PRACE ORYGINALNE

Dent. Med. Probl. 2012, **49**, 4, 543–549
ISSN 1644-387X
© Copyright by Wroclaw Medical University
and Polish Dental Society

Łukasz Konopka[A–F], Ewa Brzezińska-Błaszczyk[A, D–F]

Stężenie MMP-8 w płynie kieszonki dziąsłowej u pacjentów chorych na przewlekłe zapalenie przyzębia*

Gingival Crevicular Fluid MMP-8 Level in Patients with Chronic Periodontitis

Zakład Immunologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

A – koncepcja i projekt badania; **B** – gromadzenie i/lub zestawianie danych; **C** – opracowanie statystyczne; **D** – interpretacja danych; **E** – przygotowanie tekstu; **F** – zebranie piśmiennictwa

Streszczenie

Wprowadzenie. Istotną rolę w destrukcji oraz remodelingu tkanek w przebiegu chorób przyzębia odgrywają metaloproteinazy macierzy (MMP), w tym szczególnie MMP-8. Niektóre informacje sugerują, że pomiar stężenia MMP-8 w płynie kieszonek dziąsłowych (GCF) mógłby być pomocny w obiektywizacji diagnostyki periodontologicznej i oceny stanu przyzębia.
Cel pracy. Ocena stężenia MMP-8 w GCF u pacjentów z łagodnym, umiarkowanym oraz zaawansowanym przewlekłym zapaleniem przyzębia i w grupie kontrolnej oraz zbadanie korelacji między stężeniem MMP-8 w GCF a stanem klinicznym przyzębia.
Materiał i metody. Badaniem objęto 92 pacjentów (45 kobiet i 47 mężczyzn). Stan przyzębia oceniano na podstawie utraty przyczepu łącznotkankowego (CAL), wskaźnika dziąsłowego (GI), aproksymalnego wskaźnika płytki (API) oraz głębokości kieszonki (PD). Grupę kontrolną stanowiło 16 pacjentów ze zdrowym przyzębiem. Pacjenci z rozpoznanym przewlekłym zapaleniem przyzębia zostali podzieleni na 3 podgrupy według wykładnika CAL: pacjenci z łagodnym zapaleniem przyzębia (CAL 1–2 mm; 23 osoby), pacjenci z umiarkowanym zapaleniem przyzębia (CAL 3–4 mm, 29 osób) i pacjenci z zaawansowanym zapaleniem przyzębia (CAL ≥ 5 mm, 24 osoby). Pobieranie GCF odbywało się za pomocą sterylnych pasków absorpcyjnych z metylocelulozy, które delikatnie umieszczano w szczelinie dziąsłowej lub kieszonce przyzębnej na 30 s. Stężenie MMP-8 w GCF oceniano z zastosowaniem metody ELISA.
Wyniki. Stężenie MMP-8 w GCF u pacjentów z zapaleniem przyzębia było istotnie statystycznie większe niż u pacjentów ze zdrowym przyzębiem. U pacjentów z zaawansowanym przewlekłym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF wynosiło średnio 18,5 ± 6,4 ng/ml i było 7-krotnie większe niż u pacjentów ze zdrowym przyzębiem. U pacjentów z zaawansowanym przewlekłym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF było większe niż u pacjentów z łagodną (średnie stężenie MMP-8 wynosiło 5,8 ± 6,3 ng/ml) i umiarkowaną (średnie stężenie MMP-8 było równe 16,0 ± 8,6 ng/ml) postacią choroby. Analiza statystyczna wykazała, że istniała silna korelacja między stężeniem MMP-8 w GCF a głębokością kieszonek (r = 0,72), wskaźnikiem GI (r = 0,61) oraz poziomem utraty przyczepu łącznotkankowego (r = 0,60).
Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, że ocena stężenia MMP-8 w GCF może być obiektywnym wskaźnikiem stopnia zaawansowania zapalenia przyzębia (**Dent. Med. Probl. 2012, 49, 4, 543–549**).

Słowa kluczowe: zapalenie przyzębia, metaloproteinaza 8, płyn kieszonki dziąsłowej.

Abstract

Background. Matrix metalloproteinases (MMPs), especially MMP-8, play an important role in tissue destruction and remodeling in course of periodontal diseases. Some information suggests that the measurement of MMP-8 concentration in gingival crevicular fluid (GCF) may provide a useful and objective tool for periodontal diagnostics and *periodontium* assessment.

* Praca wykonana w ramach projektu finansowanego przez MNiSW (grant N N403 446237).

