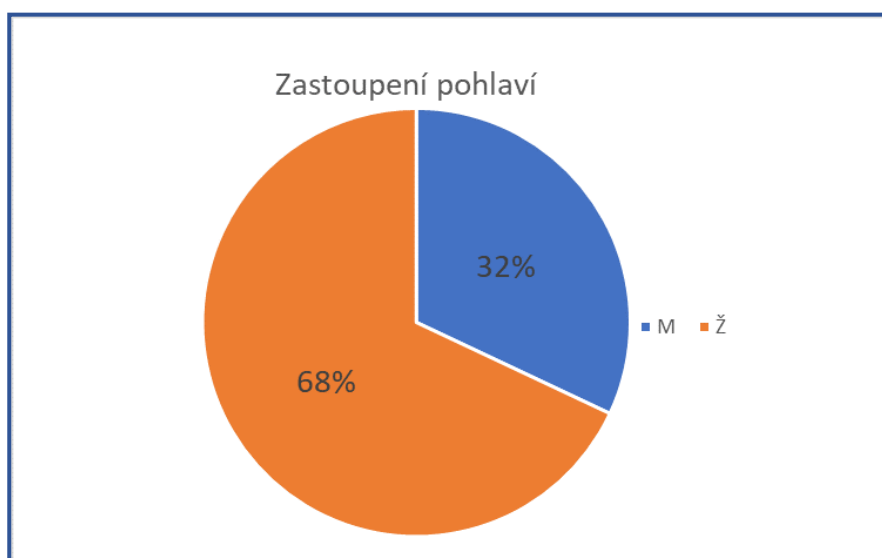
4.2 Soubor, materiál a metodika

4.2.1 Retrospektivní výzkum

Tato část představuje retrospektivní *analýzu souboru pacientů*, u nichž byla v období mezi rokem 2007 a 2017 provedena verifikace PP bakteriálních druhů za pomoci molekulárně-biologických DNA testů. Soubor se skládal z **50** pacientů ve věku od 22 do 69 let. Rozložení věkových kategorií v rámci tohoto souboru znázorňuje graf 1. Průměrný věk pacientů činil 47,5 let. V souboru bylo **16 mužů**, s průměrným věkem 48,5 let, a **34 žen**, s průměrným věkem o něco nižším – 47 let (graf 2).

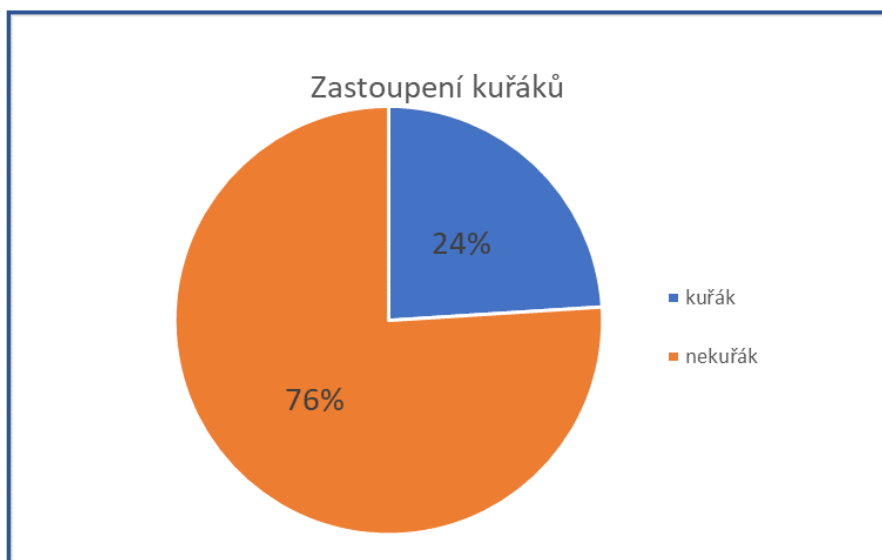


Graf 1 - Rozložení věkových kategorií



Graf 2 - Procentuální zastoupení pohlaví

Jednotlivá vyšetření pacientů proběhla, jak již bylo nastíněno výše, *od 1. ledna 2007 do 31. prosince 2017*. Z celkového počtu 50 vyšetřených pacientů bylo pouze 12 kuřáků (graf 3). V souboru se tedy jedná o jejich 24% podíl s tím, že zastoupení žen, kuřáček, zde bylo o něco větší než zastoupení mužů, kuřáků. Odpovídá tomu poměr 7:5. Zbylí pacienti v anamnéze uvedli, že nekouří.



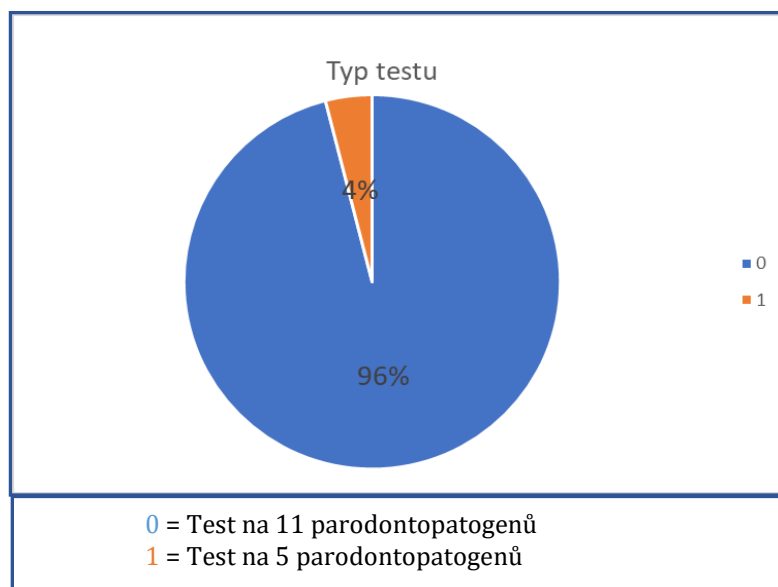
Graf 3 - Procentuální zastoupení kuřáků

U jednotlivých pacientů ze souboru byl v průběhu sledovaného období **proveden molekulárně-biologický DNA test** určený k verifikaci PP bakterií. Volba pacientů vycházela z všeobecně platných indikací (viz kapitola 3.9.1) pro tento typ testu. Jednalo se o pacienty spadající pod kartotéku stomatologické praxe *LababidiDent s.r.o.* pana odb. as. MUDr. Adela El - Lababidiho, Ph.D.

Konkrétně šlo o testy **micro - IDent®** a **micro - IDent® plus**. Materiál pro provedení obou typů testů vyrábí německá firma **Hain Lifescience GmbH**. Autorizovaným zástupcem této firmy a též jejím distributorem pro Českou a Slovenskou republiku je společnost *Eurotex s.r.o.*, pod kterou spadají laboratoře, které jednotlivé testy vyhodnocují.

Z celkového počtu 50 provedených testů bylo (graf 4):

10 testů micro - IDent® - zaměřených na detekci pouze **5** PP bakterií,
40 testů micro - IDent® plus - zaměřených na detekci všech **11** PP bakterií.



Graf 4 - Procentuální zastoupení provedených DNA testů

Podrobný přehled analyzovaných bakterií, včetně jejich příslušnosti do barevných bakteriálních komplexů, v rámci testu micro – IDent® a micro – IDent® plus shrnuje tabulka 10.

Tabulka 10 - Přehled analyzovaných bakterií testy společnosti Eurotex s.r.o.

	<i>micro – IDent®</i>	<i>micro – IDent® plus</i>
1.	<i>Aa</i>	<i>Aa</i>
2.	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
3.	<i>Tannerella forsythensis</i>	<i>Tannerella forsythensis</i>
4.	<i>Treponema denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
5.	<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
6.	-	<i>Peptostreptococcus micros</i>
7.	-	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
8.	-	<i>Campylobacter rectus</i>
9.	-	<i>Eubacterium nodatum</i>
10.	-	<i>Eikenella corodens</i>
11.	-	<i>Capnocytophaga species</i>

Kritéria patogenních bakteriálních koncentrací v rámci výsledků DNA testů jsou přehledně uvedena v tabulce 11 a 12. Je třeba podotknout, že patogenní koncentrace *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) se od ostatních bakteriálních druhů odlišují. V následujícím přehledu uvádím vysvětlení *matematických intervalových vajádření*, které v těchto tabulkách využívám pro vyjádření hodnot *laboratorního nálezu* (dále jen l.n.):

- $< x$ hodnota l.n. je ostře menší než číslo x
- $= x$ hodnota l.n. je rovna číslu x
- $(x; y)$ hodnota l.n. se pohybuje v rozmezí intervalu ohraničeného z jedné strany číslem x , z druhé strany číslem y , který je však z obou stran otevřený
- $\langle x; y \rangle$ hodnota l.n. se pohybuje v rozmezí intervalu ohraničeného z jedné strany číslem x , z druhé strany číslem y , který je zleva uzavřený a zprava otevřený
- $\geq x$ hodnota l.n. je větší nebo rovna číslu x

Tabulka 11 - Patogenní koncentrace platné pro všech 11 patogenů kromě Aa

$< 10^4$	<i>pod prahovou hodnotou</i>
$= 10^4$	<i>na prahové hodnotě</i>
$(10^4; 10^5)$	<i>zvýšené množství</i>
$\langle 10^5; 10^6 \rangle$	<i>vysoké množství</i>
$\geq 10^6$	<i>extrémní množství</i>

Tabulka 12 - Patogenní koncentrace platné pouze pro Aa

$< 10^3$	<i>pod prahovou hodnotou</i>
$= 10^3$	<i>na prahové hodnotě</i>
$(10^3; 10^4)$	<i>zvýšené množství</i>
$\langle 10^4; 10^5 \rangle$	<i>vysoké množství</i>
$\geq 10^5$	<i>extrémní množství</i>

Principem první části tedy bylo retrospektivně statisticky vyhodnotit záznamy výsledků molekulárně-biologických DNA testů. Získaná data byla vložena do programu Microsoft Excel 2013. Pro deskripci i následnou analýzu dat byla využita metoda kontingenčních tabulek a grafů, která byla kombinována s dalšími pokročilejšími funkcemi určenými pro sumarizaci výskytu daného prvku v rámci datového souboru. V mnoha případech byla zjištění plynoucí z dané analýzy prezentována v grafu, a to buď s jednou, nebo se dvěma osami v závislosti na počtu proměnných, jejichž průběh a vzájemný vztah bylo třeba v grafu naznačit. Podle charakteru daného výstupu byly využity sloupcové, výsečové i liniové grafy, či jejich kombinace.

4.2.2 Demonstrace postupu odběru vzorku

Součástí druhého oddílu praktické části byla demonstrace postupu odběru vzorků obsahu parodontálních kapes pro následnou molekulárně-biologickou laboratorní analýzu. Samotný odběr jsem si měla možnost vyzkoušet ve stomatologické praxi *LababidiDent s.r.o.*, a to pod přímým dohledem *odb. as. MUDr. Adela El - Lababidiho, Ph.D.* Jednalo se o molekulárně-biologický test **micro - IDent® plus** od firmy **Hain Lifescience GmbH**, potažmo *Eurotex s.r.o.* K odběru vzorků obsahu parodontálních kapes za účelem verifikace PP bakterií potřebujeme tzv. **odběrový set** (obrázek 29 a 30).

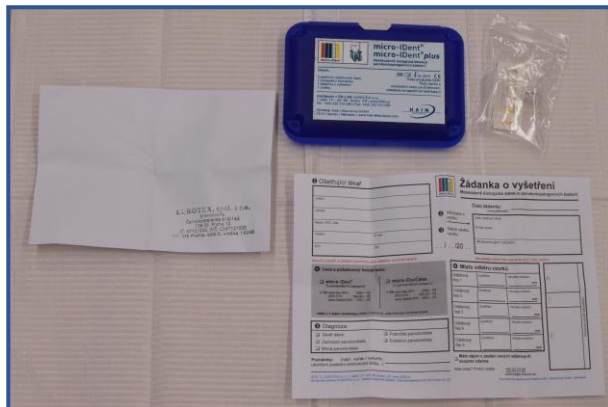


Obrázek 29 - Odběrový set



Obrázek 30 - Obsah odběrového setu

Jednotlivé součásti odběrového setu jsou znázorněny na obrázku 31. Jedná se o 5 sterilních odběrových papírových čepů a 1 transportní zkumavku (obrázek 32), žádanku na vyšetření, obálku s předtištěnou adresou laboratoře.



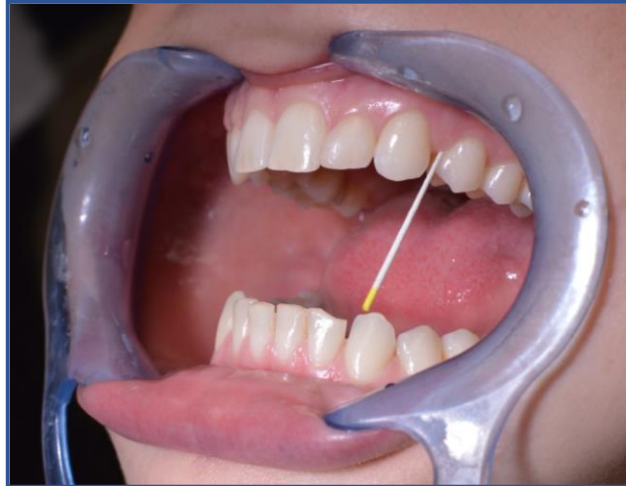
Obrázek 31 - Součásti odběrového setu



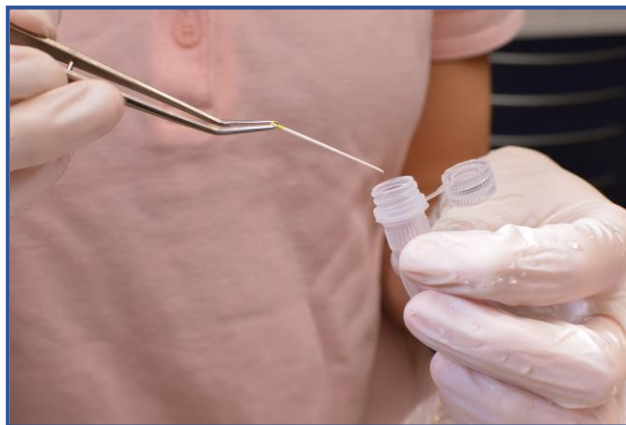
Obrázek 32 - Sada čepů a transportní zkumavka

Jednotlivé vzorky se odebírají pomocí již zmíněných **sterilních papírových čepů**, a to nejčastěji z parodontálních kapes s nejvyššími hodnotami naměřené hloubky, případně se známkami aktivity. Před odběrem je nutné místo odběru vzorku vysušit proudem vzduchu bez příměsi oleje. Poté sterilní papírový čep uchopíme **sterilní pinzetou** a zasuneme na dno vyšetřované parodontální kapsy, respektive co možná nejapikálněji (obrázek 33). Důležité je rychlé a cílené provedení daného pohybu. Jakmile se čepy nasají tekutinou, změkknou a začnou se ohýbat. Po 10-ti sekundách čep vyjmeme a vložíme jej do **transportní zkumavky** (obrázek 34). Jelikož analýza probíhá pouze na základě genetického materiálu – DNA, není třeba transportního média, pro transport tedy postačí pouze suchá zkumavka. Celý

postup opakujeme pro každý z pěti papírových čepů. Místa odběru a hloubky parodontálních kapes si zaznamenáme do dokumentace pacienta a do přiloženého doprovodného formuláře.



Obrázek 33 - Ilustrační foto: odběr materiálu



Obrázek 34 - Ilustrační foto: ukládání čepu do zkumavky

Transportní zkumavku s použitými odběrovými čepý uzavřeme, společně s vyplněnou žádankou ji vložíme do plastového krytu odběrového setu a vše v obálce zašleme do laboratoře. Výsledky testů jsou zhotoveny do 10-ti dnů od doručení vzorku do laboratoře. Poskytují přehled bakteriálních druhů stanovených ve vzorku, jejich množství a přiřazení k určitému barevnému bakteriálnímu komplexu.

Součástí laboratorní zprávy, která je ryze anonymní a v souladu se zákonem o ochraně osobních údajů pacientů, jsou kromě všeobecných informací z žádanky (rok narození pacienta, jméno ošetřujícího lékaře, adresa

stomatologické praxe) i časové záznamy (datum odběru vzorku, datum doručení vzorku do laboratoře, datum vyšetření vzorku), charakteristika odběru vzorků pomocí pěti papírových čepů (lokalizace vyšetřovaného zubu, hloubka parodontální kapsy v místě odběru) a navrhovaná antimikrobiální terapie společně s konkrétními příklady a dávkováním ATB, které by bylo vhodné nasadit s přihlédnutím k alergiím uvedeným v žádance.

„Odběrový“ pacient byl podrobně popsán za pomoci kazuistiky, a to v rámci kapitoly 4.3.4.

4.3 Výsledky

V rámci této kapitoly byly využity mnohé písmenné či číslicové zkratky. Význam jednotlivých zkratk a čísel, jež jsou nejčastěji součástí výsledkových tabulek nebo grafů, je přehledně uveden v tabulce 13 a 14.

Tabulka 13 - Význam písmenných zkratk použitých v praktické části

M	Muž
Ž	Žena
1 / M	1. pacient – muž
Rok	Rok provedení DNA testu
Aa	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (růžový komplex)
Pg	<i>Porphyromonas gingivalis</i> (červený komplex)
Tf	<i>Tannerella forsythensis</i> (červený komplex)
Td	<i>Treponema denticola</i> (červený komplex)
Pi	<i>Prevotella intermedia</i> (oranžový komplex)
Pm	<i>Peptostreptococcus micros</i> (oranžový komplex)
Fn	<i>Fusobacterium nucleatum</i> (oranžový komplex)
Cr	<i>Campylobacter rectus</i> (oranžový komplex)
En	<i>Eubacterium nodatum</i> (oranžový komplex)
Ec	<i>Eikenella corodens</i> (žlutozelený komplex)
Cs	<i>Capnocytophaga species</i> (žlutozelený komplex)
SRP	<i>Scaling and root planing – mechanické ošetření kořene zubu</i>

Tabulka 14 - Význam čísel ve výsledkových grafech a tabulkách praktické části

0	Bakteriální detekce pod prahovou hodnotou $< 10^4$ nebo $< 10^3$ v případě Aa
1	Bakteriální detekce na prahové hodnotě $= 10^4$ nebo $= 10^3$ v případě Aa
2	Bakterie detekována ve zvýšeném množství $(10^4; 10^5)$ nebo $(10^3; 10^4)$ v případě Aa
3	Bakterie detekována ve vysokém množství $\langle 10^5; 10^6 \rangle$ nebo $\langle 10^4; 10^5 \rangle$ v případě Aa
4	Bakterie detekována v extrémním množství $\geq 10^6$ nebo $\geq 10^5$ v případě Aa

4.3.1 Vyhodnocení výsledků testů *micro* – IDent®

Test **micro** – IDent®, jak již bylo zmíněno v kapitole 4.2.1, podstoupilo 10 pacientů z 50. Tito pacienti byli podrobeni vyšetření pouze na **5 parodontálních patogenů** (*Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td*, *Pi*). Data byla pro lepší přehlednost shrnuta do tabulky 15.