Objectives. Assessment of the MMP-8 levels in GCF in patients with mild, moderate and advanced chronic periodontitis as well as in control group and searching for the correlation between the levels of MMP-8 in GCF and periodontal clinical status.
Material and Methods. The study included 92 patients (45 females and 47 males). In each patient the clinical attachment loss (CAL), gingival index (GI), approximal plaque index (API), and pocket depth (PD) were recorded. The control group consisted of 16 patients with healthy *periodontium*. Patients with chronic periodontitis were divided into three groups according to CAL: patients with mild periodontitis (CAL from 1 to 2 mm, 23 patients), patients with moderate periodontitis (CAL from 3 to 4 mm, 29 patients), and patients with advanced periodontitis (CAL equal to or greater than 5 mm, 24 patients). GCF samples were collected with sterile Periopaper strips that were inserted into the gingival crevice until mild resistance was felt and then left in place for 30 s. MMP-8 levels in GCF were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).
Results. We found that level of MMP-8 increased with the severity of periodontitis. In patients with advanced chronic periodontitis level of MMP-8 in GCF was on average 18.5 ± 6.4 ng/ml and was sevenfold higher than in patients with healthy *periodontium*. Moreover, in patients with advanced chronic periodontitis level of MMP-8 in GCF was higher than in patients with mild (mean concentration of MMP-8 was 5.8 ± 6.3 ng/ml) and moderate (mean concentration of MMP-8 was 16.0 ± 8.6 ng/ml) periodontitis. Statistical analysis revealed strong correlation between the level of MMP-8 in GCF and PD (r = 0.72), GI index (r = 0.61) and clinical attachment loss (r = 0.60).
Conclusions. Our results indicated that the assessment of MMP-8 concentration in GCF might be an objective marker of periodontitis severity (**Dent. Med. Probl. 2012, 49, 4, 543–549**).

Key words: periodontitis, matrix metalloproteinase 8, gingival crevicular fluid.

Współcześnie uważa się, że bezpośrednią przyczyną uruchamiającą łańcuch zdarzeń prowadzących do rozwoju *gingivitis* i/lub *periodontitis* jest nagromadzenie płytki bakteryjnej. Z pewnością bakterie i ich produkty bezpośrednio inicjują rozwój zapalenia w tkankach przyzębia. Aktualne dane wskazują jednak, że destrukcja tkanek jest przede wszystkim wynikiem odpowiedzi immunologiczno-zapalnej gospodarza na drobnoustroje i jest bezpośrednio mediowana przez różnorodne czynniki humoralne wytwarzane i wydzielane przez komórki biorące udział w procesach obronnych w obrębie *periodontium*. Wśród ważnych czynników humoralnych odpowiedzialnych za rozwój procesów destrukcyjnych w przyzębiu wymienia się: liczne cytokiny prozapalne, w tym interleukinę (IL)-1β oraz czynnik martwicy nowotworu (TNF), chemokiny, eikozanoidy, białka ostrej fazy, składowe dopełniacza, a także enzymy gospodarza i ich inhibitory [1–3].

Mimo lepszego poznania etiologii i patogenezy chorób przyzębia, ich diagnostyka nadal jest niemal wyłącznie oparta na tradycyjnej ocenie klinicznej. Klasyczne rozpoznanie periodontologiczne uwzględnia: ocenę klinicznych objawów zapalenia (krwawienie przy zgłębnikowaniu), głębokość kieszonek przyzębnych (PD), zakres i rodzaj utraty przyczepu łącznotkankowego (CAL) i kości. Pod uwagę brane jest również występowanie innych objawów, takich jak: zwiększona ruchomość lub przemieszczanie się zębów, recesje dziąsłowe, ilość widocznej płytki nazębnej i kamienia. W rozpoznaniu jest także pomocna diagnostyka obrazowa. Coraz częściej wskazuje się jednak, że postawienie rozpoznania jedynie na podstawie kryteriów klinicznych może nie w pełni odzwierciedlać stopień zaawansowania i progresji choroby. Jak się wydaje, w obiektywizacji oceny nasilenia procesów zapalnych w przyzębiu mógłby być pomocny pomiar poziomu wybranych czynników humoralnych odpowiedzialnych za przebieg procesów immunologiczno-zapalnych w płynie kieszonki dziąsłowej (GCF) [1, 4, 5]. Nie ma jednak jeszcze jednoznacznych danych, który z czynników humoralnych obecnych w GCF byłby najbardziej przydatnym biomarkerem aktywności choroby przyzębia.

Istotny wpływ na przebieg procesów immunologiczno-zapalnych w przyzębiu wywierają enzymy syntetyzowane przez komórki gospodarza, w tym szczególnie metaloproteinazy (MMP) [6, 7]. Są to enzymy proteolityczne zależne od jonów wapnia i cynku, zaliczane do endopeptydaz. Substratami MMP są białka macierzy pozakomórkowej (ECM), np. kolagen, elastyna, laminina, fibronektyna. Spośród MMP do kluczowych mediatorów destrukcji przyzębia należy MMP-8 (kolagenaza 2). Głównym źródłem tej kolagenazy są neutrofile, ale MMP-8 jest syntetyzowana także przez: fibroblasty, keratynocyty, komórki tuczne, osteoblasty, osteoklasty, monocyty/makrofagi oraz komórki plazmatyczne. MMP-8 jest uwalniana z komórek w postaci latentnej (pro-MMP-8), a następnie jest aktywowana przez czynniki prozapalne, w tym przez IL-1β, TNF, reaktywne formy tlenu (RFT), enzymy proteolityczne gospodarza, np. katepsynę G, ale także przez MMP-3, MMP-10 i proteazy pochodzące z drobnoustrojów [6, 8]. Niektóre informacje sugerują, że pomiar MMP-8 w GCF mógłby być pomocny w obiektywizacji diagnostyki periodontologicznej i oceny stanu przyzębia [9, 10]. Dane z tego zakresu są jednak dalece niepełne i niejednoznaczne.

Celem pracy była ocena stężenia MMP-8 w GCF u pacjentów z różnym stopniem zaawansowania przewlekłego zapalenia przyzębia oraz zbadanie korelacji między stężeniem MMP-8 w GCF a stanem klinicznym przyzębia ocenianym na podstawie standardowych wskaźników stanu przyzębia dla ustalenia, czy ten enzym mógłby być przydatnym biomarkerem w diagnostyce periodontologicznej.

Materiał i metody

Badaniem objęto 92 dorosłych pacjentów obojga płci. Wśród badanych było 45 kobiet (48,9%) i 47 mężczyzn (51,1%) w wieku 19–78 lat. Średnia wieku wśród wszystkich badanych wynosiła 44,1 ± ± 10,5 lat. Wszyscy pacjenci zostali poinformowani o charakterze badań i wyrazili pisemną zgodę na udział oraz zgodę na wykorzystanie danych klinicznych i wyników badań laboratoryjnych. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetyki ds. Badań na Ludziach Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (uchwała nr RNN/181/08/KE).

Rozpoznanie periodontologiczne zostało postawione na podstawie wywiadu, szczegółowego badania klinicznego oraz oceny radiologicznej zdjęć ortopantomograficznych. Na podstawie przeprowadzonego wywiadu do badań zakwalifikowano pacjentów, którzy nie zgłaszali przyjmowania antybiotyków, leków przeciwzapalnych, leków immunosupresyjnych ani leków immunostymulujących w ciągu ostatnich 3 miesięcy. Aby zapobiec zmianom obrazu klinicznego przyzębia, z badań wykluczono osoby z chorobami ogólnoustrojowymi, w tym z chorobami o charakterze przewlekłym (cukrzyca, osteoporoza, choroby z autoagresji, niedobory immunologiczne), chorobami zakaźnymi (wirusowe zapalenie wątroby, gruźlica, zakażenie wirusem HIV) oraz kobiety w ciąży lub okresie laktacji. Pacjenci nie byli poddawani terapii periodontologicznej przez 12 miesięcy przed badaniem. Wszyscy badani byli niepalący i mieli co najmniej 20 zębów.

Kliniczna ocena przyzębia polegała na pomiarze standardowych wskaźników stanu przyzębia – CAL, PD, API według Lange [11] oraz GI według Loe i Silness [12]. U każdego pacjenta wskaźnik API określano przed pobraniem płynu kieszonki dziąsłowej, a CAL, PD oraz wskaźnik GI ustalano po pobraniu GCF. Pomiary CAL oraz PD przeprowadzano kalibrowaną sondą periodontologiczną WHO. Badania wykonywano w 6 miejscach przy każdym zębie (mezjalnie, centralnie i dystalnie od strony przedsionka jamy ustnej oraz mezjalnie, centralnie i dystalnie od strony jamy ustnej właściwej). Rejestrowano dane o głębokości kieszonek dla wszystkich 6 punktów przy badanym zębie. Przy pomiarze CAL rejestrowano tylko największą wartość z 6 badanych miejsc dla danego zęba.