Tabulka 15 - Vyhodnocení 10-ti členné skupiny podrobené testu *micro* – IDent®

PACIENT / POHLAVÍ	Věk	Rok	Kuřák	Max. hloubka parokapsy	Alergie	Aa	Pg	Tf	Td	Pi	ATB terapie
01 M	46	2007	ANO	7 mm	žádná	0	2	3	2	1	Metronidazol
02 M	50	2007	NE	8 mm	žádná	0	3	3	3	3	Metronidazol
03 Ž	56	2007	NE	8 mm	Penicilin	0	3	2	2	3	Metronidazol
04 Ž	38	2008	NE	5 mm	žádná	0	3	3	2	0	Metronidazol
05 M	52	2008	NE	6 mm	žádná	4	3	3	2	0	Metronidazol + Amoxicilin
06 Ž	46	2008	ANO	8 mm	žádná	0	3	3	2	0	Metronidazol
07 Ž	46	2008	NE	9 mm	žádná	4	3	3	2	0	Metronidazol + Amoxicilin
08 M	41	2008	ANO	8 mm	žádná	0	3	3	2	3	Metronidazol
09 Ž	42	2009	NE	5 mm	žádná	0	3	3	2	0	Metronidazol
10 Ž	59	2010	NE	6 mm	Penicilin	0	3	2	1	0	Metronidazol

V souboru těchto 10-ti pacientů převažovaly ženy, kterých bylo šest, zatímco muži byli pouze čtyři. Průměrný věk pacientů činil 47,6 let. Co se týče zastoupení kuřáků, tak pouze tři pacienti byli kuřáci, tedy 30 %. Průměrná maximální hloubka parodontální kapsy činila 7 mm. Pouze dva pacienti (tedy 20 %), obě ženy, udávaly alergii na penicilin.

Z tabulky 15 je zřejmé, že bakterie růžového komplexu **Aa** byla detekována pouze u dvou pacientů, tedy přesně ve 20 % případů, a to vždy v množství 4, tedy v *množství extrémním*. Oba tito pacienti byli nekuřáci. V případě bakterií červeného komplexu byla situace odlišná. Všechny tři bakterie spadající pod tento komplex (**Pg**, **Tf**, **Td**) byly detekovány u všech pacientů. Je tedy zřejmé, že jejich výskyt můžeme v tomto souboru 10 pacientů považovat za 100%. **Pg** byla dokonce u devíti pacientů detekována ve *vysokém množství* a pouze u jednoho pacienta v *množství zvýšeném*. **Tf** byla ve 20 % detekována ve *zvýšeném množství* a v 80 % v *množství vysokém*. Výskyt **Td** byl poněkud různorodější. Ve *vysokém množství* byla tato bakterie detekována pouze v 10 %, ve *zvýšeném množství* pak v 80 % a v množství, které odpovídá *prahové hodnotě*, v 10 % případů. Jediná bakterie oranžového komplexu detekovatelná sadou micro – IDent® - bakterie **Pi**, byla zjištěna pouze u čtyřech pacientů, tedy ve 40 % případů. Z toho u třech pacientů se tato bakterie vyskytovala ve *vysokém množství* a u jednoho pacienta v množství, které odpovídá *prahové hodnotě*.

V závislosti na výskytu různých druhů bakterií byla každému pacientovi doporučena systémová adjuvantní ATB terapie. V 80 % případů byl doporučeným antibiotikem **Metronidazol** (500mg, 2x denně, 8 dní). U zbývajících 2 pacientů, tedy ve 20 % případů, byla navrženou terapií kombinace **Metronidazolu** (500mg, 2x denně, 8 dní) a **Amoxicilinu** (500mg, 2x denně, 8 dní).

4.3.2 Vyhodnocení výsledků testů micro – IDent® plus

Dalších 40 pacientů podstoupilo kompletní testování sadou **micro – IDent® plus**. U těchto pacientů bylo analyzováno všech 11 parodontálních patogenů - kromě *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td* a *Pi*, také *Pm*, *Fn*, *Cr*, *En*, *Ec*, *Cs*. Data byla opět pro shrnutí zpracována za pomoci tabulky 16.

Tabulka 16 - Vyhodnocení 40-ti členné skupiny podrobené testu micro – IDent® plus

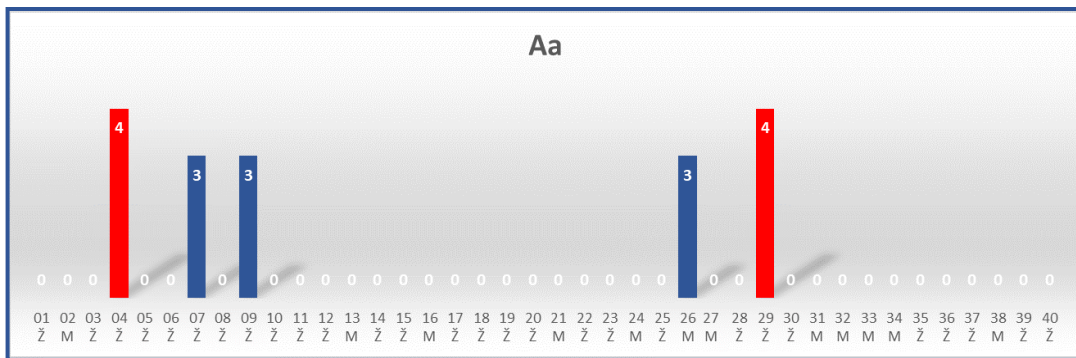
PACIENT/POHLAVÍ	Věk	Rok	Kuřák	Max. hloubka parokapsy	Alergie	Aa	Pg	Tf	Td	Pi	Pm	Fn	Cr	En	Ec	Cs	ATB terapie
01 Ž	37	2008	ANO	8 mm	Penicilin	0	3	2	2	2	3	2	3	2	3	2	Klindamycin
02 M	51	2008	NE	7 mm	žádná	0	2	2	1	1	3	3	1	2	3	1	Klindamycin
03 Ž	50	2008	NE	8 mm	žádná	0	3	3	2	0	2	3	0	3	3	3	Metronidazol
04 Ž	29	2008	NE	8 mm	žádná	4	1	3	3	0	3	3	2	2	2	1	Metronidazol + Amoxicilin
05 Ž	41	2008	ANO	5 mm	žádná	0	3	3	3	3	2	3	2	2	2	0	Metronidazol
06 Ž	42	2009	ANO	9 mm	žádná	0	3	3	2	0	1	2	1	0	2	0	Metronidazol
07 Ž	40	2009	NE	8 mm	žádná	3	2	3	2	0	0	2	3	0	0	0	Metronidazol + Amoxicilin
08 Ž	56	2009	NE	9 mm	žádná	0	0	2	0	0	3	3	0	2	3	1	Klindamycin
09 Ž	57	2009	NE	5 mm	žádná	3	3	2	2	0	1	3	2	0	3	3	Metronidazol + Amoxicilin
10 Ž	56	2009	NE	10 mm	žádná	0	3	3	2	0	1	2	3	2	0	0	Metronidazol
11 Ž	39	2009	NE	9 mm	žádná	0	3	3	1	1	0	3	3	0	0	1	Metronidazol + Amoxicilin
12 Ž	33	2009	NE	7 mm	žádná	0	0	2	2	1	0	2	0	0	0	0	Metronidazol
13 M	32	2009	ANO	5 mm	žádná	0	0	4	3	0	3	2	2	1	2	2	Metronidazol
14 Ž	53	2009	NE	5 mm	Penicilin	0	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	Metronidazol
15 Ž	52	2010	NE	5 mm	žádná	0	3	3	2	0	0	3	0	0	3	2	Metronidazol
16 M	47	2010	NE	6 mm	žádná	0	3	3	2	0	2	3	3	2	2	2	Metronidazol
17 Ž	42	2010	ANO	9 mm	Makrolidy	0	3	3	2	0	0	3	3	2	3	0	Metronidazol
18 Ž	53	2011	NE	7 mm	žádná	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	3	SRP
19 Ž	60	2011	NE	9 mm	žádná	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	Metronidazol
20 Ž	69	2011	NE	8 mm	žádná	0	3	3	2	0	2	3	4	3	3	2	Metronidazol
21 M	36	2012	NE	9 mm	žádná	0	0	0	0	0	2	3	0	0	1	3	SRP
22 Ž	58	2012	ANO	9 mm	žádná	0	3	3	2	2	2	3	3	3	2	1	Metronidazol
23 Ž	22	2012	NE	5 mm	žádná	0	2	2	2	0	1	3	3	0	2	2	Metronidazol
24 M	62	2012	NE	7 mm	žádná	0	2	2	2	0	2	3	3	2	3	2	Metronidazol
25 Ž	65	2012	NE	9 mm	žádná	0	3	3	2	3	2	2	1	0	1	1	Metronidazol
26 M	46	2012	NE	6 mm	žádná	3	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	Metronidazol + Amoxicilin
27 M	51	2012	ANO	9 mm	žádná	0	2	3	2	0	2	2	3	3	1	2	Metronidazol
28 Ž	34	2012	NE	5 mm	žádná	0	0	0	4	2	3	3	3	0	0	3	Metronidazol
29 Ž	54	2012	NE	9 mm	Penicilin	4	2	3	2	1	2	2	2	2	0	2	Metronidazol + Ciprofloxacin
30 Ž	49	2013	NE	5 mm	žádná	0	0	3	0	0	2	2	0	0	2	2	Metronidazol
31 M	64	2015	NE	5 mm	žádná	0	0	3	0	0	1	3	2	0	2	2	Metronidazol
32 M	51	2015	NE	8 mm	žádná	0	2	3	0	0	2	3	1	0	2	2	Metronidazol
33 M	48	2015	NE	8 mm	Linkosamidy	0	3	4	3	2	3	3	4	3	3	1	Doxycyklin
34 M	47	2016	NE	7 mm	žádná	0	3	3	2	2	2	2	3	3	2	2	Metronidazol
35 Ž	35	2016	NE	7 mm	žádná	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	3	Metronidazol
36 Ž	52	2016	NE	9 mm	žádná	0	3	3	2	0	3	3	0	3	0	2	Klindamycin
37 Ž	28	2017	NE	7 mm	žádná	0	0	1	3	0	4	3	4	0	3	3	Klindamycin
38 M	51	2017	ANO	9 mm	žádná	0	3	4	3	3	3	3	3	4	2	1	Klindamycin
39 Ž	45	2017	NE	7 mm	žádná	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	SRP
40 Ž	63	2017	ANO	5 mm	Penicilin	0	3	3	2	0	3	3	3	3	2	2	Klindamycin

V souboru těchto 40 pacientů převažovaly ženy, kterých bylo 28, zatímco mužů bylo pouze 12. Co se týče zastoupení kuřáků, tak pouze devět pacientů udávalo, že kouří. Jedná se tedy o 22,5% zastoupení kuřáků. Průměrná maximální hloubka parodontální kapsy činila 7,23 mm. Z tabulky 16 je také zřejmé, že 6 pacientů (tedy 15 %) udávalo alergii na některé z běžně používaných antibiotik. Ve čtyřech z těchto šesti případů se jednalo o *penicilin*.

Jeden pacient ze zbývajících dvou uvedl alergii na *klindamycin*, který se, jak je patrné z tabulky 16, řadí ke skupině linkosamidů, druhý pacient uvedl alergii na *rulid*, který naopak řadíme do skupiny makrolidů.

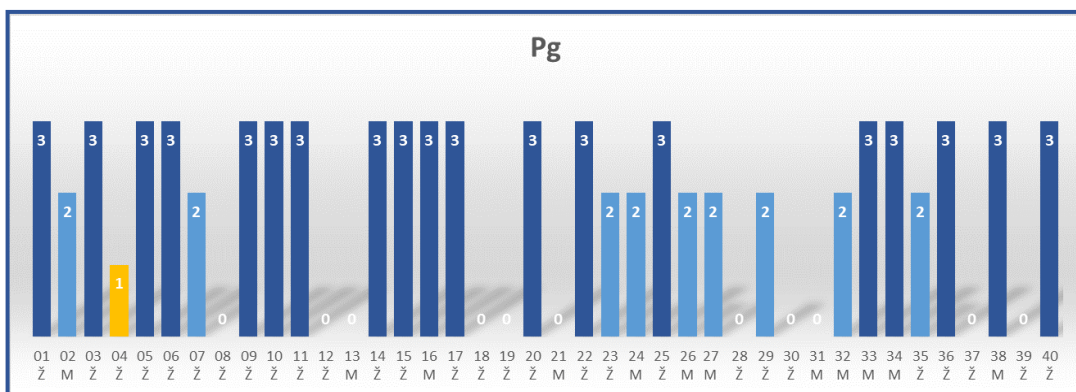
Grafické a procentuální vyhodnocení míry výskytu jednotlivých bakteriálních druhů z tabulky 16 je následující:

Aa, spadající do růžového komplexu, byl v tomto 40 členném souboru detekován pouze u 5 pacientů, tedy ve **12,5 %** případů. Z toho u třech pacientů byl detekován ve *vysokém množství* a u zbývajících dvou pacientů v *množství extrémním* (graf 5).



Graf 5 - Detekce Aa

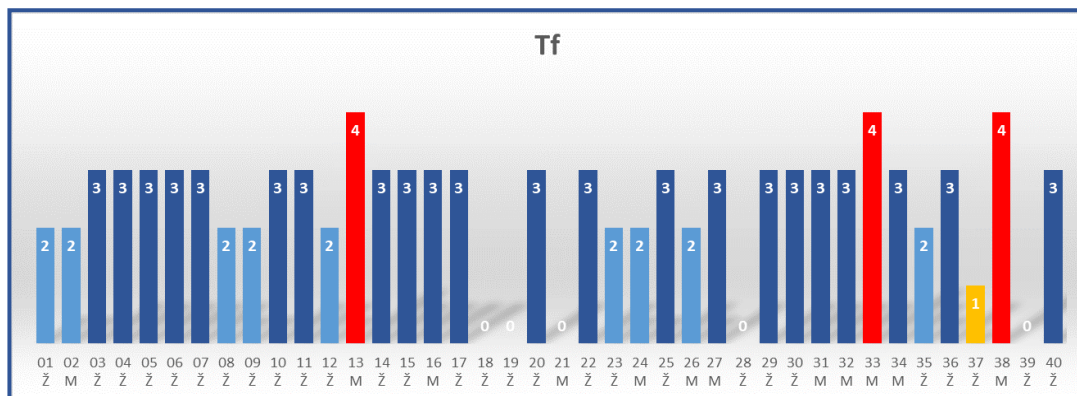
Pg, bakterie červeného komplexu, byla nalezena u 29 pacientů. Tedy v **72,5 %** případů. Ve většině případů byla detekována právě ve *vysokém množství* (graf 6).



Graf 6 - Detekce Pg

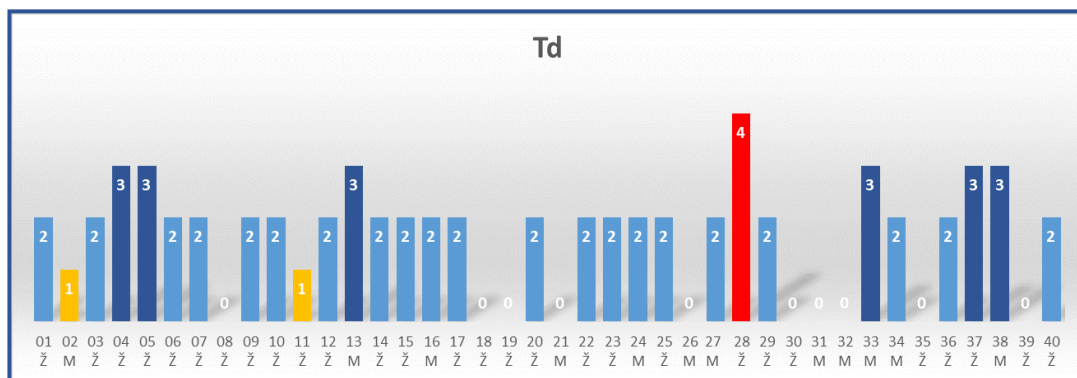
Tf, bakterie červeného komplexu, byla detekována v **87,5 %** případů. Pouze u 5 pacientů nebyla ve vzorku subgingiválního plaku nalezena. Nejvíce

bylo případů s detekcí této bakterie ve *vysokém množství*, dokonce jsme se však v souboru mohli setkat i se 3 případy, kde tato bakterie byla detekována v *extrémním množství* (graf 7).



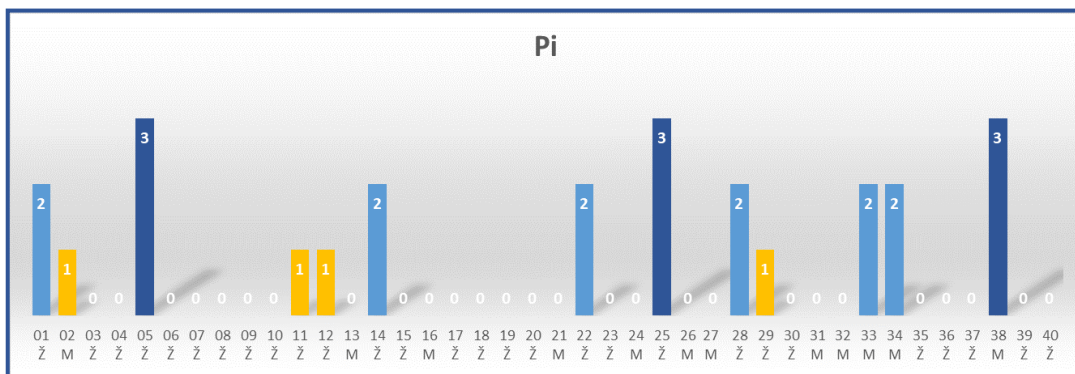
Graf 7 - Detekce Tf

Td, poslední z bakterií červeného komplexu, vykazovala menší míru detekce. S přítomností této bakterie ve vzorcích obsahu parodontálních kapes jsme se setkali u **75 %** pacientů. Nejpočetnější skupinou z hlediska množství bakterie ve vzorku byli pacienti, u kterých byla tato bakterie detekována ve *zvýšeném množství*. Pouze u 1 pacienta byla **Td** zpozorována v *extrémním množství* (graf 8).



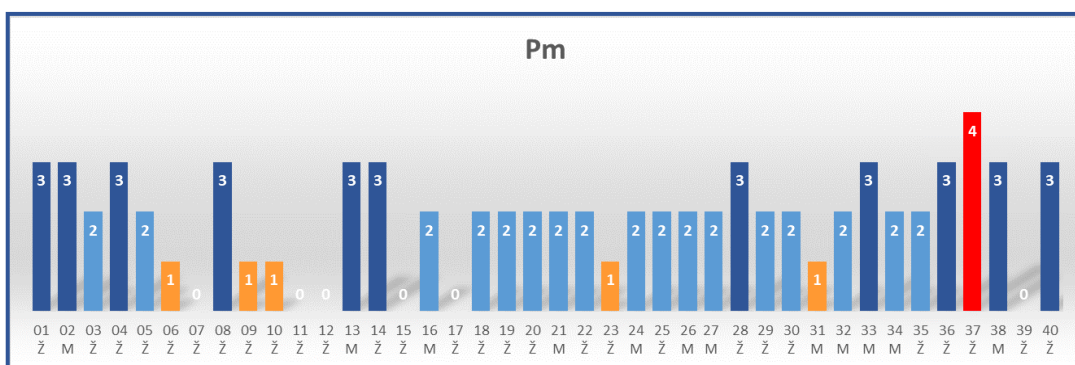
Graf 8 - Detekce Td

Pi, první z oranžového bakteriálního spektra, byla detekována v méně než 50 % – konkrétně u 13 pacientů, tedy ve **32,5 %** případů. Z toho u 6 pacientů v *množství zvýšeném*, u 4 pacientů v množství odpovídající *prahové hodnotě* a u 3 pacientů v *množství vysokém*. V rámci tohoto testování se tedy jedná o nejméně zastoupenou bakterii ze skupiny bakterií oranžového komplexu (graf 9).