Pacjenci zakwalifikowani do badań zostali podzieleni na 2 podstawowe grupy na podstawie kryteriów zaproponowanych na Światowych Warsztatach Periodontologicznych AAP w 1999 roku [13]. Grupę kontrolną (I grupa) stanowiło 16 osób periodontologicznie zdrowych (CAL < 1 mm), w tym 9 kobiet i 7 mężczyzn. Pacjentów z rozpoznanym przewlekłym zapaleniem przyzębia (II grupa) podzielono na 3 podgrupy według CAL: grupa IIA

Tabela 1. Charakterystyka demograficzna i kliniczna pacjentów z grupy kontrolnej i grupy badanej

Table 1. Demographical and clinical characteristics of healthy control subjects and chronic periodontitis (CP) patients

	Grupa kontrolna (I) (Control group)	Grupa badana (II) (Studied group)		
		łagodne CP (IIA) (mild CP)	umiarkowane CP (IIB) (moderate CP)	zaawansowane CP (IIC) (severe CP)
Liczba pacjentów (No. of patients)	16	23	29	24
Wiek – lata (Age – years)	32,6 ± 8,1	43,5 ± 9,2	51,3 ± 9,2	48,9 ± 9,0
Płeć – kobiety/mężczyźni (Sex – women/men)	9/7	11/12	12/17	13/11
Liczba zębów (No. of teeth)	25,3 ± 3,5	22,9 ± 4,2	22,4 ± 3,1	21,5 ± 1,4
CAL (mm)	< 1	1,7 ± 0,5	3,3 ± 0,7	5,2 ± 0,9
PD (mm)	1,4 ± 0,9	3,1 ± 1,6	4,5 ± 1,2	6,4 ± 0,7
API (%)	45,9 ± 12,8	55,6 ± 17,8	56,6 ± 20,3	63,4 ± 18,9
GI	0,7 ± 0,4	1,3 ± 0,9	1,9 ± 0,7	2,4 ± 0,8

– pacjenci z łagodnym zapaleniem przyzębia, CAL 1–2 mm (23 osoby, w tym 11 kobiet i 12 mężczyzn), grupa IIB – pacjenci z umiarkowanym zapaleniem przyzębia, CAL 3–4 mm (29 osób, w tym 12 kobiet i 17 mężczyzn) oraz grupa IIC – pacjenci z zaawansowanym zapaleniem przyzębia, CAL ≥ ≥ 5 mm (24 osoby, w tym 13 kobiet i 11 mężczyzn). Szczegółową charakterystykę demograficzną i kliniczną pacjentów z grupy kontrolnej i grupy badanej przedstawiono w tabeli 1.

Przed pobraniem GCF usuwano naddziąsłową płytkę nazębną, badaną okolicę osuszano strumieniem powietrza i izolowano z użyciem tamponów z ligniny. Pobieranie GCF odbywało się za pomocą sterylnych pasków absorpcyjnych z metylocelulozy (Oraflow Inc., USA), które delikatnie umieszczano w szczelinie dziąsłowej lub kieszonce przyzębnej na 30 s na głębokość 1–2 mm. Próbki zanieczyszczone krwią, śliną lub/i płytką bakteryjną były odrzucane. Każdy pasek absorpcyjny był następnie umieszczany w probówce typu Eppendorf i przechowywany do czasu analizy w temperaturze –80°C. GCF eluowano z paska przez umieszczenie w 500 µl buforowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS) i wytrząsanie przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Stężenie MMP-8 w GCF oceniano za pomocą metody ELISA, według procedury komercyjnego testu Human Total MMP-8 Immunoassay (R&D Systems, USA). Czułość zastosowanego testu wynosiła 0,02 ng/ml MMP-8.

W celu opracowania zebranych danych zastosowano metody opisowe i metody wnioskowania statystycznego. W przypadku porównań międzygrupowych zastosowano nieparametryczny test Kruscala-Wallisa, a jako testu *post-hoc* użyto nieparametrycznego testu Manna-Whitneya. W badaniu zależności między 2 cechami w całej grupie badanych oraz w podgrupach obliczano współczynnik korelacji prostoliniowej r, a jego istotność oceniano za pomocą testu t-Studenta. Oceniając wielkość wpływu cechy niezależnej na cechę zależną, wyznaczono współczynnik determinacji, który jest kwadratem współczynnika korelacji. Za istotne statystycznie uznano te różnice między średnimi (lub częstościami), a także te zależności między cechami, dla których obliczona wartość testu była równa lub większa od wartości krytycznej odczytanej z odpowiednich tablic przy właściwej liczbie stopni swobody i prawdopodobieństwie błędu $p < 0,05$.

Wyniki

Stężenie MMP-8 w GCF w grupie wszystkich pacjentów wynosiło 0–36,2 ng/ml, średnio 12,3 ± ± 9,6 ng/ml, a u połowy badanych stężenie MMP-8 przekraczało 11,5 ng/ml. Stężenie MMP-8 w GCF w poszczególnych grupach z zapaleniem przyzębia okazało się bardzo zróżnicowane. U pacjentów ze zdrowym przyzębiem stężenie tego enzymu w GCF wahało się 0–10,2 ng/ml, a średnio wynosiło 2,6 ± 2,7 ng/ml, przy czym u połowy pacjentów z tej grupy stężenie MMP-8 nie przekraczało 1,6 ng/ml. W grupie chorych z łagodnym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF było równe średnio 5,8 ± 6,3 ng/ml, a u połowy z nich stężenie MMP-8 wynosiło do 2,1 ng/ml. W grupie pacjentów z umiarkowanym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF wynosiło średnio 16,0 ± 8,6 ng/ml, przy czym u połowy badanych z tej grupy poziom MMP-8 przekraczał 16,4 ng/ml. Stężenie MMP-8 w GCF u chorych z zaawansowanym zapaleniem przyzębia wahało się w granicach 11,7–33,9 ng/ml, a średnio wynosiło 18,5 ± 6,4 ng/ml. W tej grupie u połowy pacjentów stężenie MMP-8 było większe niż 15,3 ng/ml (tab. 2, ryc. 1).

Analiza statystyczna wykazała, że stężenie MMP-8 w GCF u pacjentów z zapaleniem przyzębia (grupy IIA, IIB i IIC) było istotnie statystycznie większe niż u pacjentów ze zdrowym przyzębiem (p, odpowiednio, < 0,05, < 0,001 i < 0,001). Stwierdzono również istotną statystycznie różnicę w stężeniu MMP-8 w GCF między grupami IIA i IIB ($p < 0,001$) oraz grupami IIA i IIC ($p < 0,001$). Różnica w poziomie tego enzymu w GCF u pacjentów z grup IIB i IIC okazała się nieistotna statystycznie ($p > 0,05$) (tab. 3).

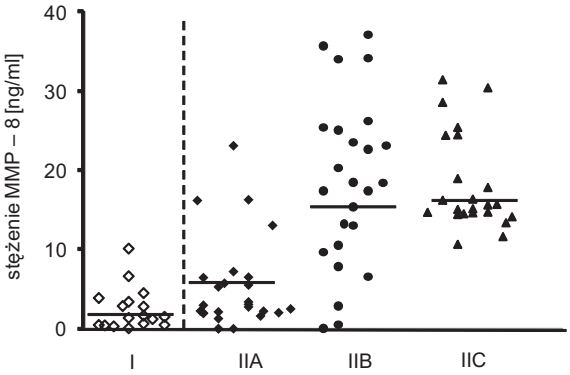
Przeprowadzono także analizę korelacji stężenia MMP-8 w GCF ze wskaźnikami periodontologicznymi. Analiza wykazała, że istniała silna, istotna statystycznie ($p < 0,001$) korelacja między stężeniem MMP-8 w GCF a wartością PD ($r = 0,72$). Silną korelację stwierdzono również między stężeniem MMP-8 w GCF i wartością CAL ($r = 0,60$, $p < 0,001$) oraz między poziomem MMP-8 a wskaźnikiem GI ($r = 0,61$, $p < 0,001$). Korelacja między stężeniem MMP-8 w GCF a wskaźnikiem API okazała się umiarkowanie silna ($r = 0,33$) i istotna statystycznie na poziomie błędu $p < 0,001$.

Zanalizowano również zależności między stężeniem MMP-8 w GCF w grupach pacjentów wyodrębnionych według wartości CAL a wskaźnikami periodontologicznymi PD, API i GI. Stwierdzono, że u pacjentów ze zdrowym przyzębiem istniała istotna statystycznie ($p < 0,05$) korelacja średniej mocy ($r = 0,51$) między stężeniem MMP-8 w GCF a PD. W tej grupie pacjentów korelacje między stężeniem MMP-8 w GCF a wskaźnikami API oraz GI okazały się słabej mocy (współczynniki korelacji, odpowiednio, $r = 0,24$ i $r = 0,21$) i nieistotne statystycznie ($p > 0,05$). Podobnie w grupie pacjentów z łagodnym zapaleniem przyzębia korelacja między wskaźnikiem GI

Tabela 2. Stężenie MMP-8 w GCF pacjentów w grupach wyodrębnionych według wykładnika CAL

Table 2. Level of MMP-8 in GCF from healthy control subjects and from patients with chronic periodontitis

Grupa (Group)	Stężenie MMP-8 (ng/ml) (Level of MMP-8)						
	min.	maks.	X	Me	Q_x	SD	v (%)
Wszyscy badani (All of examined)	0	36,2	12,0	11,5	7,55	9,73	81,1
I	0	10,2	2,60	1,60	1,49	2,68	99,2
IIA	0	22,5	5,79	2,12	2,24	6,27	110,0
IIB	0	36,2	16,0	16,43	6,92	8,61	57,1
IIC	11,73	33,9	18,48	15,31	4,62	6,37	34,3
Porównanie grup (Comparison between groups)	H = 58,028; p < 0,001						