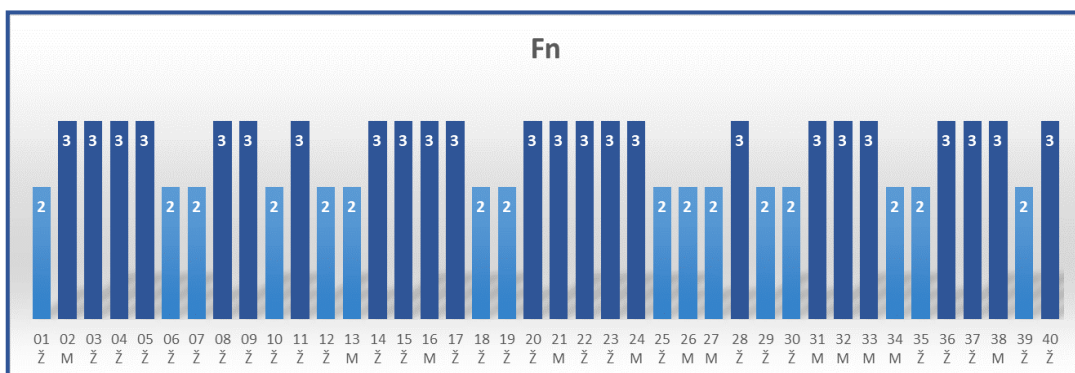
Graf 9 - Detekce Pi

Pm, další z bakterií oranžového komplexu, byla kromě 6 pacientů detekována u všech členů souboru, v procentuálním vyjádření tedy v **85 %** případů. Nejpočetnější kategorií byla kategorie č. 2, přesně 17 pacientů mělo totiž tuto bakterii přítomnu ve *zvýšeném množství* (graf 10).



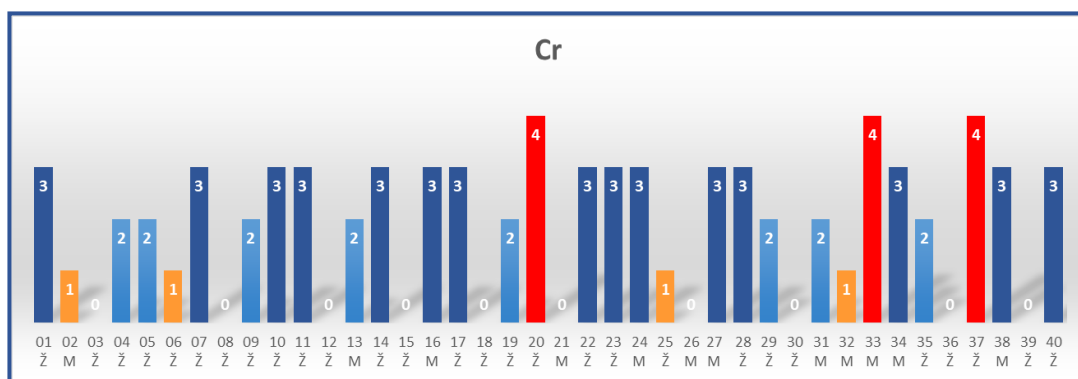
Graf 10 - Detekce Pm

Fn, další z oranžového komplexu, je v tomto souboru pacientů v rámci detekce charakteristická svým masivním zastoupením. V popisovaném 40-ti členném souboru pacientů byla tato bakterie detekována ve **100 %** případů, a to buď ve *zvýšeném*, nebo *vysokém množství* (graf 11).



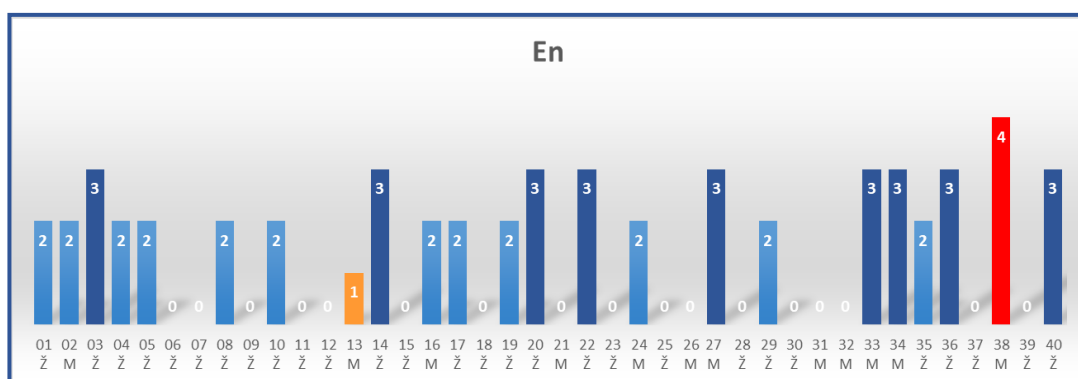
Graf 11 - Detekce Fn

Cr, rovněž bakterie oranžového komplexu, se v rámci detekce rozhodně nevyznačuje svým 100% zastoupením, jako tomu bylo u *Fn*. U 10 pacientů její detekce byla totiž pod prahovou hodnotu, tedy pod mezí průkaznosti, což podle grafu 12 odpovídá kategorii 0. Přítomnost Cr byla zaznamenána přesně v 75 % případů.



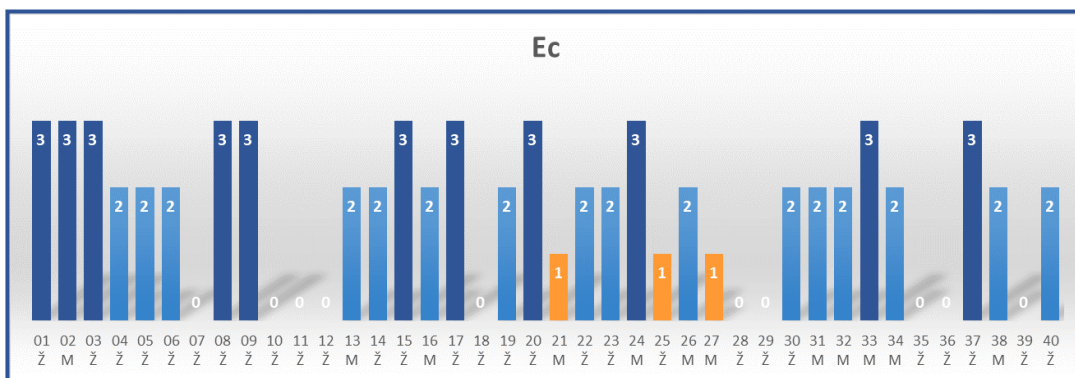
Graf 12 - Detekce Cr

En, poslední ze skupiny bakterií oranžového komplexu, byla detekována pouze ve **42,5 %** případů. Ve vorcích subgingiválního plaku 17 pacientů nebyla totiž vůbec přítomna, jelikož její množství bylo pod prahovou hodnotou. *En* byla detekována ve *vysokém množství* v podobné míře jako v *množství zvýšeném*. U jednoho pacienta byla tato bakterie shledána v *extrémním množství* (graf 13)



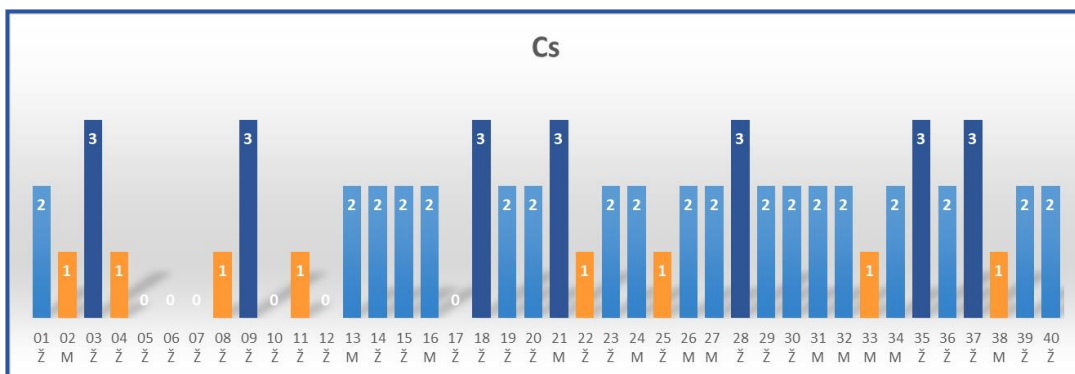
Graf 13 - Detekce En

Ec, první ze dvou bakterií komplexu žlutozeleného, byla v rámci tohoto 40 členného souboru detekována přesně v **75 %**. U 16 pacientů byla tato bakterie naměřena ve *zvýšeném množství*, u 11 pacientů v *množství vysokém*. U 3 pacientů její množství odpovídalo *prahové hodnotě* (graf 14)



Graf 14 - Detekce Ec

Cs, bakterie náležející do žlutozeleného komplexu a také poslední skupina bakterií z celkového počtu 11 analyzovaných druhů, byla detekována u 34 pacientů. U zbylých jedinců bylo její množství pod prahovou hodnotou. V procentuálním vyjádření její pozitivní hodnota detekce tedy odpovídá **85 %**. Nejzastoupenější kategorií popisující míru její detekce byla kategorie č. 2, znamená to tedy, že nejčastěji byla tato bakterie naměřena ve *zvýšeném množství* (graf 15).



Graf 15 - Detekce Cs

Z tabulky 16 lze také přehledněji shrnout doporučenou ATB terapii jednotlivých pacientů v souboru:

Nejzastoupenějším ATB, které bylo v rámci tohoto testování doporučeno, byl **Metronidazol**. Ten byl indikován 23 pacientům, tedy v **57,5 %** případů. Z toho u 18 pacientů s dávkovacím schématem *500mg 2x denně, 8 dní*; a u zbylých 5 pacientů se léčba metronidazolem řídila dávkovacím schématem *400mg 3x denně, 7 dní*. Mezníkem mezi těmito skupinami je rok 2013. **Metronidazol (500mg 2x denně, 8 dní)** byl u 5 pacientů, tedy ve **12,5 %**

případů, také navržen v kombinaci s **Amoxicilinem** (500mg 2x denně, 8 dní) - jednalo se z 80 % o pacienty, u kterých byl detekován *Aa*. U 1 pacienta v souboru byl **Metronidazol** (500mg 2x denně, 8 dní) doporučen v kombinaci s **Ciprofloxacinem** (250mg 2x denně, 8 dní) – tento pacient v anamnéze uvedl alergii na Amoxicilin.

Dalším navrženým antibiotikem byl **Klindamycin**, s jehož indikací jsme se v souboru setkali u 7 pacientů, tedy v **14,5 %** případů. Z toho u 3 pacientů se terapie Klindamycinem řídila dávkovacím schématem 300mg 2x denně, 8 dní; a u zbylých 4 pacientů se léčba klindamycinem odvíjela od odlišného dávkovacího schématu – a to 300mg 4x denně, 7 dní.

Doxycyklin (200 mg 1x denně – 1. den a 100 mg 1x denně – 2. až 19. den) byl na základě bakteriální detekce v rámci sledovaného souboru doporučen pouze 1 pacientovi – tento pacient v anamnéze uvedl alergii na klindamycin.

Podle výsledků provedených molekulárně-biologických testů bylo také vyhodnoceno, že tři pacienti nepotřebují adjuvantní ATB léčbu. U nich jsme se setkali s doporučením kvalitního mechanického ošetření, provedením efektivního SRP.

4.3.3 Vyhodnocení kompletních výsledků

4.3.3.1 VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 1

U každého z **50** pacientů v souboru byla před odběrem vzorku na molekulárně-biologickou DNA analýzu stanovena pracovní diagnóza. Jednalo se o **tři kategorie pracovních diagnóz**:

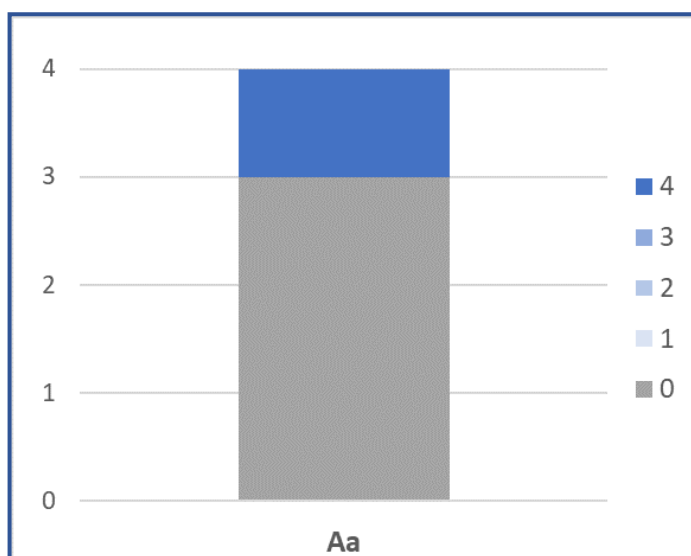
- *agresivní parodontitida,*
- *pokročilá (střední) chronická parodontitida,*
- *těžká chronická parodontitida.*

Rozřazování do jednotlivých kategorií proběhlo na základě všeobecně známých a platných charakteristik pro jednotlivé typy onemocnění. Soubor čítal **4** pacienty s pracovní diagnózou „agresivní parodontitida“ a **36** pacientů s pracovními diagnózami buď „pokročilá (střední) chronická parodontitida“

nebo „těžká chronická parodontitida“. 10 pacientů do tohoto statistického zkoumání nebylo zavzato z důvodu nekompletního rejstříku sledovaných bakterií – jednalo se totiž o pacienty, u nichž byl proveden test pouze na 5 parodontopatogenů, test *micro – IDent*[®].

1. *Situace u pacientů s pracovní diagnózou „agresivní parodontitida“*

Z grafu 16 je zřejmé, že bakterie Aa byla detekována pouze u jednoho ze čtyř pacientů s pracovní diagnózou „agresivní parodontitida“. Míra její detekce v tomto případě v grafu odpovídá číslu 4 – tedy *extrémnímu množství*. U zbylých 3 pacientů s touto pracovní diagnózou byla hodnota nálezů Aa negativní (v grafu rovna číslu 0), tedy *pod prahovou hodnotou*.

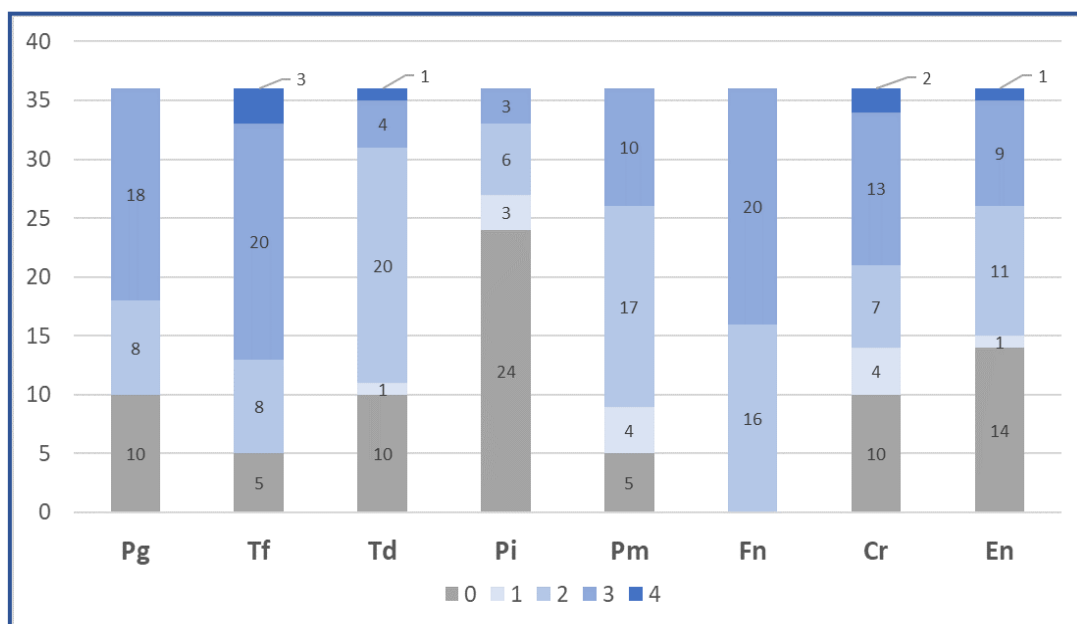


Graf 16 - Detekce Aa u pacientů s pracovní diagnózou agresivní parodontitida

2. *Situace u pacientů s pracovní diagnózou „pokročilá (střední) chronická parodontitida“ nebo „těžká chronická parodontitida“*

Zde byla situace o něco složitější. Vyobrazuje ji graf 17. V tomto případě byly analyzovány výsledky detekce bakterií červeného a oranžového komplexu – *Pg, Tf, Td, Pi, Pm, Fn, Cr, En*. Bakterie **Fn** je jediná z osmi sledovaných bakterií, která byla nalezena u všech 36 pacientů – z toho u 16 pacientů ve *zvýšeném množství* a u 20 pacientů v *množství vysokém*. Více jak u poloviny pacientů, přesně ve 24 případech z celkového počtu 36 jedinců, nebyla nalezena bakterie

Pi. En je ihned po **Pi** druhou nejméně často zachycenou bakterií v této skupině pacientů. Její nulová detekce byla vyzorována u 14 pacientů. 10 negativních nálezů přinesly i výsledky detekce bakterií **Pg**, **Td** a **Cr**. V největší míře, kromě 100% zastoupené bakterie **Fn**, byly detekovány bakterie **Tf** a **Pm**. S jejich množstvím naměřeným pod prahovou hodnotou jsme se setkali v obou případech pouze u pěti pacientů.



Graf 17 - Detekce bakterií červeného a oranžového komplexu u pacientů s pracovní diagnózou „pokročilá (střední)“ či „těžká chronická parodontitida“

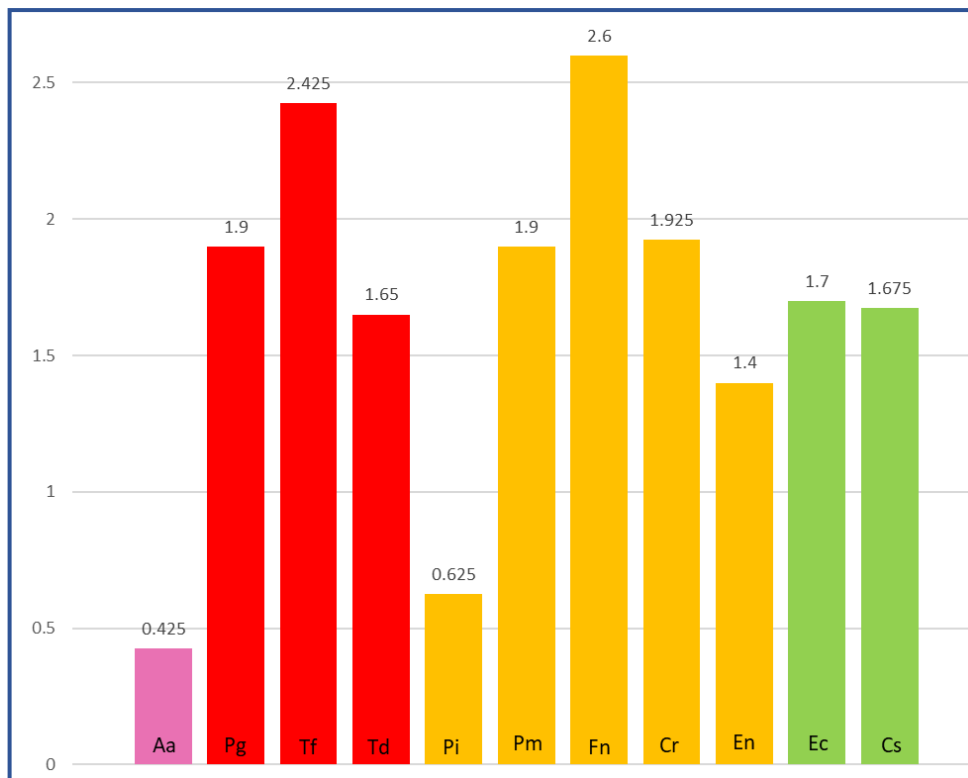
4.3.3.2 VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 2

V grafu 18 můžeme vidět průměrný výskyt jednotlivých bakterií spadajících do různých barevných bakteriálních komplexů. Jelikož u 10 pacientů bylo analyzováno pouze 5 parodontálních patogenů, nebyli do tohoto grafu zahrnuti.

Je zřejmé, že nejméně je zastoupen komplex růžový, jehož představitelem je *Aa*. Tato fakultativně anaerobní bakterie v souboru 40 pacientů dosáhla průměrného výskytu v hodnotě **0,425**, což i po zaokrouhlení odpovídá detekci pod prahovou hodnotou. Naopak komplex červený a oranžový je zastoupen poměrně masivně. Z bakterií červeného spektra je to *Tf*, která se vyznačuje nejvyšším průměrným výskytem. Průměrná hodnota výskytu *Tf* ve vzorcích subgingiválního plaku se vyšplhala na hodnotu **2,425**, což odpovídá

rozmezí mezi *zvýšeným* a *vysokým množstvím*. Z bakterií oranžového spektra se z hlediska nejvyššího průměrného výskytu dostala na první místo *Fn*. Její hodnota výskytu byla o něco vyšší, než u *Tf* – přesně **2,6**. Opět to odpovídá rozmezí mezi *zvýšeným* a *vysokým množstvím*, přičemž množství vysokému se to blíží více. Nízkou hodnotu průměrné detekce můžeme pozorovat u bakterie *Pi*, které v grafu odpovídá hodnota **0,625**. Průměrné množství této bakterie nedosahuje ani na prahovou hodnotu.

Z grafu lze vyčíst, že výskyt obou bakterií komplexu žlutozeleného, tedy *Ec* a *Cs*, se blíží nebo je roven hodnotě **1,7**, což po zaokrouhlení odpovídá *zvýšenému množství*.

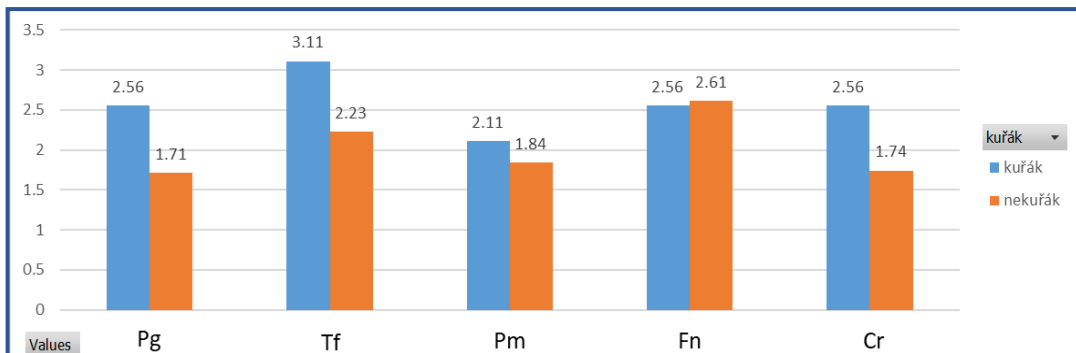


Graf 18 - Průměrný výskyt jednotlivých bakteriálních druhů

4.3.3.3 VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 3

Problematiku kuřáků a jejich subgingivální mikroflóry jsem shrnula do grafu 19. O téměř všech v grafu vyobrazených bakteriích lze říci, že jejich průměrná hodnota výskytu v souboru pacientů je u kuřáků vyšší než u nekuřáků. Jedná se o bakterie *Pg*, *Tf*, *Pm* a *Cr*. Jedinou bakterií, která se v tomto ohledu vymyká, je *Fn*. Lze říci, že *Fn* byla v rámci tohoto souboru detekována

ve větším množství u nekuřáků, odpovídá tomu hodnota **2,61**. U kuřáků byla tato bakterie v průměru detekována v množství odpovídajícímu hodnotě **2,56**.



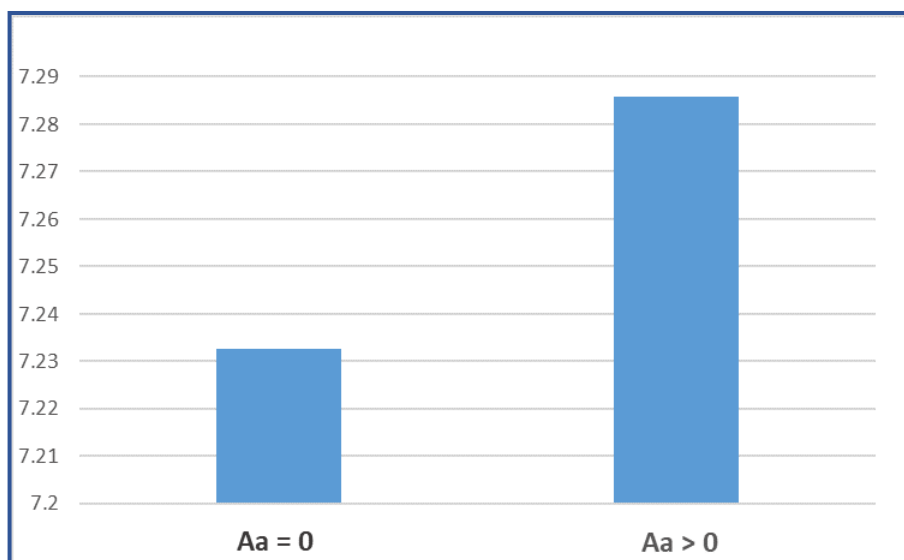
Graf 19 - Bakteriální osídlení parodontálních kapes kuřáků v porovnání s nekuřáky

4.3.3.4 VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 4

Soubor 50 pacientů byl za pomoci následujících grafů rozdělen na dvě skupiny, a to **v závislosti na detekci Aa**:

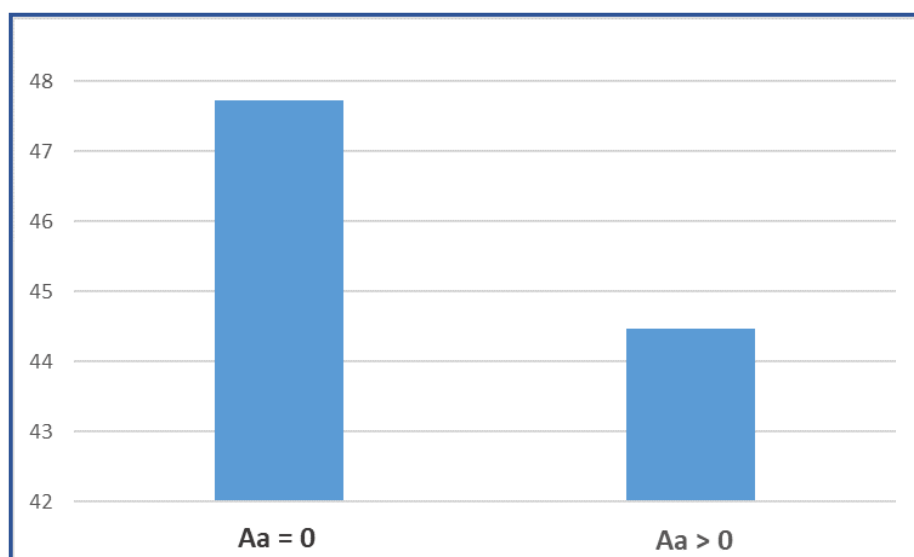
- **První skupina „Aa = 0“** slučuje pacienty, v jejichž vzorcích obsahu parodontálních kapes bakterie *Aa* nebyla detekována, resp. její množství bylo definováno *pod prahovou hodnotou*.
- **Druhá skupina „Aa > 0“** slučuje pacienty, u kterých se v rámci molekulárně-biologické detekce tato bakterie vyskytla, a to ať už v množství rovném *prahové hodnotě*, v množství *zvýšeném, vysokém*, či v množství *extrémním*.

Z grafu 20 lze vyčíst, že průměrná maximální hloubka parodontální kapsy v době odběru vzorku byla u pacientů, u kterých bakterie *Aa* *nebyla detekována*, po zaokrouhlení rovna hodnotě **7,233 mm**. Na druhé straně stála skupina pacientů, u nichž jsme se s *Aa* ve vzorku subgingiválního plaku *setkali*, a právě u těchto pacientů byla průměrná maximální hloubka parodontální kapsy o něco větší – po zaokrouhlení se hodnota rovnala **7,286 mm**.



Graf 20 - Průměrná max. hloubka parokapsy v době odběru vzorku (v mm)

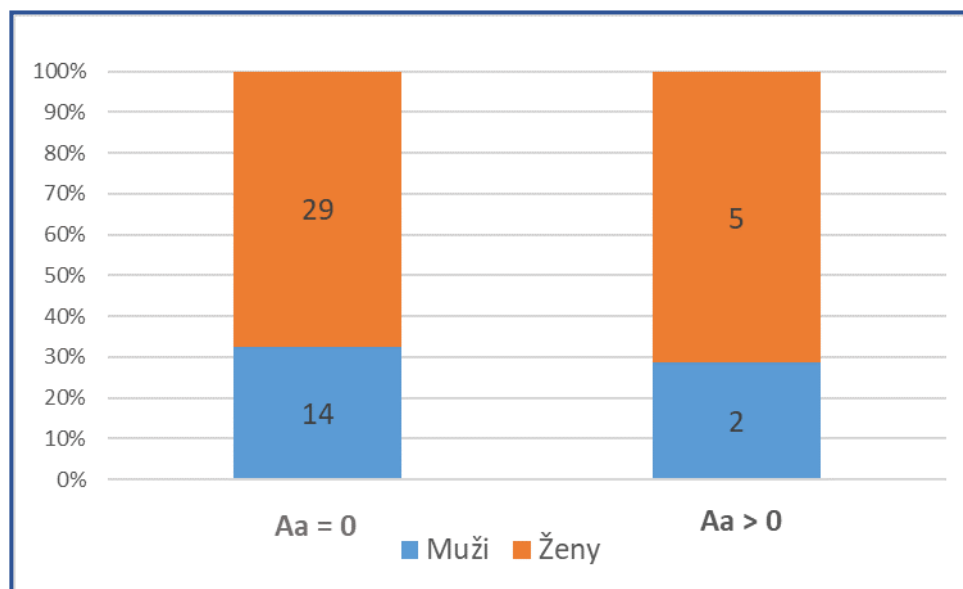
Průměrný věk v době odběru vzorku na molekulárně-biologickou analýzu se u obou skupin pacientů lišil (graf 21). Skupině pacientů, u kterých byl nález *Aa* ve vzorku subgingiválního plaku pod prahovou hodnotou, můžeme přiřadit průměrný věk **47,72 let**, což odpovídá přibližně *47 rokům a 9 měsícům*. Naopak průměrný věk pacientů, u nichž byla detekce *Aa* pozitivní, odpovídá hodnotě **44,47 let**, což se blíží *44 rokům a 6 měsícům*.



Graf 21 - Průměrný věk pacientů v době odběru vzorku

Poměr mužů a žen byl u obou skupin pacientů podobný (graf 22). V obou případech se ale nacházelo více žen než mužů. V první skupině pacientů, kde detekce *Aa* byla pod prahovou hodnotou, bylo zastoupení mužů

těsně nad 30 %. Tato skupina čítala 14 mužů a 29 žen. Ve druhé skupině, která slučuje pacienty s pozitivním nálezem *Aa*, bylo naopak zastoupení mužů těsně pod 30 %. Skupina čítala dva muže a pět žen. Poměr pohlaví se ve druhé skupině pacientů tedy více vychyluje směrem k ženám.



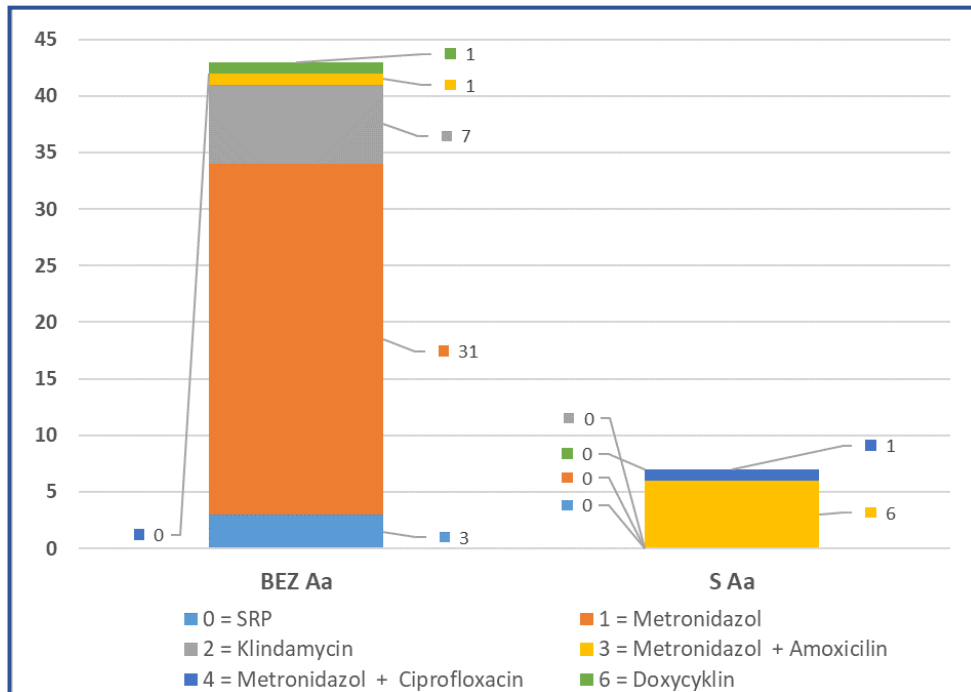
Graf 22 - Zastoupení mužů a žen v závislosti na detekci *Aa*

4.3.3.5 VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 5

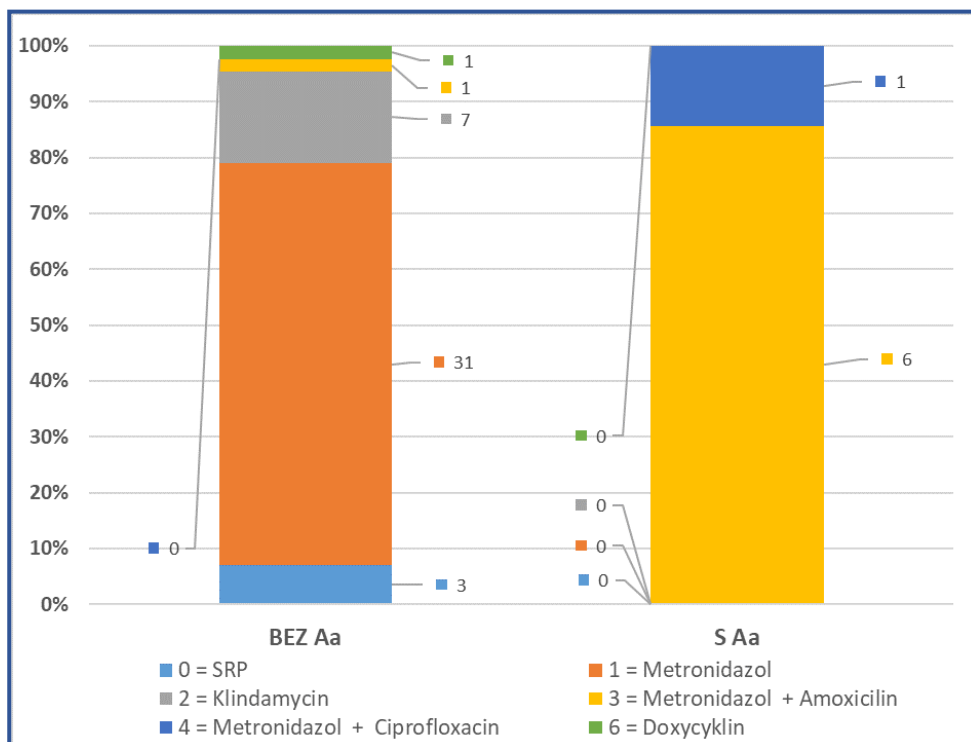
V 86 % případů, tedy u 43 pacientů z 50, byla hodnota detekce bakterie *Aa* negativní. Danou situaci vyobrazují grafy 23 a 24. Výsledky provedených DNA testů vedly ve většině těchto případů k doporučení léčby *Metronidazolem*, a to přesně u 31 pacientů z uvedených 43. V procentuálním vyjádření se bavíme přibližně o 72 %. Druhým nejzastoupenějším doporučeným antibiotikem v této skupině pacientů byl *Klindamycin*. Ten byl indikován sedmi pacientům. V tomto případě se bavíme přibližně o 16 %. U třech pacientů, tedy v rámci této skupiny přibližně v 7 % případů, nebylo indikováno žádné z antibiotik, doporučení laboratoře obsahovalo pouze důkladný scaling a následné ošetření kořene zubu – SRP. Po jednom pacientovi z této 43-členné skupiny čítají případy indikace *Doxycyklinu* a také kombinace *Metronidazolu* s *Amoxicilinem*.

Naopak v celých 14 % případů, tedy u zbylých 7 pacientů z 50, byla hodnota detekce bakterie *Aa* pozitivní. Zde jsme se s doporučením léčby *Metronidazolem* nesetkali. Ve většině případů byla na základě doporučení

laboratoře nasazena antibiotická kombinace *Metronidazolu* a *Amoxicilinu*. Toto doporučení dostalo šest pacientů. Jeden pacient byl indikován k terapii *Metronidazolem* v kombinaci s *Ciprofloxacinem*.



Graf 23 - Indikace ATB terapie v závislosti na detekci Aa - početní vyjádření



Graf 24 - Indikace ATB terapie v závislosti na detekci Aa - procentuální vyjádření

4.3.3.6 VÝSLEDKY PODSTATNÉ PRO HYPOTÉZU 6

Graf 25 vyobrazuje doporučenou ATB terapii jednotlivým pacientům ze souboru. Tmavá lomená čára v grafu vyjadřuje počet pacientů, u kterých byl v jednotlivých letech proveden odběr na DNA analýzu PP bakterií. Z grafu je zřejmé, že počet vyšetřených pacientů v rámci let značně kolísá. Sloupce vždy dosahují výšky odpovídající 100 %, barvy pak přísluší konkrétnímu druhu ATB společně s jeho dávkovacím schématem.