Ryc. 1. Stężenia MMP-8 w GCF u pacjentów z grupy kontrolnej (I) oraz pacjentów z łagodnym (IIA), umiarkowanym (IIB) oraz zaawansowanym (IIC) zapaleniem przyzębia

Fig. 1. Levels of MMP-8 in GCF from healthy subjects (I) and from patients with mild (IIA), moderate (IIB) and advanced (IIC) chronic periodontitis

a stężeniem MMP-8 w GCF była słaba (r = 0,23) i nieistotna statystycznie (p > 0,05). W tej grupie pacjentów wykazano natomiast istotną statystycznie korelację średniej mocy między stężeniem MMP-8 a wykładnikiem PD (r = 0,54, p < 0,01) oraz korelację umiarkowanie silną między stężeniem MMP-8 a wskaźnikiem API (r = 0,42, p < 0,05). U pacjentów z umiarkowanym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF korelowało ze wszystkimi wskaźnikami periodontologicznymi (MMP-8 a PD – r = 0,66; MMP-8 a API – r = 0,41; MMP-8 a GI – r = 0,45), a korelacje były istotne statystycznie (odpowiednio: p < 0,001, p < 0,05, p < 0,01). Nie stwierdzono istotnych statystycznie (p > 0,05) korelacji między stężeniem MMP-8 w GCF a wskaźnikami API, PD i GI u pacjentów z zaawansowanym zapaleniem przyzębia.

Tabela 3. Porównanie stężenia MMP-8 w GCF pacjentów w grupach wyodrębnionych według wykładnika CAL

Table 3. Comparison of MMP-8 concentrations in GCF of healthy control subjects and from patients with chronic periodontitis

Porównywane grupy (Compared groups)	Wartość testu z (Test – z value)	Istotność p (p – value)
IIA – I	2,035	p < 0,05
IIB – I	5,307	p < 0,001
IIC – I	6,018	p < 0,001
IIA – IIB	4,607	p < 0,001
IIA – IIC	5,392	p < 0,001
IIB – IIC	0,691	p > 0,05

Omówienie

W ostatnich latach coraz więcej badań wskazuje, iż przydatnymi markerami stanu przyzębia mogłyby być MMP. Wykazano, że MMP-1 występuje w miejscach, gdzie toczy się proces zapalny w obrębie tkanki dziąsłowej [14]. Ilgenli et al. [15] obserwowali znaczącą korelację między aktywnością MMP-13 a stopniem degradacji kolagenu w tkankach przyzębia objętych stanem zapalnym. Podobnie Silva et al. [16] stwierdzili większą aktywność MMP-13 w GCF pobranym z miejsc objętych zmianami chorobowymi od dorosłych pacjentów chorych na przewlekłe zapalenie przyzębia w porównaniu do miejsc niezmienionych chorobowo. Autorzy wskazali przy tym, że obecność aktywnej formy MMP-13 może korelować z destrukcyjnymi zmianami w przyzębiu i utratą zębów. Istotnym czynnikiem prognostycznym dla rozwoju chorób przyzębia wydaje się MMP-3; u pacjentów z zapaleniem przyzębia aktywność MMP-3 koreluje ze stopniem aktywacji MMP-9 [17]. Podobne dane przedstawili Alpagot et al. [18], którzy wskazali,

że stężenie MMP-3 u osób z chorobami przyzębia zmienia się wraz z postępem leczenia i koreluje ze zmianami wartości standardowych parametrów klinicznych. Hernández et al. [19] wskazali, iż podczas rozwoju choroby przyzębia, w miejscach objętych procesem zapalnym dochodzi do zwiększenia stężenia aktywnej formy MMP-13.

W przebiegu chorób zapalnych tkanek przyzębia obserwuje się także zmiany w stężeniu MMP-8. Stwierdzono, że w GCF pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia jest duże stężenie tego enzymu w GCF [20–24] szczególnie w porównaniu ze stężeniem MMP-8 w GCF pacjentów ze zdrowym przyzębiem [17, 25]. Ingman et al. [26] obserwowali największe stężenie MMP-8 w GCF pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia, mniejsze u pacjentów ze zlokalizowanym agresywnym zapaleniem przyzębia (LAP), a najmniejsze u osób z grupy kontrolnej. Mäntylä et al. [27] opisali, że największe stężenie MMP-8 w GCF występowało u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia, mniejsze u osób z zapaleniem dziąseł, a najmniejsze u osób periodontologicznie zdrowych. W badaniach własnych przeprowadzonych na dużej grupie pacjentów stwierdzono, że stężenie MMP-8 w GCF było statystycznie znamiennie większe u osób z CP niż u osób ze zdrowym przyzębiem. Co więcej, stężenie tego enzymu w GCF znacząco zwiększało się wraz ze stopniem zaawansowania zapalenia przyzębia, a różnice były istotne statystycznie. U pacjentów z zaawansowanym zapaleniem przyzębia poziom MMP-8 w GCF był aż 7-krotnie większy niż u osób ze zdrowym przyzębiem.