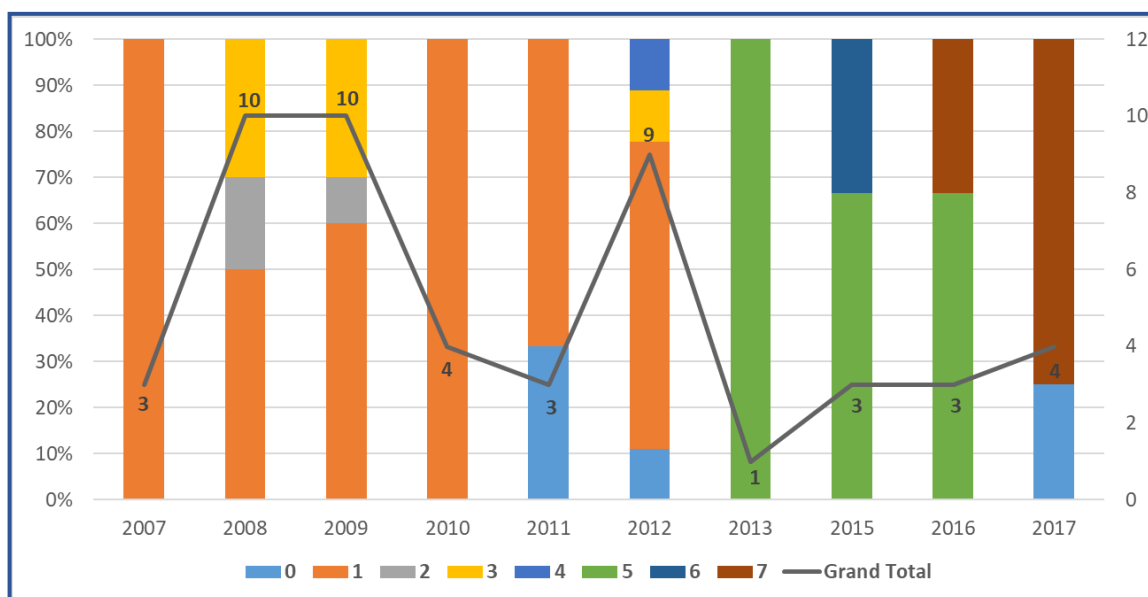
Metronidazol byl v rámci souboru těchto 50 pacientů indikován ze všech ATB v průběhu jednotlivých let nejmasivněji. V roce 2007, 2010 i 2013 bylo jeho zastoupení z hlediska indikace ATB terapie 100%. V ostatních letech, ve kterých se s jeho indikací setkáváme, bylo ale případů jeho doporučení stále více než 50 %. Mezi lety 2012 a 2013 se však pro toto ATB změnilo dávkovací schéma z „500mg 2x denně, min 8 dní“ na „400mg 3x denně, 7 dní“.

S kombinací *Metronidazolu* a *Amoxicilinu* se nejvíce setkáváme v letech 2008 a 2009, kdy tato kombinace byla pokaždé nasazena ve 30 % případů. Tu samou ATB kombinaci poté shledáváme už jen v roce 2012, kdy byla indikována jednomu pacientovi z devíti, tedy v 11,11% zastoupení. V tom samém roce se také u jednoho pacienta z devíti, tedy ve stejném procentuálním zastoupení, setkáváme s doporučením nasazení kombinace *Metronidazolu* a *Ciprofloxacinu*.

Rok 2017 je jediný rok, kdy laboratoř na základě výsledků laboratorní analýzy PP bakterií nevydala doporučení k terapii *Metronidazolem*. A právě v tomto roce bylo třem pacientům ze čtyř doporučeno antibiotikum *Klindamycin*. Stejně jako v tomto roce, tak i v roce 2016, kdy toto ATB bylo indikováno jednomu pacientovi ze tří, se užívání *Klindamycinu* řídilo schématem „300mg 4x denně, 7 dní“. Naproti tomu v ostatních dvou letech, ve kterých byl *Klindamycin* indikován, tedy v roce 2008 a 2009, se jeho dávkování řídilo schématem „300mg 2x denně, min 8 dní“. V následující tabulce (tabulka 17) je uveden význam jednotlivých čísel použitých v grafu 25. Jednotlivým číslům v grafu přísluší různé barvy.

Tabulka 17 - Význam čísel použitých v grafu 25

0	<i>SRP - Scaling and root planing</i>
1	<i>Metronidazol 500mg 2x denně, min 8 dní</i>
2	<i>Klindamycin 300mg 2x denně, min 8 dní</i>
3	<i>Metronidazol 500mg 2x denně + Amoxicilin 500mg 2x denně, min 8 dní</i>
4	<i>Metronidazol 500mg 2x denně + Ciprofloxacin 250mg 2x denně, min 8 dní</i>
5	<i>Metronidazol 400mg 3x denně, 7 dní</i>
6	<i>Doxycyklin 200 mg 1x denně – 1. den a 100 mg 1x denně – 2. až 19. den</i>
7	<i>Klindamycin 300mg 4x denně, 7 dní</i>



Graf 25 - Proměnlivost ATB terapie v čase

4.3.4 Kazuistika

Součástí této podkapitoly je kazuistika tzv. „odběrového“ pacienta, u něhož jsem měla možnost provést odběr vzorků obsahu parodontálních kapes určených k verifikaci parodontálních patogenů testem *micro – IDent® plus*. Vyšetření předcházelo ústní souhlas pacienta s tím, že odběr mohu provést já jako studentka 3. ročníku oboru Dentální hygienistka na 3. LF UK, a to pod přímým dohledem *odb. as. MUDr. Adela El – Lababidiho, Ph.D.* v jeho ordinaci.

ZÁKLADNÍ ANAMNESTICKÉ ÚDAJE:

ROK NAROZENÍ	1961
VĚK	56 let
POHLAVÍ PACIENTA	Muž
KUŘÁK	Ano
HYPERSENZITIVA K ATB	Ne
PRACOVNÍ DIAGNÓZA	Těžká chronická parodontitida

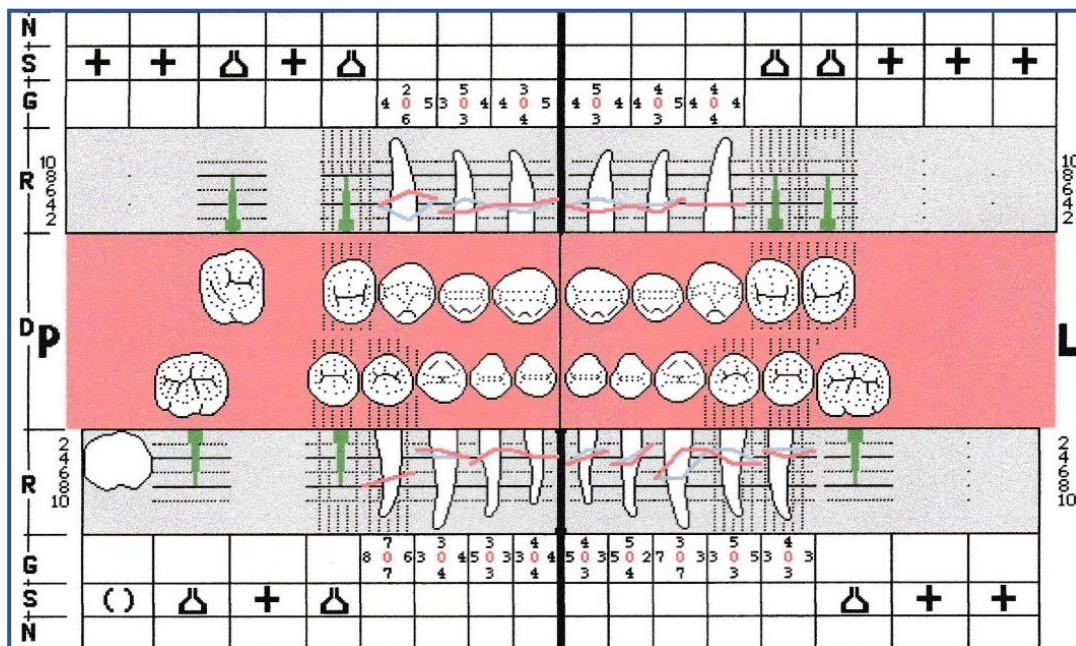
ROZŠÍŘUJÍCÍ INFORMACE:

Pacient se dostavil na doporučení *prof. Foltána* do ordinace *MUDr. Lababidiho* se žádostí o posouzení stavu parodontu a případné převzetí do péče. Návštěva proběhla **6. 11. 2017**. Již dříve byl pacient parodontologicky léčen, avšak na jiném pracovišti. Jednalo se například o prohloubení dolního vestibula.

NÁLEZ – 6. 11. 2017:

- Mikrobiální povlak v cervikálních partiích zubů a na jejich aproximálních ploškách, zánětlivý lem marginální gingivy, parodontální kapsy do hloubky 8 mm (obrázek 35) – na sondáž místy bolestivé a krvácející, mobilita I. st. u dolních řezáků, mobilita II. st. u zubu 44, difúzní horizontální resorpce kosti obou alveolárních výběžků s nepravidelnými vertikalizacemi zvláště výraznými v dolní čelisti, klínovitá resorpce kosti alveolárního výběžku na distální plošce zubu 44, vícečetné gingivální recesy.

- PBI = 23 / 24, CPI-TN = 3



Obrázek 35 - Grafické znázornění stavu chrupu a parodontu „odběrového“ pacienta ke dni 6. 11. 2017

TERAPEUTICKÝ PLÁN ZE DNE 6. 11. 2017:

Po komplexním parodontologickém vyšetření byly naplánovány 2 návštěvy u dentální hygienistky k zajištění kvalitního mechanického ošetření parodontu. Společně s tím byl naplánován i termín odběru vzorků obsahu parodontálních kapes k mikrobiologické analýze a verifikaci parodontálních patogenů:

Profesionální dentální hygiena 1

DATUM 15. 11. 2017

PBI 23 / 24

Profesionální dentální hygiena 2

DATUM 13. 12. 2017

PBI 11 / 24

Odběr vzorků

DATUM 19. 12. 2017

MAXIMÁLNÍ HLOUBKA PARODONTÁLNÍCH KAPES 8 mm

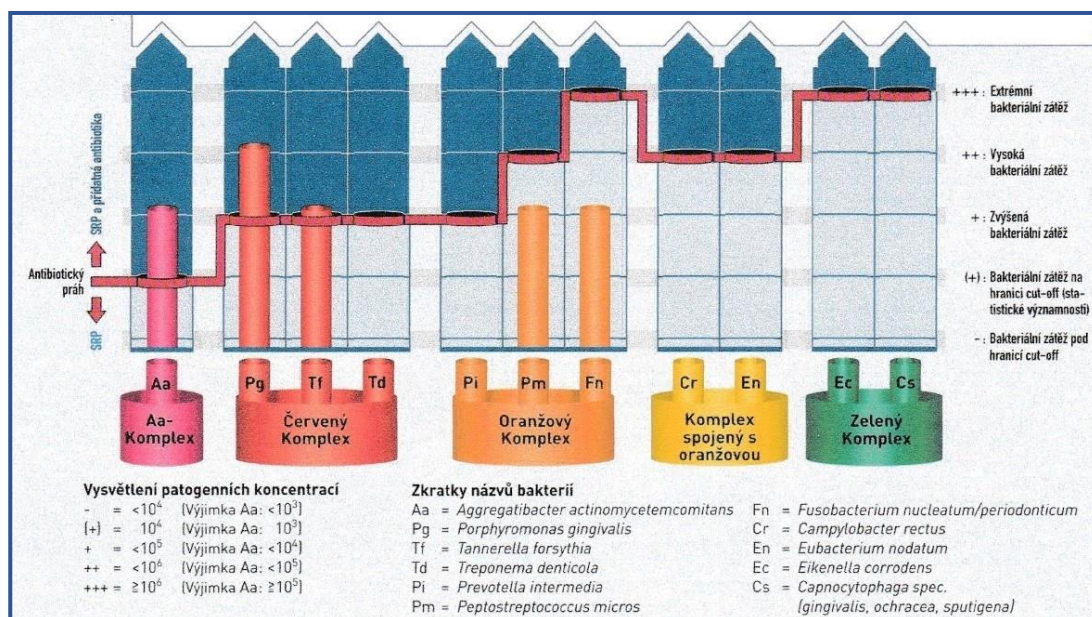
VĚK PACIENTA V DOBĚ ODBĚRU VZORKU 56 let

MÍSTA ODBĚRU VZORKU 13 DB, 22 MB, 31 MB,

VÝSLEDNÁ ZPRÁVA Z LABORATOŘE:

Mikrobiologická analýza skončila výsledkem, který vykazoval takovou koncentraci bakterií, již bylo nutno léčit v návaznosti na následující komplexy (obrázek 36): Růžový komplex (Aa), Červený komplex (Pg, Tf). S ohledem na klinický nález tento stav vyžadoval nejen mechanickou léčbu (SRP), ale i následné podání ATB (Winkelhoffův koktejl – *Amoxicilin* 3 x 500 mg / den a *Metronidazol* 3400 mg / den; 7 dní).

Následovalo důkladné poučení pacienta. ATB léčba započala **29. 1. 2018** a **31. 1. 2018** také proběhl kvalitní scaling a root planing spolu se subgingiválním pískováním. Ke zhodnocení úspěchu terapie byla doporučena kontrolní analýza zhruba 8 týdnů po ukončení ATB léčby.



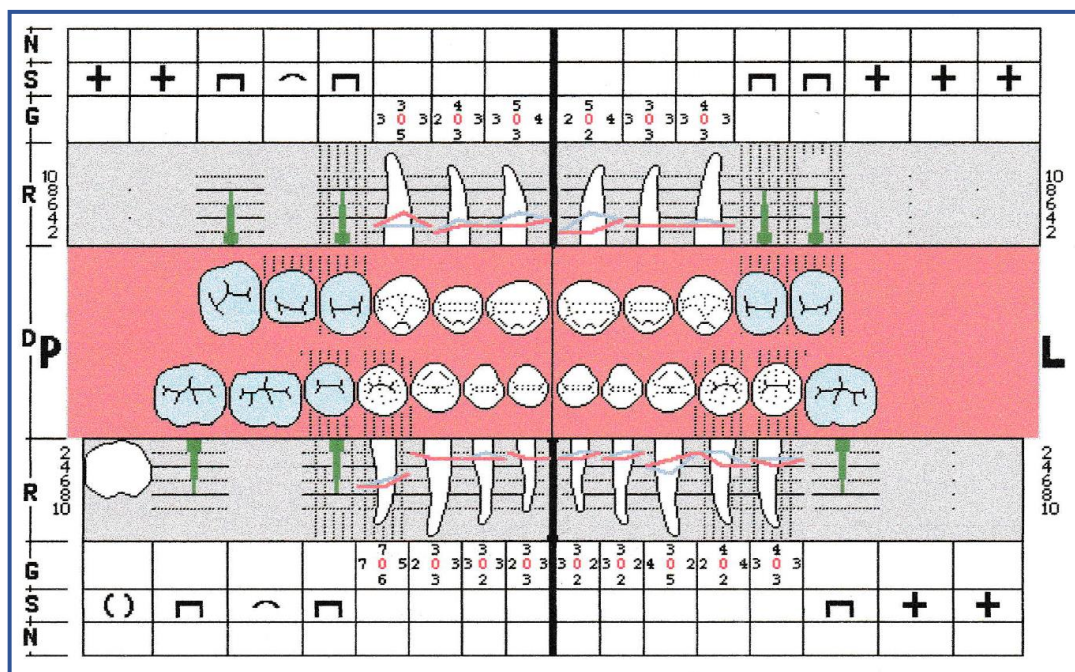
Obrázek 36 - Výsledek bakteriálního osídlení parodontálních kapes „odběrového pacienta“ ke dni 22. 1. 2018

KONTROLNÍ PARODONTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Kontrolní parodontologické vyšetření se uskutečnilo **18. 4. 2018**. Stav se po provedení subgingiválního ošetření zubů horní i dolní čelisti, a to v ATB cloně dle výsledků testu micro – IDent® plus, s výjimkou zubu 44 zlepšil.

NÁLEZ - 18. 4. 2018:

- Pouhé stopy měkkých mikrobiálních povlaků v cervikálních partiích zubů a na jejich aproximálních ploškách. Gingiva byla převážně klidná, růžové barvy, bez výraznějších známek zánětu. Parodontální kapsy do 5 mm kromě zubu 44, kde nacházíme 7 mm. Mobilita I. st. u dolních řezáků, II. až III. st. u zubu 44. Difúzní horizontální resorpce kosti alveolárního výběžku v horní i dolní čelisti s nepravidelnými vertikalizacemi zvláště výraznými v dolní čelisti. Na distální straně zubu 44 nacházíme resorpci klínovitou. Vícečetné gingivální recesy.
- **PBI = 11 / 24, CPITN = 3**



TERAPEUTICKÝ PLÁN ZE DNE 18. 4. 2018:

1. Extrakce zubu 44 a patřičná rehabilitace vzniklého defektu
2. Kontrolní test micro - IDent® plus na podzim 2018 nebo na jaře 2019
3. Pravidelný recall doplněný o výkony profesionální DH

5 DISKUSE

Teoretická část mé bakalářské práce je poněkud obsáhlejší, čehož si jsem vědoma. Problematika týkající se plakem podmíněných parodontopatií je však rozsáhlé a na různých úrovních velice diskutované téma. Proto jsem se tuto problematiku snažila vykreslit z mnoha úhlů pohledu.

V rámci praktické části této bakalářské práce jsem měla k dispozici výsledky molekulárně-biologických DNA testů 50 pacientů. Do některých statistických vyhodnocení jsem však byla nucena zahrnout pouze 40 z nich. Důvodem byla okolnost týkající se rozdílu v počtu sledovaných a posléze analyzovaných bakterií. U 10 pacientů ze souboru bylo analyzováno pouze 5 hlavních parodontálních patogenů, v některých případech proto nebylo možné tyto pacienty srovnávat s ostatními, u kterých bylo analyzováno všech 11 parodontopatogenů. V prvopočátku totiž stomatologická praxe *LababidiDent s.r.o.*, odkud jsem čerpala data pro svoji bakalářskou práci, pracovala spíše s testy na 5 hlavních parodontálních patogenů s názvem micro – IDent® a teprve po nějaké době se v této ordinaci začaly více využívat testy s rozšířeným rejstříkem 11 bakterií, testy micro – IDent® plus. Ke změně vedlo množství získaných zkušeností a přesvědčení o významu DNA testů v rámci parodontologické praxe jako takové. Nelze opomenout ani stránku finanční. DNA testy byly a doted' jsou pro většinu naší populace peněžně nákladné, proto v dřívějších letech, kdy s mikrobiologickou analýzou PP druhů parodontologická pracoviště ještě neměla tolik zkušeností, nebylo na místě pacienty nutně přesvědčovat o zaplacení testu na analýzu všech 11 parodontopatogenů.

Součástí praktické části je také kazuistika pacienta, na němž jsem měla možnost zkusit si samotný odběr vzorku obsahu parodontálních kapes. Do statistické analýzy dat však nebyl zahrnut, jelikož výsledková zpráva z mikrobiologické laboratoře přišla až poté, co jsem soubor dat již měla uzavřen. Zmíněná výsledková zpráva je přiložena na samém konci této práce.

5.1 Výstupy jednotlivých hypotéz

Retrospektivní analýza dat podpořila většinu vyslovených hypotéz. Ne všechny výsledky bylo však možno považovat za statisticky významné. V tomto duchu bylo nutné uvažovat například u hypotézy 1, jelikož právě v jednom z jejích hledisek sledovaná skupina čítala pouhé 4 pacienty.

HYPOTÉZA 1

*Na základě všeobecně platných indikací molekulárně-biologických DNA testů lze v souboru předpokládat převahu agresivních parodontitid a závažnějších forem chronických parodontitid. Proto v rámci laboratorních výsledků můžeme usuzovat na výskyt bakterií červeného a oranžového komplexu u závažnějších forem chronických parodontitid a na výskyt *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) u agresivních forem parodontitid.*

Soubor pacientů jsem na základě dat popisujících klinický stav pacienta v době odběru vzorku rozdělila na 2 skupiny. Po vyřazení 10 pacientů, které jsem do tohoto konkrétního zkoumání z důvodu nekompletního rejstříku sledovaných bakterií nezahrnula, bylo do zkoumání zavzato 40 pacientů. První skupinu tvořili pouze 4 pacienti, pacienti s přidělenou pracovní diagnózou „*agresivní parodontitida*“. Do druhé skupiny byli zařazeni ti pacienti, jejichž příznaky onemocnění odpovídaly pracovní diagnóze „*pokročilá (střední) chronická parodontitida*“ nebo „*těžká chronická parodontitida*“. Druhou skupinu tvořilo 36 pacientů. Výsledky mikrobiologických testů však ukázaly, že pouze u 1 ze 4 pacientů (tedy ve 25 %) s pracovní diagnózou „*agresivní parodontitida*“ byl detekován Aa, byť je tato bakterie považována za nejdůležitější, dominantní patogen agresivních parodontitid. Je zřejmé, že výsledek je v rozporu například s tím, co píše Dřížhal [66] ve své publikaci, kde uvádí, že agresivní typy parodontitid jsou vyvolány odlišným bakteriálním zastoupením v porovnání s chronickými typy parodontitid a u agresivních parodontitid se podle něho v parodontálních kapsách ve vyšší míře vyskytuje právě Aa. Na tomto místě je však bezpodmínečně nutné přihlédnout k počtu sledovaných jedinců, který nebyl

nikterak velký. Tento fakt nám proto nedovoluje definitivně konstatovat, že daný výsledek první část hypotézy 1 nepotvrzuje, jelikož jej **není možno považovat za statisticky významný**. Na základě výsledku ale lze říci, že ne vždy se pracovní diagnóza, tedy diagnóza, kterou na základě zjištěných klinických a rentgenologických příznaků předpokládáme, ztotožňuje s přesnou diagnózou zjištěnou mikrobiologickým vyšetřením. Z tohoto pohledu vnímám molekulárně-biologické DNA testy jako velice užitečné. Meyer [60] dokonce uvádí, že pro používání ATB v léčbě onemocnění parodontu je pro stomatologa nutná znalost subgingiválně se vyskytujících patogenů a mikrobiální citlivost vůči antibiotikům. Preskripce nevhodných ATB může nepochybně způsobit přemnožení některých bakterií se současným špatným léčebným výsledkem [60]. Druhá skupina pacientů již byla o poznání početnější. Tento fakt poukazuje na častější zastoupení onemocnění parodontu právě v jeho chronické formě. Podle Dřížhala [66] z roku 2007 agresivní formy onemocnění parodontu tvoří maximálně 5 % všech parodontitid. Zde, v souboru pacientů, se kterým jsem ve své bakalářské práci mohla pracovat, se zastoupení pacientů s pracovní diagnózou „agresivní parodontitida“ v celkovém souboru 50 pacientů vyšplhalo až na 8 %. U druhé skupiny pacientů, tedy u pacientů s pracovní diagnózou chronické parodontitidy, nebyla nalezena jediná bakterie červeného nebo oranžového komplexu, která by měla u všech sledovaných 36 pacientů nulový výskyt. V největší míře jsme se v rámci výsledků setkali s bakteriemi *Fn*, *Tf* a *Pm*. Bakterie *Fn* byla dokonce detekována u všech 36 pacientů. Naopak v nejmenší míře byla detekována bakterie *Pi*. **Výsledek druhé části hypotézy 1 můžeme tedy považovat za relativně statisticky významný a daný výsledek dokonce tuto část hypotézy potvrzuje.** Navíc bych ráda poukázala na výskyt bakterie *Fn*. Tato bakterie totiž byla detekována ve 100 % případů. Lze proto konstatovat, že daný výsledek potvrzuje tuto bakterii jako významného činitele maturace zubního mikrobiálního povlaku, kde, jak uvádí například Pokorný [35], má důležitou funkci „mostu“ mezi časnými a pozdními kolonizátory. I Koval'ová [71] ve své knize uvádí, že *Fn* je opravdu klíčovou složkou plaku obsaženého v parodontálních lézích. Má podle ní totiž vysokou schopnost přilnutí k širokému spektru G+ i G- bakterií.

HYPOTÉZA 2

Na základě dostupných informací o vztazích mezi jednotlivými bakteriálními komplexy lze předpokládat, že detekce bakterií žlutozeleného komplexu bude minimální až nulová, jelikož bakterie tohoto komplexu obvykle nebývají asociovány s bakteriemi komplexu červeného a oranžového.

Na základě společného stanoviska Německé parodontologické společnosti a Německé stomatologické společnosti jsou mikrobiologická vyšetření v rámci léčby parodontitidy indikována u následujících diagnóz: *agresivní parodontitida, těžká (generalizovaná) chronická parodontitida; parodontitidy, kde i přes adekvátní terapii dochází k progresivním ztrátám hlubších parodontálních tkání; a těžké parodontitidy asociované se systémovým onemocněním.* Z toho vyplývá, že prezentovaný soubor by se správně měl skládat právě z takových pacientů, jejichž pracovní diagnóza odpovídá jedné z uvedených čtyř. A jelikož jsme v prezentovaném souboru pacientů zaznamenali převážnou většinu pacientů, kterým byla přidělena pracovní diagnóza pokročilé nebo těžké chronické parodontitidy (92 %), u kterých se podle dostupných informací o etiologii tohoto onemocnění dá usuzovat na výskyt bakterií červeného a oranžového komplexu, můžeme i v rámci této bakalářské studie předpokládat, že nález bakterií žlutozeleného komplexu bude minimální až nulový. V problematice vztahů mezi jednotlivými bakteriálními komplexy se podle různých literárních zdrojů (př. [5]) totiž nepředpokládá společný výskyt bakterií žlutozeleného komplexu s bakteriemi komplexu červeného a oranžového. Detienville [5] dokonce uvádí, že koexistence bakterií žlutozeleného komplexu s bakteriemi červeného nebo oranžového komplexu je velice nepravděpodobná, nebo dokonce až nemožná. ***Zjištěné výsledky však předpoklad uvedený v hypotéze 2 ani zdaleka nepotvrdily.*** V rámci výsledků těchto mikrobiologických analýz jsme se totiž mohli přesvědčit, že výskyt bakterií žlutozeleného komplexu nebyl z pohledu detekce bakterií komplexu červeného a oranžového nijak zvlášť omezen. Je na místě podotknout, že obě bakterie žlutozeleného komplexu byly analyzovány

pouze za pomoci kompletního testu micro – IDent® plus. Pozitivní nález *Ec*, první z bakterií žlutozeleného komplexu, byl prokázán u 30 pacientů ze 40, tedy přesně v 75 %. Druhý bakteriální druh z řad bakterií žlutozeleného komplexu, *Cs*, byl prokázán dokonce v 85 % případů.

HYPOTÉZA 3

Na základě dostupných informací o bakteriálním osídlení parodontálních kapes kuřáků lze předpokládat, že právě u nich budou s velkou pravděpodobností detekovány tyto bakteriální druhy: Porphyromonas gingivalis (Pg), Tannerella forsythensis (Tf), Fusobacterium nucleatum (Fn), Peptostreptococcus micros (Pm) a Campylobacter rectus (Cr).

Dosavadní vědecké poznatky o složení orální mikroflóry u kuřáků, a to zejména o složení jejich subgingivální mikroflóry, se v různých literárních zdrojích rozcházejí. Řada studií prokázala, že zastoupení nejvýznamnějších parodontopatogenních druhů (*Aa*, *Pg*, *Pi*, *Tf*, *Td*) v subgingiválním plaku při chronické a agresivní parodontitidě včetně jejich refrakterních forem se v souvislosti s tím, zda pacient kouří, nebo ne, nemění. Uvedeným poznatkům však protiřečí jiné nálezy, které prokazují výše uvedené bakteriální druhy v parodontálních kapsách kouřících jedinců výrazně častěji. Existují i studie, které u kouřících jedinců naopak popisují mnohem frekventovanější výskyt bakterií typu *Tf*, *Fn*, *Pm*, *Cr*. Navíc, podle Slezáka a Ryšky [67], velmi diskutovaný nikotin ovlivňuje tendenci epitelových buněk k jejich kolonizaci některými PP mikroorganismy (např. *Aa*, nikoliv však *Pg*). Vliv kouření na změny orální mikroflóry je v současné době nejčastěji vykládán spíše jako důsledek přítomnosti oxidu uhelnatého v tabákovém kouři. Ten totiž podporuje růst anaerobních bakteriálních druhů a současně alteruje funkci PMN leukocytů [67]. V rámci své bakalářské práce a taktéž hypotézy 3 jsem se rozhodla u kuřáků zmapovat konkrétní skupinu bakterií. Jednalo se o *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros* a *Campylobacter rectus*. Prezentovaný soubor opět zahrnoval pouze 40 pacientů, jelikož bylo nutné využít výsledky molekulárně-

biologické analýzy všech 11 PP bakterií. Výsledky ukázaly, že až na jednu bakterii – *Fn*, má všech 5 uvedených bakterií svoji průměrnou hodnotu výskytu vyšší u kuřáků než u nekuřáků. **Hypotézu 3 se tedy podařilo potvrdit.**

HYPOTÉZA 4

*Na základě poznatků o patogenním potenciálu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) lze předpokládat, že pozitivní nález této bakterie bude korelovat s nálezem hlubokých parodontálních kapes spojených s výrazným ústupem kosti alveolárního výběžku, mladším věkem pacienta (<30 let) a častějším zastoupením žen.*

Dle úrovně současných poznatků lze tvrdit, že agresivní parodontitidy jsou vyvolány odlišným bakteriálním zastoupením v porovnání s chronickými typy parodontitid. U agresivních parodontitid nacházíme ve vyšším procentuálním zastoupení právě *Aa*. Jak již bylo popsáno v kapitole 3.5, právě *Aa* disponuje četnými významnými faktory, které zapříčiňují jeho vysokou virulenci a patogenitu. Onemocnění parodontu, ve kterém dominuje *Aa*, je charakteristické svoji rychlou progresí. Existují formy agresivních parodontitid, které se manifestují mezi 20. a 30. rokem – zde se hovoří o častějším zastoupení žen [66]. Na základě těchto poznatků jsem si dovolila uvést svoji další hypotézu – hypotézu 4. **Předpoklad o přítomnosti hlubokých parodontálních kapes v korelaci s nálezem *Aa* se na základě zjištěných výsledků potvrdil.** Skupina pacientů, v jejichž vzorku subgingiválního plaku nebyla detekována bakterie *Aa*, vykazovala v průměru menší hodnoty hloubky parodontální kapsy. Rozdíl však nebyl nikterak markantní. Druhá část hypotézy se zabývá otázkou věku v souvislosti s nálezem *Aa*. **Výsledky předpoklad o nižším věku pacientů v korelaci s nálezem *Aa* potvrzují.** Rozdíl ani zde však nebyl nijak významný. Průměrný věk pacientů, u nichž byla bakterie *Aa* detekována, činil 44 let a 6 měsíců. Naopak ve skupině pacientů, u kterých byl nález *Aa* negativní, byl průměrný věk o něco vyšší – odpovídal 47 roků a 9 měsícům. Třetím sledovaným aspektem bylo pohlaví pacientů v souvislosti s nálezem *Aa*. V první skupině pacientů, kde detekce *Aa* byla pod prahovou hodnotou, byl poměr mužů a žen 14:29. Ve druhé skupině, která

slučovala pacienty s pozitivním nálezem *Aa*, byl poměr mužů a žen 2:5. ***Poslední část hypotézy 4***, kde jsem předpokládala častější zastoupení ženského pohlaví v souvislosti s nálezem *Aa*, ***se tedy opět na základě výsledků podařilo potvrdit***. Na závěr je ale potřeba říci, že výsledky nelze považovat za striktně definitivní, jelikož v celkovém souboru 50 pacientů bylo pouze 7 pacientů s pozitivním nálezem *Aa*. U všech těchto pacientů však byla tato bakterie detekována minimálně ve vysokém množství.

HYPOTÉZA 5

*Na základě poznatků hovořících o nevhodnosti volby univerzálního plánu terapie pro obě formy onemocnění parodontu (agresivní parodontitidu i chronickou parodontitidu) lze předpokládat, že indikace ATB terapie se bude lišit podle toho, zda ve vzorku byly detekovány pouze anaerobní druhy, nebo zda společně s nimi byl detekován i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Aa)*.*

Robert Nölken [57] ve svém článku z časopisu Quintessenz klade důraz na používání důkazních mikrobiologických postupů k verifikaci parodontopatogenních bakterií ve stomatologické praxi. Podle něho mají tyto postupy řadu předností – zabraňují podcenění/přecenění potřebné parodontální léčby, významně zvyšují úspěšnost zvolené terapie a v neposlední řadě díky nim může být nasazená ATB léčba lépe cílená a z pohledu epidemiologického oprávněná. Jedině na základě laboratorního průkazu konkrétních PP bakterií se pacienti podrobují terapii přesně směřovanými systémově působícími ATB. Výběr těchto systémově působících látek se pak podle mikrobiologického nálezu může značně měnit [57]. Hypotézu 5 jsem sestavila právě na popud těchto poznatků, kdy jsem se snažila zjistit, do jaké míry zvolená ATB terapie závisí na druhu detekovaných bakterií ve vzorku subgingiválního plaku konkrétního jedince a v souvislosti s tím případně vyzdvihnout důležitost používání molekulárně-biologických analýz vzorků obsahu parodontálních kapes ve stomatologických praxích. Na úvod je však opět třeba říci, že skupina pacientů, u kterých byl nález *Aa* pozitivní, nebyla

nikterak početná – pouze 7 pacientů se totiž vyznačovalo pozitivním nálezem jak anaerobních druhů, tak *Aa*. Doporučená ATB terapie byla v této skupině pacientů dvojího druhu: 6 pacientům byla indikována kombinace Metronidazolu a Amoxicilinu, 1 pacientovi kombinace Metronidazolu a Ciprofloxacinu, a to jen proto, že pacient v anamnéze uvedl alergii na Peniciliny. Toto zjištění je v souladu s tím, co píše Ščigel ve své knize. Uvádí, že Metronidazol patří mezi vysoce efektivní přípravky vůči anaerobní mikroflóře spojené se záněty parodontu. Zvláště se podle něho efekt Metronidazolu vyzdvihuje při léčbě refrakterních parodontitid s prokázanými patogeny *Tannerella forsythensis* a *Porphyromonas gingivalis*. Ale teprve až ve spojení s Amoxicilinem se dosahuje synergického efektu vůči *Aa* [38]. S uvedenými antibiotickými kombinacemi jsme se ve druhé skupině pacientů setkali v zanedbatelném množství – pouze u 1 pacienta ze 43, jednalo se o kombinaci Metronidazolu a Amoxicilinu. Na základě popsaných výsledků lze tedy s jistotou říci, že **předpoklad uvedený v hypotéze 5 se potvrdil**. Tento fakt mne utvrdil v tom, že molekulárně-biologické DNA testy na průkaz PP bakterií mají ve stomatologické praxi své místo. Důležité je však stále myslet na to, že indikace pacienta k mikrobiologické analýze, která má vést ke zvolení nejvhodnějšího antibiotika, přichází až tehdy, pokud klinický stav pacienta po pečlivě provedeném SRP a po optimalizování stavu domácí ústní hygieny nejeví známky předpokládaného zlepšení. Až poté je totiž třeba uvažovat o tom, že v přilehlé tkáni nebo v mechanicky těžko přístupných oblastech parodontální kapsy nežádoucí patogeny setrvávají a jsou tak příčinou přetrvávající parodontální infekce se všemi jejími příznaky [57].

HYPOTÉZA 6

Citlivost bakterií na ATB látky se obecně časem mění, proto i zde lze předpokládat, že citlivost PP bakteriálních druhů se v průběhu let změnila. Předpoklad by měl v rámci tohoto souboru přinést změny týkající se typů antibiotik indikovaných podle doporučení ATB centra, a to i při podobném nálezů bakteriálního spektra v rámci odlišných vzorků.

Součástí získaných laboratorních výsledků je vždy i navržení pomocné ATB léčby – druhu a dávkování příslušného léku podle závěrů DGP (Německá asociace parodontologů) a DGZMK (Německá asociace stomatologů). Stomatolog tak obdrží srozumitelné informace, které mu umožní sestavit léčebný plán, jež je „na míru šitý“ pacientovi [59].

Na základě výsledků dat tohoto souboru pacientů lze jednoznačně říci, že v průběhu let se změnila doporučení pro denní dávkování jednotlivých ATB. Příkladem může být *Metronidazol*. U něho mezi lety 2012 a 2013 nastala změna ve smyslu častějších denních dávek a kratší doby užívání – původní schéma „500mg 2x denně, min 8 dní“ bylo nahrazeno dávkovacím schématem „400mg 3x denně, 7 dní“. Dalším ATB, u kterého jsme se mohli přesvědčit o změně dávkovacího schématu, byl *Klindamycin*. S jeho změněným dávkovacím schématem jsme se setkali v roce 2016 a 2017. Doporučení pro dávkování *Klindamycinu* se opět změnilo ve smyslu častějších denních dávek a kratší doby užívání – původní schéma „300 mg 2x denně, min 8 dní“ bylo nahrazeno dávkovacím schématem „300mg 4x denně, 7 dní“. Výsledky, které vychází z dat prezentovaného 50 členného souboru, také poukazují na to, že jediným rokem, kde jsme se nesetkali s doporučením léčby *Metronidazolem*, byl rok 2017. V roce 2017, tedy v posledním z 10 zkoumaných let, se molekulárně-biologickému testu DNA podrobili 4 pacienti. Za základě výsledků jejich testů byl ve 3 případech indikován *Klindamycin* (300mg 4x denně, 7 dní) a v 1 případě pouhý *SRP*. Podrobná deskripce dat, která popisují míru detekce jednotlivých PP bakterií ve vzorku, mne přivedla k závěru, že v roce 2017 byl minimálně v 1 případě indikován *Klindamycin* na úkor *Metronidazolu*. Nejméně 1 test z roku 2017 by totiž v předešlých letech na základě svých vyhodnocených dat popisujících míru detekce jednotlivých PP bakterií přinesl doporučení k léčbě *Metronidazolem*, nikoliv *Klindamycinem*, jako tomu ve finále bylo. Je tedy zřejmé, že v rámci tohoto souboru pacientů došlo v posledních letech ke změnám v doporučeních pro ATB terapii - a to jednak ve smyslu jiných dávkovacích schémat, ale dokonce také ve smyslu doporučení jiných druhů ATB – **hypotézu 6 se podařilo potvrdit.**

5.2 Výstup kazuistiky „odběrového“ pacienta

Pacient byl na základě parodontologického vyšetření navržen pro verifikaci parodontálních patogenů pomocí molekulárně–biologického DNA testu micro – IDent® plus. Provedená verifikace parodontálních patogenů vedla k výsledku, který vykazoval přítomnost bakterií *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Pm* a *Fn*. Jelikož pacient v anamnéze uvedl, že kouří, je na místě na výsledky mikrobiologické analýzy pohlédnout očima této problematiky. Jak již bylo zmíněno v první kapitole diskuze, Slezák a Ryška [67] ve svém díle uvádí, že názory na složení orální mikroflóry kuřáků se různí. Podle nich totiž existují publikace, které tvrdí, že orální mikroflóra kuřáků v porovnání s nekuřáky se liší. Zde je třeba uvést skupinu bakterií, jejíž výskyt je podle některých těchto výzkumů frekventovanější u kuřáků – tuto skupinu tvoří *Aa*, *Pg*, *Pi*, *Tf*, *Td*, *Fn*, *Pm*, *Cr*. Naproti těmto výzkumům však stojí jiné literární zdroje, které podle Slezáka a Ryšky [67] ústní mikroflóru kuřáků a nekuřáků považují za srovnatelnou.