Przeprowadzona w toku badań szczegółowa analiza statystyczna wskazała ponadto, że stężenie MMP-8 w GCF silnie korelowało ze wskaźnikami periodontologicznymi, to jest PD, CAL oraz GI. Jedynie korelacja między stężeniem MMP-8 w GCF a API okazała się niezbyt silna. Dalsza analiza zależności między stężeniem MMP-8 w GCF a wskaźnikami klinicznymi w poszczególnych grupach pacjentów wyodrębnionych według wykładnika CAL wskazała, że stężenie MMP-8 najsilniej korelowało z wartością PD (z wyjątkiem grupy pacjentów z zaawansowanym zapaleniem przyzębia). U pacjentów z łagodnym i umiarkowanym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 korelowało także z wykładnikiem API, choć korelacja była niezbyt silna, ale istotna statystycznie. U pacjentów z umiarkowanym zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF korelowało jedynie z GI, a korelacja ta była niezbyt silna. Należy podkreślić, że korelacje między stężeniem MMP-8 w GCF a klasycznymi klinicznymi wykładnikami stanu przyzębia były dotychczas oceniane rzadko. Pozo et al. [21] wykazali korelację między stężeniem tego enzymu w GCF a PD i CAL u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. Korelację MMP-8 z wykładnikami GI i PD u osób z CP odnotowali Chen et al. [24], Marcaccini et al. [25] wykazali natomiast, że u pacjentów z zapaleniem przyzębia stężenie MMP-8 w GCF koreluje z PD. Passoja et al. [22] stwierdzili, że istnieje korelacja między MMP-8 w GCF a wykładnikiem CAL i zależy od stopnia zaawansowania zapalenia przyzębia.

Badania innych autorów wskazały jednoznacznie, że w czasie rozwoju zapalenia przyzębia dochodzi do znaczącego zwiększania stężenia MMP-8 w GCF [20–25]. Niektórzy autorzy wskazali przy tym, że ocena stężenia MMP-8 mogłaby być przydatnym wskaźnikiem różnicującym zapalenie przyzębia od zapalenia dziąseł oraz od miejsc periodontologicznie zdrowych [27]. Sugeruje się także, iż stężenie tego enzymu mogłoby być dobrym wykładnikiem skuteczności wdrożonej terapii periodontologicznej [20, 23, 25, 27, 28]. Uzyskane wyniki własne wydają się wskazywać, że ocena stężenia MMP-8 w GCF może być również obiektywnym wskaźnikiem stopnia zaawansowania zapalenia przyzębia.

Piśmiennictwo

[1] Konopka Ł., Brzezińska-Błaszczyk E.: Cytokines in gingival grevicular fluid as potential diagnostic and prognostic markers of periodontitis. Dent. Med. Probl. 2010, 47, 206–213 [in Polish].

[2] Konopka Ł., Brzezińska-Błaszczyk E.: Selected humoral factors related to tissue destruction in periodontal diagnosis. Dent. Med. Probl. 2012, 49, 88–94 [in Polish].

[3] Ohrlich E.J., Cullinan M.P., Seymour G.J.: The immunopathogenesis of periodontal disease. Aust. Dent. J. 2009, 54 suppl. 1, S2–10.

[4] Wolf D.L., Lamster I.B.: Contemporary concepts in the diagnosis of periodontal disease. Dent. Clin. North Am. 2011, 55, 47–61.

[5] Lamster I.B., Ahlo J.K.: Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. Ann. NY Acad. Sci. 2007, 1098, 216–229.

[6] Konopka Ł., Brzezińska-Błaszczyk E.: Role of matrix metalloproteinases in oral diseases – new therapeutic opportunities. Dent. Med. Probl. 2008, 45, 229–235 [in Polish].

[7] Sorsa T., Tjäderhane L., Salo T.: Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. Oral Dis. 2004, 10, 311–318.

[8] Verstappen J., Von den Hoff J.W.: Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease. J. Dent. Res. 2006, 85, 1074–1084.