Po srovnání nálezu s poznatky uvedenými v předešlém odstavci je zřejmé, že všechny bakterie detekované v parodontálních kapsách spadají do skupiny, jež je na základě díla Slezáka a Ryšky [67] podle některých literárních zdrojů uváděna jako „pro kuřáky typická“. Můžeme tedy konstatovat, že nález je v souladu s tzv. „pro odlišnost kuřáků a nekuřáků hovořícími“ výzkumnými poznatky.

Pacient ve svých anamnestických údajích dále uvedl, že u něho nebyla zjištěna hypersenzitivita na žádné z ATB, proto ani následná doporučená ATB terapie nebyla nikterak omezena. V návaznosti na zjištěné parodontální patogeny byl pacientovi navržen *Winkelhoffův koktejl* – tedy kombinace *Metronidazolu* a *Amoxicilinu*. Tento fakt je v souladu například s tím, co píše Ščigel [38] ve své knize. Uvádí, že *Metronidazol* patří mezi vysoce efektivní přípravky vůči anaerobní mikroflóře spojené se záněty parodontu. Zvláště se podle něho efekt *Metronidazolu* vyzdvihuje při léčbě refrakterních parodontitid s prokázanými patogeny *Tf* a *Pg*. Zde bych ráda podotkla, že oba tyto patogeny byly v pacientově parodontálních kapsách nalezeny. Kromě nich byl ale nalezen i *Aa*. Synergického účinku proti anerobům a *Aa* se však, podle

Ščigela [38], dosahuje teprve až ve spojení *Metronidazolu s Amoxicilinem*. To může být vysvětlením, proč byl pacient léčen pomocí Winkelhoffova koktejlu. Díky provedenému molekulárně-biologickému DNA testu se pacient podrobil terapii přesně směřovanými ATB a nasazená systémová léčba mohla být maximálně cílená a epidemiologicky oprávněná. Tento fakt přináší výhodu nejen jedinci samotnému, ale i celé populaci ve smyslu ATB rezistence, jak uvádí ve svém díle Nölken [57].

Pracovní diagnóza „odběrového“ pacienta ještě před provedením molekulárně-biologického DNA testu zněla „*Těžká chronická parodontitida*“. Klinický stav pacienta totiž skoro žádným směrem neodpovídal případné přítomnosti *Aa*, i přesto tomu v reálu ale nakonec tak bylo. Podle laboratorní analýzy totiž jedinec, kromě jiného, trpěl zvýšenou zátěží právě bakterií *Aa*. Podle Dřízhala [66] bakterii *Aa* ve vyšším procentuálním zastoupení nacházíme zejména u *agresivních typů parodontitid* a ty se podle něho vyznačují poměrně rychlou destrukcí závěsného aparátu zubu, menším množstvím nahromaděného plaku, menším množstvím zubního kamene, výrazným úbytkem kosti alveolárního výběžku zpozorovatelným na RTG snímku. Dochází k rozestupování zubů hlavně v horním frontálním úseku, což bývá často spojeno s jejich narůstající mobilitou. Když tato fakta srovnáme se situací v dutině ústní „odběrového“ pacienta, nenalezneme zde skoro žádnou spojitost. V jeho dutině ústní byly totiž nalezeny nánosy zubního mikrobiálního povlaku (v cervikálních oblastech a na aproximálních ploškách), které dozajista souvisí s nálezem zánětlivého lemu marginální gingivy. Mobilita nebyla zjevná u zubů horního frontálního úseku, nýbrž u zubů dolního frontálního úseku (II. st) a taktéž navíc u zubu 44 (I. st). Resorpce kosti alveolárního výběžku se jevila jako difúzní, horizontální, navíc s nepravidelnými vertikalizacemi zvláště výraznými v dolní čelisti. Až tyto zmíněné vertikalizace by nás mohly navést na myšlenku přítomnosti *Aa*. Naopak u chronické parodontitidy je podle Dřízhala [66] často dominující krvácení dásní, jež je přítomno od počátku onemocnění. Zde je třeba podotknout, že pacient byl kuřák, a i přesto jsme se v rámci parodontologického vyšetření přesvědčily o krvácivosti jeho dásní. PBI bylo při

vyšetření stanoveno na hodnotu 23. Z toho tedy můžeme usuzovat, že pokud by pacient nekouřil a přišel by k nám se stejným problémem, za stejných podmínek, krvácení by bylo 4x tak masivnější. Maximální hloubka parodontálních kapes u zubů horní čelisti byla v případě „odběrového“ pacienta 5 mm. Tato hodnota charakterizuje stále kategorii *mělkých parodontálních kapes*. Naopak v dolní čelisti byla tato hloubka stanovena na 8 mm. Zmíněná hodnota však stále spadá do kategorie *středně hlubokých parodontálních kapes*. Tato fakta opět nejsou v souladu s mnohými dosavadními poznatky o *Aa* v souvislosti s hloubkou parodontálních kapes. Nejen podle Dřízhala [66] je totiž pozitivní detekce *Aa* dávana do souvislosti s nálezem *hlubokých parodontálních kapes*, tedy kapes s hloubkou 8,5 mm a více.

Po necelých pěti měsících bylo zjevné, že nasazená ATB léčba společně s patřičným mechanickým ošetřením kořenů zubů a dostatečnou spoluprací pacienta přinesla očekávané zlepšení. Sondáž parodontálních kapes byla maximální hloubky 5 mm. Výjimkou byla hloubka sondáže u zubu 44, kde bylo naměřeno 7 mm. Tento zub byl však následně indikován k extrakci. Já osobně jsem doufala ve zlepšení ještě o něco větší, vysvětlením však může být to, že pacient je kuřák. Zoulová [69] ve svém článku z časopisu StomaTeam případný neúspěch v léčbě parodontitidy u kuřáků vysvětluje tím, že u nich jsou hojivé procesy v dutině ústní značně ztíženy. V souvislosti s kouřením kromě jiného dochází ke změně v imunitní reakci sliny a gingivální tkáně, k redukci buněčné vitality, snížené schopnosti fagocytózy a ke změnám ve vaskularizaci gingivy. Ve volné a připojené gingivě se nachází menší počet kapilár, které jsou užší a nepravidelných tvarů. I proto je navíc samotné hodnocení krvácení na sondáž u kuřáků obecně zkreslující.

6 ZÁVĚR A DOPORUČENÍ DO PRAXE

Plakem podmíněná onemocnění parodontu jsou z epidemiologického hlediska nejrozšířenější onemocnění na světě. Hned za nimi má své místo zubní kaz. Dokonce už v 80. letech 20. století Dřízhal se Slezákem poukázali na masivní zasažení populace tímto onemocněním, kdy pronesli, že až 80 % naší populace ve věku 20 až 74 let potřebuje léčbu parodontu. V diagnostice a terapii plakem podmíněných parodontopatií, a to zejména v jejich agresivní a těžké chronické formě, značný posun přinesla metoda PCR a na ní založené molekulárně-biologické DNA testy. Ty umožňují přesně určit příčinné mikroorganismy a na základě hlášení světových ATB center i stanovit nejúčinnější ATB terapii. V dnešní době je totiž klinicky i laboratorně potvrzeno, že kombinované mechanicko-chemické ošetření pacientů s agresivní, těžkou chronickou či refrakterní parodontitidou je mnohem účinnější a trvanlivější než „pouhé“ mechanické ošetření. Právě s ohledem na vysokou incidenci a prevalenci těchto onemocnění v naší společnosti a stále nižší věkovou kategorii postižených by bylo vhodné, resp. žádoucí tyto testy začlenit do standardních parodontologických terapeutických plánů. Povaha testů a jejich jednoduchost, pokud jde o samotný odběr vzorků v ordinaci, umožňuje delegovat jejich provedení na dentální hygienistky. V souvislosti s těmito diagnostickými postupy však do jisté míry stále zůstává diskutabilní a problematická otázka finanční náročnosti. Je třeba podotknout, že tato otázka je pouze relativní, neboť včasná diagnostika a terapie plakem podmíněných parodontopatií bezpochyby otevírá bránu dlouhodobým finančním úsporám. Předchází se tak celé řadě nežádoucích důsledků a komplikací, jejichž řešení je často technicky i finančně náročné a v určitých případech může i přesahovat finanční možnosti pacienta. Druhý pohled, který vyobrazuje DNA testy jako užitečné a přínosné, nás přivádí k problematice adjuvantní ATB terapie. Běžně doporučovanou ATB clonou při doplňkové chemické léčbě plakem podmíněných parodontopatií bývá kombinace Metronidazolu a Amoxicilinu (tzv. Winkelhoffův koktejl). Toto doporučení je zcela běžné a vychází z dlouhodobých klinických zkušeností. Podání Winkelhoffova koktejlu bez

předchozího zjištění povahy mikroorganismů přítomných v parodontálních kapsách by ale mohlo vést k vytvoření rezistence některých bakteriálních kmenů na určitá ATB, případně k podání přípravku s nezcela odpovídajícím terapeutickým výsledkem. I z těchto důvodů se provádění molekulárně-biologických DNA testů jeví jako přínosné a užitečné. Je však třeba podotknout, že tyto testy by se pro ověření aktuální skladby mikroflóry osidlující oblast parodontu měly opakovat cca ve 2 ročních intervalech. Smyslem tohoto postupu je ověřit případné nežádoucí obnovení patogenních kmenů a zajistit jejich případnou opětovnou eliminaci za pomoci odpovídající ATB terapie.

Obecně lze říci, že závažnost plakem podmíněných onemocnění parodontu vystupuje do popředí i ve spojení s celkovým zdravotním stavem jedince. V současné době se studuje vztah parodontitidy a onemocnění typu diabetes mellitus, kardiovaskulárních poruch, infarktu myokardu, centrální mozkové příhody, plicních infekcí. Existuje i několik studií poukazujících na souvislost parodontopatií jako rizikového faktoru předčasného porodu a nízké porodní hmotnosti novorozence. Plakem podmíněné parodontopatie se dokonce mohou stát vážným, zdraví i život ohrožujícím faktorem u pacientů s imunosupresí. I proto bychom obtíže spojené s plakem podmíněnými zánětlivými pochody na parodontu neměli podceňovat. Každý zánět v lidském těle je třeba řešit. Ústa, konkrétně parodont, dle mého názoru nepředstavují výjimku.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1 ROUBALÍKOVÁ, Lenka. *Co je dobré vědět o hygieně dutiny ústní I.* Medicína pro praxi. Olomouc: Solen, 2007, roč. 4, č. 2, s. 76-79. ISSN1803-5310.
- 2 DŘÍZHAL, Ivo, Květa PROUZOVÁ a Eva KOVAĽOVÁ. *K problematice ústní hygieny.* Medicína pro praxi. 2011, roč. 8, č. 5, s. 242-245. ISSN: 1214-8687.
- 3 NEDVĚDOVÁ, Milena. *Úloha orální hygieny v prevenci plakem podmíněných onemocnění dutiny ústní.* Praktický lékař, 2008, roč. 88, č. 3, s. 150-155. ISSN: 0032-6739
- 4 ŠKACH, Miroslav. *Základy parodontologie: učebnice pro lékařské fakulty pro studující stomatologie.* Praha: Avicenum, 1984.
- 5 DETIENVILLE, Roger. *Léčba závažných parodontitid.* Praha: Quintessenz, 2005. ISBN 80-903181-6-9.
- 6 BÁRTOVÁ, Jiřina et al. *Jak se organismus brání stoupající zátěži cizorodých antigenů.* Praha. Česká imunologická společnost, 2003. str. 41-47. ISBN: 80-239-5415-6.
- 7 JANATA, Jiří et al. *Perspektivy poročilých molekulárních metod při detekci parodontálních patogenů.* Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství. 2006, roč. 106-54, č. 5, s. 127-130. ISSN: 1213-0613; 1805-4471.
- 8 SLEZÁK, Radovan, Aleš RYŠKA a Katarína KOSORÍNOVÁ. *Plakem podmíněné gingivitidy. Kouření a dutina ústní* [online]. LF UK v Hradci Králové, 2004, [cit. 05.04.2017]. Dostupné z: <http://www.lfhk.cuni.cz/patanat/koureni/060502.htm>.
- 9 STAROSTA, Martin. *Parodontopatie - současný pohled na etiologii a terapeutické možnosti.* Lékařské listy. 2010, roč. 59, č. 22 (Stomatologie), s. 29-31.
- 10 SLEZÁK, Radovan. *Preklinická parodontologie.* Hradec Králové: Nucleus HK, 2007. Edice zubního lékařství - Nucleus HK. ISBN 978-80-87009-18-5.
- 11 URBAN, František. *Stomatologie. 2. přepracované a doplněné vydání.* Praha: Avicenum, 1976. Učebnice pro lékařské fakulty.
- 12 MOROZOVA, Julia. *Zánětlivé parodontopatie.* Praktické lékařství, 2016, roč. 12, č. 2, s. 58-61. ISSN: 1801-2434; 1803-5329.

- 13 STAROSTA, Martin a Hana ADÁMKOVÁ. *Repetitorium parodontologie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2002. ISBN 80-244-0574-1.
- 14 WEBER, Thomas. *Memorix zubního lékařství*. 2. české vyd. Přeložila Magdalena KOŤOVÁ. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3519-1.
- 17 DŘÍŽHAL, Ivo, Květa PROUZOVÁ a Jarmila ÚLEHLOVÁ. *Parodontitida – jak ji poznat a léčit*. Praktické lékařství, 2012, roč. 8, č. 4, s. 164-166. ISSN: 1801-2434; 1803-5329.
- 18 HELLWIG, Elmar, Thomas ATTIN a Joachim KLIMEK. *Záchovná stomatologie a parodontologie*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0311-4.
- 19 STRAKA, Michal. *Etiopatogeneze parodontitid a jejich vztah k systémovým onemocněním*. Přeložil David MONDOK. Praha: StomaTeam, 2016. ISBN 978-80-904377-3-9.
- 20 DŘÍŽHAL, Ivo a Radovan SLEZÁK. *Základy parodontologie: skripta pro posl. lékařské fak. Univ. Karlovy v Hradci Králové*. Praha: Karolinum, 1993. ISBN 8070668113.
- 22 MUTSCHELKNAUSS, Ralf E. a Peter DIEDRICH. *Praktická parodontologie: klinické postupy*. Praha: Quintessenz, 2002. Quintessenz bibliothek. ISBN 80-902118-8-7.
- 23 ŠEDÝ, Jiří a René FOLTÁN. *Klinická anatomie zubů a čelistí*. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-312-7.
- 24 DOSTÁLOVÁ, Tatjana a Michaela BEZNOSKOVÁ SEYDLOVÁ. *Stomatologie*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-2700-4.
- 25 GOJIŠOVÁ, Eva. *Stomatologie*. Praha: Karolinum, 1999. ISBN 80-7184-865-4.
- 26 EICKHOLZ, Peter. *Parodontologie od A do Z: základy pro praxi*. Praha: Quintessenz, 2013. ISBN 978-80-86979-10-6.
- 27 KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. Praha: Grada, 2001. ISBN 80-7169-770-2.
- 29 SLEZÁK, Radovan. *Praktická parodontologie*. Praha: Quintessenz, 1995. Quintessenz bibliothek. ISBN 80-901024-8-4.
- 30 MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie: minimum pro praxi*. Praha: Triton, 1999. ISBN 80-7254-032-7.

- 31 SVOBODA, Otto. *Stomatologická propedeutika: celostní učebnice pro lékařské fakulty, pro posluchače stomatologie*. Ilustrovala Blažena ČERNOŠKOVÁ. Praha: Avicenum, 1984. Učebnice pro lékařské fakulty.
- 32 Nezávislý zdroj informací o zubním lékařství. » *Nechcikazy.cz*. Nezávislý zdroj informací o zubním lékařství. » *Nechcikazy.cz* [online]. Copyright © 2018 [cit. 18.04.2018]. Dostupné z: <http://www.nehcikazy.cz/>
- 33 KILIAN, Jan. *Prevence ve stomatologii*. 2. rozš. vyd. Praha: Galén, 1999. ISBN 80-7262-022-3.
- 35 POKORNÝ, Zdeněk. *Mikrobiální analýza parodontitid*. Doktorandská disertační práce. Lékařská fakulta univerzity palackého v Olomouci. Olomouc, 2012.
- 36 KOVALOVÁ, Eva, Tatiana KLAMÁROVÁ a Alica MÜLLER. *Orální hygiena*. Prešov: Vydavateľstvo Prešovskej univerzity, 2012. ISBN 978-80-555-0567-1.
- 37 VOTAVA, Miroslav, Zdeněk BROUKAL a Jiří VANĚK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. Brno: Neptun, 2007. ISBN 978-80-86850-03-0.
- 38 ŠČIGEL, Vladimír. *Antibiotika v praxi zubního lékaře*. Praha: Quintessenz, 2005. ISBN 80-903181-9-3.
- 39 BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
- 40 RYŠKOVÁ, Olga. *Mikrobiologie pro studující zubního lékařství*. Praha: Univerzita Karlova, 2004. ISBN 80-246-0834-0.
- 42 SAGAR, Aryal. *Differences Between Exotoxins and Endotoxins*. Online Microbiology Notes [online], 2015, [cit. 09.09.2017]. Dostupné z: <https://microbiologyinfo.com/differences-between-exotoxins-and-endotoxins/>.
- 43 BURÝŠEK, Ladislav. *Mikrobiologicky kontrolovaná léčba parodontitid a periimplantitid*. Quintessenz. Parodontologie. 2006, Roč. 7, č. 1, s. 76-78. ISSN: 1213-0125.
- 44 AOKI, Yukari et al. *Analysis of immunostimulatory activity of Porphyromonas gingivalis fimbriae conferred by Toll-like receptor*

2. Biochemical and biophysical research communications, 2010, 398/1, str. 86-91.
- 45 KANTARCI, A. a T. E. VAN DYKE. *Neutrophil-mediated host response to Porphyromonas gingivalis*. Journal of the International Academy of Periodontology, 2002, 4.4: str. 119-125.
- 46 DIERICKX, Kurt et al. *Adhesion of Porphyromonas gingivalis. Serotypes to Pocket Epithelium*. Journal of periodontology, 2003, 74.6, str. 844-848.
- 47 WARA-ASWAPATI, Nawarat et al. *RANKL upregulation associated with periodontitis and Porphyromonas gingivalis*. Journal of periodontology: 2007, 78.6, str. 1062-1069.
- 48 FIVES-TAYLOR, Paula M. et al. *Virulence factors of Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Periodontology 2000, 1999, 20.1, str. 136-167.
- 49 BROGAN, Joseph M., et al. *Regulation of Actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxin expression: analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains*. Infection and Immunity, 1994, 62.2, str. 501-508.
- 50 MEGHJI, S. et al. *Bone resorbing activity of surface-associated material from Actinobacillus actinomycetemcomitans and Eikenella corrodens*. Journal of medical microbiology, 1994, 41.3, str. 197-203.
- 51 MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentářky*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4865-8.
- 52 POLENÍK, Pavel. *Subgingivální ošetření v praxi zubního lékaře*. Praha: Quintessenz, 2008. ISBN 978-80-86979-04-5.
- 54 HOLT, Stanley C. et al. *Virulence factors of Porphyromonas gingivalis*. Periodontology 2000, 1999, 20.1, str. 168-238.
- 55 MARUNA, Pavel. *Proteiny akutní fáze: fyziologie, diagnostika, klinika*. Praha: Maxdorf, 2004. ISBN 80-85912-05-8.
- 56 JULÁK, Jaroslav a Emil PAVLÍK. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékařství*. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1792-3.
- 57 NÖLKEN, Robert. *Mikrobiologické testy - součást moderní stomatologické praxe. Molekulární genetická analýza parodontopatogenních bakterií*. Quintessenz. Parodontologie. 2007, Roč. 8, č. 2, s. 75-78. ISSN: 1213-0125.

- 58 EICKHOLZ, P.; B. DANNEWITZ a T. S. KIM. *Antibiotika in der Parodontologie*. Quintessenz, 2004, 55: 375-388.
- 59 NABORS, Thomas W. et al. *Parodontální terapie - diagnosticky podložená likvidace infekce*. Quintessenz. Parodontologie, 2007, roč. 8, č. 1, s. 33-37. ISSN: 1213-0125.
- 60 MEYER, Stefan. *Antibiotika v parodontologii*. StomaTeam. Praha. 2009, roč. 9, č. 3, s. 12-20. ISSN: 1214-147X.
- 61 Informace pro stomatology. Eurotex s.r.o.. *EUROTEX s.r.o. OBCHODNÍ SPOLEČNOST* [online]. Copyright © 2013 EUROTEX s.r.o. [cit. 15.08.2017]. Dostupné z: <http://eurotexasro.eu/dds/informace-pro-stomatology>.
- 62 GEN-TREND, s.r.o. *Vývoj molekulárně-biologických diagnostických testů*. GEN-TREND, s.r.o. - Úvod [online]. Copyright © GEN [cit. 15.08.2017]. Dostupné z: <http://www.gentrend.cz/vyvoj-molekularne-biologickych-diagnostickych-testu>.
- 63 Protean. *DNA diagnostika pro stomatologii*. Protean Ltd. [online]. Copyright © 208 [cit. 26.11.2017]. Dostupné z: <https://www.protean.bio/cz/infekcni-diagnostika/dna-diagnostika-pro-stomatologii>.
- 64 WINKELHOFF, A. J. van; T. E. RAMS a J. SLOTS. *Systemic antibiotic therapy in periodontics*. Periodontology: 2000, 1996, 10.1: 45-78.
- 65 MOMBELLI, A. a A. J. van WINKELHOFF. *The systemic use of antibiotics in periodontal therapy*. Berlin: Quintessentz. 1997. 38-77.
- 66 DŘÍŽHAL, Ivo. *Parodontitida - onemocnění ohrožující chrup*. Stomatologická klinika LF UK a FN, Hradec Králové. Medicína pro praxi. 2007, Roč. 4, č. 9, s. 358-360. ISSN: 1214-8687.
- 67 SLEZÁK, Radovan a Aleš RYŠKA. *Kouření a dutina ústní*. Praha: Havlíček Brain Team, 2006. Malá ČSK edice. ISBN 809036096-3.
- 68 HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ. *Základy imunologie*. 4. vyd. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.
- 69 ZOULOVÁ, Andrea. *Kuřák v péči dentální hygienistky*. Praha, StomaTeam, 2012, roč. 12, č. 5, s. 49-54. ISSN: 1214-147X

- 70 SLEZÁK, Radovan et al. *Přehled novějších možností ve farmakoterapii nemocí ústní sliznice, slinných žláz a parodontu*. Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství. 2013, roč. 113-61, č. 3, s. 71. ISSN: 1213-0613; 1805-4471.
- 71 KOVALOVÁ, Eva et al. *Parodontológia III. Chemická liečba parodontu, 2. časť. Anatómia, mikrobiológia, patológia, diagnostika, genetika*. Vydavateľstvo Michala Vaška, Prešov, 2017. 1. vydání. ISBN: 978-80-8198-007-7.

ODBORNÁ SDĚLENÍ:

- 15 NORKIN, Jana. *Jak efektivně stabilizovat parodontitidu – teorie vs. praxe*. Přednáška v rámci Odborné konference ADH ČR 2018. Praha, 6.4.2018.
- 16 KOVALOVÁ, Eva. *Guided Biofilm Therapy, zmeny prístupu v diagnostike a nechirurgickej liečbe parodontu*. Přednáška v rámci programu akademie JPS. Praha, 19.1.2018.
- 21 EL-LABABIDI, Adel. *Anatomie parodontu*. Přednáška parodontologie – zimní semestr. Praha, 9.10.2017.
- 28 EL-LABABIDI, Adel. *Anatomie parodontu*. Přednáška parodontologie – zimní semestr. Praha, 23.10.2017.
- 34 EL-LABABIDI, Adel. *Mikrobiální zubní povlak*. Přednáška parodontologie – letní semestr. Praha, 26.3.2018.
- 41 EL-LABABIDI, Adel. *Mikrobiální zubní povlak*. Přednáška parodontologie – letní semestr. Praha, 9.4.2018.
- 53 EL-LABABIDI, Adel. *Nespecifická imunitní reakce hostitelského organismu*. Přednáška parodontologie – zimní semestr. Praha, 6.11.2017.

8 SOUHRN

Cíl: Cílem této bakalářské práce bylo především shrnout dosavadní poznatky o plakem podmíněných parodontopatiích a poukázat na proces vzniku těchto onemocnění v širších souvislostech. Na druhém místě mou snahou bylo statisticky zmapovat výskyt nejčastěji zastoupených parodontálních patogenů uplatňujících se při vzniku tohoto onemocnění a taktéž vnést do povědomí existenci molekulárně-biologických DNA testů, se kterými souvisí i adjuvantní ATB terapie.

Soubor a metodika: Do souboru praktické části bylo zahrnuto **51** pacientů, kteří podstoupili verifikaci PP bakteriálních druhů za pomoci komerčně dostupného molekulárně-biologického DNA testu. Na základě laboratorního vyhodnocení DNA testů **50** pacientů byla získána data, jež byla poté retrospektivně analyzována a statisticky zpracovávána ve smyslu vyslovených hypotéz. Jeden pacient ze zmíněných 51 byl využit k demonstraci postupu odběru vzorku obsahu parodontálních kapes a jeho data byla zpracována do kazuistiky.

Výsledky: Při pohledu na výsledky plynoucí ze statistického zpracování dat se nám otevírá například problematika antagonistického vztahu bakterií žlutozeleného komplexu s bakteriemi komplexu červeného a oranžového, o které pojednává hypotéza 2. Na základě poznatků o vztahu mezi jednotlivými bakteriálními komplexy se totiž společný výskyt těchto dvou bakteriálních jednotek nepředpokládá. V rámci výsledků mikrobiologických analýz jsme se ale mohli přesvědčit, že výskyt bakterií žlutozeleného komplexu nebyl z pohledu detekce bakterií komplexu červeného a oranžového nijak zvlášť omezen, což je v rozporu s mnohými publikacemi. Dále jsem se například rozhodla zmapovat konkrétní bakteriální druhy u skupiny kuřáků a zjistila jsem, že všech pět sledovaných bakteriálních druhů má svoji průměrnou hodnotu výskytu vyšší u kuřáků než u nekuřáků. V rámci retrospektivního výzkumu jsem také přišla na to, že doporučení ATB center k podávání doplňkové ATB terapie se v průběhu let mění, ať už ve smyslu dávkovacího schématu nebo i druhu ATB jako takového, čímž se mi podařilo podpořit hypotézu 6.

Závěr: Plakem podmíněná onemocnění parodontu jsou z epidemiologického hlediska nejrozšířenější onemocnění na světě. Včasné rozpoznání příznaků těchto onemocnění ať už stomatologem, nebo dentální hygienistkou je vždy klíčové. U rozvinutých onemocnění, tedy v případech, kdy se nepodařilo onemocnění zachytit včas a kdy ani důkladné opakované mechanické ošetření povrchů kořenů zubů nedosáhlo kýženého výsledku a je potřeba přistoupit k systémové ATB léčbě, nám v rámci terapeutického plánu mohou pomoci komerčně dostupné molekulárně-biologické DNA testy, které zachytí konkrétní bakteriální kmeny vyskytující se v parodontálních kapsách. Díky nim může být nasazená ATB léčba lépe cílená a z epidemiologického pohledu oprávněná.

9 SUMMARY

Goal: The aim of this bachelor thesis primarily was to summarize the research of plaque induced periodontal diseases including the process of their development. The second aim of the thesis was to investigate the occurrence of periodontal pathogens that cause periodontal diseases. Finally, the aim was to shed light on usage of molecular-biologic DNA tests for diagnostic purposes and respective ATB therapies.

Sample and methodology: The sample consisted of 51 patients who underwent bacterial PP verification using a commercially available molecular-biologic DNA test. Data of 50 patients was retrospectively analyzed to validate previously formulated hypotheses. One of the patients was selected to demonstrate the process of taking a sample of periodontal pocket contents and the case was thoroughly described.

Results: The study showed incidence of yellow-green bacterial complex together with red and orange bacterial complex, which is in opposition to findings of other researchers who describe antagonist relationship between these bacterial complexes. Secondly, the study showed increased incidence of all five bacterial complexes in smoking patients relative to non-smokers. Finally, the study showed that the recommendations of ATB centers regarding ATB treatments has been changing throughout the years, both in terms of dosage and type of active substance.

Conclusion: From an epidemiologic view, plaque induced periodontal diseases are the most frequent diseases in the world. An early diagnosis by a dentist or dental hygienist is crucial. When the disease develops, i.e. the disease was not diagnosed early enough and mechanical treatment is not effective anymore, commercially available molecular-biologic DNA tests might be of help to identify bacterial strains present in periodontal pockets and inform the choice of systematic ATB treatment. Thanks to such diagnosis, the ATB treatment is likely to be better targeted and justified from an epidemiological view.

10 SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

SEZNAM OBRÁZKŮ:

Obrázek 1 - Sagitální a frontální řez parodontem	14
Obrázek 2 – Pohled na zdravou gingivu a alveolární sliznici	15
Obrázek 3 - Vrstvy orálního gingiválního epitelu.....	18
Obrázek 4 - Funkční průběh vláken marginální a připojené gingivy na sagitálním řezu	20
Obrázek 5 - Funkční průběh vláken na horizontálním řezu	20
Obrázek 6 - Komponenty DG uzávěru	24
Obrázek 7 - Vrstvy spojovacího epitelu.....	25
Obrázek 8 - Základní formy parodontálních kapes	28
Obrázek 9 - Rozdělení kostních defektů.....	29
Obrázek 10 - Schematické rozdělení parodontálních kapes	27
Obrázek 11 - Obarvený zubní plak na zubních ploškách	30
Obrázek 12 - Formování biofilmu	31
Obrázek 13 - Postupné vyzrávání zubního povlaku.....	33
Obrázek 14 - Zubní kámen v dolním frontálním úseku	36
Obrázek 15 - Schéma bakteriální buňky.....	44
Obrázek 16 - Iniciální léze	50
Obrázek 17 - Časná léze	51
Obrázek 18 - Etablovaná léze	51
Obrázek 19 - Pokročilá léze.....	52
Obrázek 20 - Přehled krevních elementů.....	58
Obrázek 21 - Schéma fagocytózy	61
Obrázek 22 - Schéma imunoglobulinu.....	65
Obrázek 23 - DENATURACE (1 min, 94°).....	75
Obrázek 24 - HYBRIDIZACE (45 sec, 54°)	75
Obrázek 25 - ELONGACE (2 min, 72°)	76
Obrázek 26 - Výhradně mechanická terapie parodontální léze, jež je infikována Aa	82

Obrázek 27 - Výhradně systémová ATB terapie parodontální léze, jež je infikována Aa	82
Obrázek 28 - Kombinovaná mechanicko-ATB terapie parodontální léze, jež je infikována Aa.....	83
Obrázek 29 - Odběrový set	93
Obrázek 30 - Obsah odběrového setu	93
Obrázek 31 - Součásti odběrového setu	94
Obrázek 32 - Sada čepů a transportní zkumavka	94
Obrázek 33 - Ilustrační foto: odběr materiálu	95
Obrázek 34 - Ilustrační foto: ukládání čepu do zkumavky	95
Obrázek 35 - Grafické znázornění stavu chrupu a parodontu „odběrového“ pacienta ke dni 6. 11. 2017	116
Obrázek 36 - Výsledek bakteriálního osídlení parodontálních kapes „odběrového pacienta“ ke dni 22. 1. 2018	117
Obrázek 37 - Grafické znázornění stavu chrupu a parodontu „odběrového“ pacienta ke dni 18. 4. 2018.	118

SEZNAM TABULEK:

Tabulka 1 - Srovnání supragingiválního a subgingiválního plaku	36
Tabulka 2 - Přehled výskytu bakteriálních kmenů u různých stavů parodontu	39
Tabulka 3 - Přehled bakteriálních komplexů	40
Tabulka 4 - Významné parodontální patogeny	46
Tabulka 5 - Srovnání nespecifické a specifické imunity	57
Tabulka 6 - Přehled funkcí jednotlivých složek komplementu	68
Tabulka 7 - Přehled nejdůležitějších interleukinů	70
Tabulka 8 - Bakteriální detekční spektrum jednotlivých DNA testů	77
Tabulka 9 – Příklady ATB terapie v systémové léčbě parodontitid	86
Tabulka 10 - Přehled analyzovaných bakterií testy společnosti Eurotex s.r.o. 91	
Tabulka 11 - Patogenní koncentrace platné pro všech 11 patogenů kromě Aa 92	
Tabulka 12 - Patogenní koncentrace platné pouze pro Aa	92
Tabulka 13 - Význam písmenných zkratk použitých v praktické části	96
Tabulka 14 - Význam čísel použitých ve výsledkových grafech a tabulkách praktické části	97
Tabulka 15 - Vyhodnocení 10-ti členné skupiny podrobené testu micro – IDent®	97
Tabulka 16 - Vyhodnocení 40-ti členné skupiny podrobené testu micro – IDent® plus	99
Tabulka 17 - Význam čísel použitých v grafu 25	114



SEZNAM GRAFŮ:


Graf 1 - Rozložení věkových kategorií	89
Graf 2 - Procentuální zastoupení pohlaví	89
Graf 3 - Procentuální zastoupení kuřáků.....	90
Graf 4 - Procentuální zastoupení provedených DNA testů	91
Graf 5 - Detekce Aa	100
Graf 6 - Detekce Pg	100
Graf 7 - Detekce Tf.....	101
Graf 8 - Detekce Td	101
Graf 9 - Detekce Pi	102
Graf 10 - Detekce Pm.....	102
Graf 11 - Detekce Fn	102
Graf 12 - Detekce Cr.....	103
Graf 13 - Detekce En.....	103
Graf 14 - Detekce Ec	104
Graf 15 - Detekce Cs	104
Graf 16 - Detekce Aa u pacientů s pracovní diagnózou agresivní parodontitida	106
Graf 17 - Detekce bakterií červeného a oranžového komplexu u pacientů s pracovní diagnózou „pokročilá (střední)“ či „těžká chronická parodontitida“	107
Graf 18 - Průměrný výskyt jednotlivých bakteriálních druhů.....	108
Graf 19 - Bakteriální osídlení parodontálních kapes kuřáků v porovnání s nekuřáky.....	109
Graf 20 - Průměrná max. hloubka parokapsy v době odběru vzorku (v mm)	110
Graf 21 - Průměrný věk pacientů v době odběru vzorku.....	110
Graf 22 - Zastoupení mužů a žen v závislosti na detekci Aa	111
Graf 23 - Indikace ATB terapie v závislosti na detekci Aa – početní vyjádření	112
Graf 24 - Indikace ATB terapie v závislosti na detekci Aa – procentuální vyjádření	112
Graf 25 - Proměnlivost ATB terapie v čase.....	114

11 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Ukázka výsledkové laboratorní zprávy testu micro – IDent® plus

Příloha 1: Ukázka výsledkové laboratorní zprávy testu micro – IDent® plus



Výsledková zpráva micro-IDent® plus

DNA test na přítomnost markerů 11 periodontopatogenních bakterií

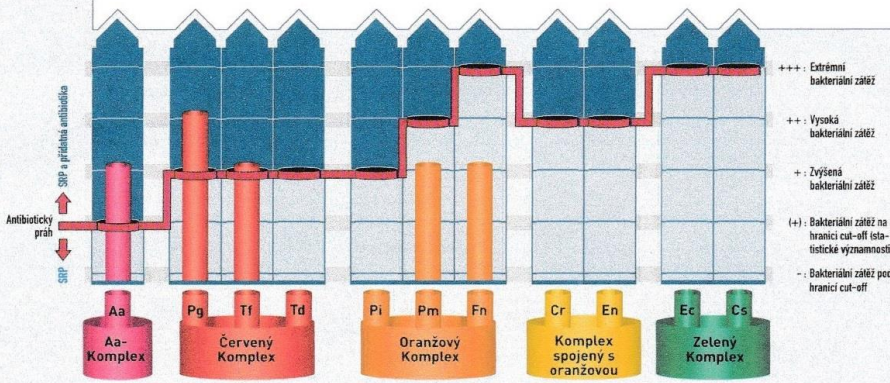
Eurotex s.r.o. | V Zátěši 111 | 281 66 Jevany | Česká republika

MUDr. Adel El - Lababidi, Ph.D.
 Jankovcova 788/16
 170 00 Praha 7

Jméno pacienta	x 005/2017	
Datum narození	00.00.1961	
Vzorek Datum odběru vzorku	Vzorek s více čepy	19.12.2017
Analýza	Vstupní analýza	
Číslo analýzy	A00823578	
Datum analýzy	22.01.2018	
Zub/zuby	13DB / 21MB / 31MB / 33DB / 44DB	
Maximální hloubka chobotu	8	

Výsledek

Mikrobiologická analýza vzorku Patient x 005/2017 skončila výsledkem, který vykazuje takovou koncentraci bakterií, již je nutno léčit v návaznosti na následující komplexy: Aa-Komplex (Aa), Červený Komplex (Pg, Tf). I S ohledem na klinický nález tento stav vyžaduje nejen mechanickou léčbu (SRP), ale i následné podání antibiotik (schéma 7, Schéma 7, Winkelhoffův koktejl. Tj. Amoxicilin 3 x 500 mg/den a Metronidazol 3 x 400mg/den, 7 dní). Ke zhodnocení úspěchu terapie doporučujeme kontrolní analýzu zhruba 8 týdnů po ukončení antibiotické léčby.



Vysvětlení patogenních koncentrací

- = 10^0 [Výjimka Aa: 10^1]
 (+) = 10^1 [Výjimka Aa: 10^2]
 + = 10^2 [Výjimka Aa: 10^4]
 ++ = 10^4 [Výjimka Aa: 10^5]
 +++ = >= 10^5 [Výjimka Aa: >= 10^6]

Zkratky názvů bakterií

Aa = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Fn = *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*
 Pg = *Porphyromonas gingivalis* Cr = *Campylobacter rectus*
 Tf = *Tannerella forsythia* En = *Eubacterium nodatum*
 Td = *Treponema denticola* Ec = *Eikenella corrodens*
 Pi = *Prevotella intermedia* Cs = *Capnocytophaga spec.*
 Pm = *Peptostreptococcus micros* [gingivalis, ochracea, sputigena]

Kouření	Pacient je kuřák. Tento rizikový faktor by měl být vzat v úvahu při tvorbě individuálního léčebného plánu. Doporučujeme analýzu genetického rizika pomocí testovací assaye GenoType IL-1.
Alergie na antibiotika	Jak bylo uvedeno v žádance, pacient (jméno pacienta) neví o žádné hypersenzitivitě k antibiotikům. Prosím mějte na zřeteli, že je nutné si vyjasnit stav pacientových alergií na antibiotika před jakoukoliv antibiotickou léčbou.
Další poznámky	Pokročilá parodontitida

Eurotex s.r.o. | V Zátěši 111 | 281 66 Jevany | Česká republika | tel.+fax: +420 222 316 089 | www.eurotexsro.eu

© 2012 Hain Lifescience GmbH | 17147 Nethen, Germany | www.hain-lifescience.de; micro-IDent® is a registered trademark of Hain Lifescience GmbH