[9] Sorsa T., Mäntylä P., Tervahartiala T., Pussinen P.J., Gamonal J., Hernandez M.: MMP activation in diagnostics of periodontitis and systemic inflammation. J. Clin. Periodontol. 2011, 38, 817–819.

[10] Sorsa T., Tjäderhane L., Konttinen Y.T., Lauhio A., Salo T., Lee H.M., Golub L.M., Brown D.L., Mäntylä P.: Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. Ann. Med. 2006, 38, 306-321.
[11] Lange D.E., Plagmann H.-C., Eenboom A., Promesberger A.: Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. Dtsch. Zahnärztl. Z. 1977, 32, 44–49.
[12] Löe H., Silness J.: Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odontol. Scand. 1963, 21, 533–551.
[13] Armitage G.C.: Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann. Periodontol. 1999, 4, 1–6.
[14] Tüter G., Kurtiş B., Serdar M.: Effects of phase I periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. J. Periodontol. 2002, 73, 487–493.
[15] Ilgenli T., Vardar-Sengul S., Gürkan A., Sorsa T., Stackelberg S., Köse T., Atilla G.: Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-13 levels and molecular forms in various types of periodontal diseases. Oral Dis. 2006, 12, 573–579.
[16] Silva N., Dutzan N., Hernandez M., Dezerega A., Rivera O., Aguillon J.C., Aravena O., Lastres P., Pozo P., Vernal R., Gamonal J.: Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. J. Clin. Periodontol. 2008, 35, 206–214.
[17] Beklen A., Tüter G., Sorsa T., Hanemaaijer R., Virtanen I., Tervahartiala T., Konttinen Y.T.: Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis. J. Dent. Res. 2006, 85, 59–63.
[18] Alpagot T., Bell C., Lundergan W., Chambers D.W., Rudin R.: Longitudinal evaluation of GCF MMP-3 and TIMP-1 levels as prognostic factors for progression of periodontitis. J. Clin. Periodontol. 2001, 28, 353–359.
[19] Hernández M., Martínez B., Tejerina J.M., Valenzuela M.A., Gamonal J.: MMP-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis. J. Clin. Periodontol. 2007, 34, 729–735.
[20] Ağan S., Sönmez S., Serdar M.: The effect of topical doxycycline usage on gingival crevicular fluid MMP-8 levels of chronic and aggressive periodontitis patients: a pilot study. Int. J. Dent. Hyg. 2006, 4, 114–121.
[21] Pozo P., Valenzuela M.A., Melej C., Zaldívar M., Puente J., Martínez B., Gamonal J.: Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. J. Periodontal. Res. 2005, 40, 199–207.
[22] Passoja A., Ylipalosaari M., Tervonen T., Raunio T., Knuuttila M.: Matrix metalloproteinase-8 concentration in shallow crevices associated with the extent of periodontal disease. J. Clin. Periodontol. 2008, 35, 1027–1031.
[23] Kinane D.F., Darby I.B., Said S., Luoto H., Sorsa T., Tikanoja S., Mäntylä P.: Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. J. Periodontal Res. 2003, 38, 400–404.
[24] Chen H.Y., Cox S.W., Eley B.M., Mäntylä P., Rönkä H., Sorsa T.: Matrix metalloproteinase-8 levels and elastase activities in gingival crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients. J. Clin. Periodontol. 2000, 27, 366–369.
[25] Marcaccini A.M., Meschiari C.A., Zuardi L.R., de Sousa T.S., Taba M. Jr., Teofilo J.M., Jacob-Ferreira A.L., Tanus-Santos J.E., Novaes A.B. Jr., Gerlach R.F.: Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. J. Clin. Periodontol. 2010, 37, 180–190.
[26] Ingman T., Tervahartiala T., Ding Y., Tschesche H., Haerian A., Kinane D.F., Konttinen Y.T., Sorsa T.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. J. Clin. Periodontol. 1996, 23, 1127–1132.
[27] Mäntylä P., Stenman M., Kinane D.F., Tikanoja S., Luoto H., Salo T., Sorsa T.: Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. J. Periodontal Res. 2003, 38, 436–439.
[28] Konopka Ł., Pietrzak A., Brzezińska-Błaszczyk E.: Effect of scaling and root planing on interleukin-1β, interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. J. Periodontal Res. 2012, 47, 681–688.

Adres do korespondencji:

Łukasz Konopka
Zakład Immunologii Doświadczalnej
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Pomorska 251
92-213 Łódź
tel.: +48 42 675 73 06
e-mail: konopers@tlen.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 10.09.2012 r.
Po recenzji: 29.10.2012 r.
Zaakceptowano do druku: 3.12.2012 r.

Received: 10.09.2012
Revised: 29.10.2012
Accepted: 3.12.2012