

MAŁGORZATA NĘDZI-GÓRA, RENATA GÓRSKA

## Stężenie metaloproteinazy 9 w ślinie pacjentów z zapaleniem przyzębia – doniesienie wstępne

### Metalloproteinase 9 concentration in saliva of periodontal patients – initial result

Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia IS AM w Warszawie

#### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Metaloproteinazy macierzy (MMPs) są enzymami proteolitycznymi odpowiedzialnymi za degradację białek macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym kolagenu. W stanach zapalnych tkanek przyzębia metaloproteinaza 9 jest uwalniana z ziarnistości komórek PMN oraz makrofagów. Komórki PMN przedostają się do jamy ustnej przez kieszonkę przyzębną, dlatego ślina zawiera metaloproteinazę 9. Nikotyna może powodować zwiększoną ekspresję metaloproteinaz przez komórki PMN.

**Cel pracy.** Celem pracy było porównanie stężenia MMP-9 w ślinie pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia (palących i niepalących) oraz osób z grupy kontrolnej, a także badanie korelacji między klinicznymi wskaźnikami stanu przyzębia a stężeniem metaloproteinazy 9 w ślinie.

**Materiał i metody.** Grupę badaną stanowiło 11 pacjentów, u których rozpoznano przewlekłe zapalenie przyzębia. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 10 osób ze zdrowym przyzęciem. U pacjentów z grupy badanej wykonano pomiary kliniczne w celu oznaczenia głębokości kieszonek oraz poziomu utraty przyczepu łącznotkankowego, a także obliczono wskaźnik płytki i wskaźnik krwawienia. Od wszystkich pacjentów pobrano 4 ml pełnej stymulowanej śliny. Stężenie MMP-9 w ślinie oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA.

**Wyniki.** Badania wykazały znacząco wyższe stężenie MMP-9 w ślinie pacjentów z chorobą przyzębia w porównaniu do śliny osób z grupy kontrolnej ( $p < 0,05$ ). Średnie stężenie MMP-9 było znacznie wyższe w ślinie osób palących, ale różnica między stężeniami nie była znamienne statystycznie. Zaobserwowano również zależność między największą głębokością kieszonki i największym poziomem utraty przyczepu łącznotkankowego a stężeniem MMP-9 w ślinie. Nie zanotowano natomiast korelacji między średnią głębokością kieszonek, średnim poziomem utraty przyczepu łącznotkankowego, wskaźnikiem płytki i wskaźnikiem krwawienia a stężeniem MMP-9 w ślinie.

**Wnioski.** Przewlekłe zapalenie przyzębia powoduje statystycznie podwyższenie stężenia MMP-9 w ślinie (Dent. Med. Probl. 2002, 39, 1, 47–53).

**Słowa kluczowe:** zapalenie przyzębia, metaloproteinazy macierzy, metaloproteinaza 9, kolagenazy/żelatynazy ślinowe, ślina/analiza.

#### Abstract

**Background.** Matrix metalloproteinases (MMPs) are proteolytic enzymes responsible for the degradation of extracellular matrix proteins, including collagens. During gingival and periodontal inflammation, MMP-9 is released from subcellular PMN granules. PMN leukocytes enter the oral cavity through the periodontal pockets. Consequently, the saliva contains metalloproteinases including MMP-9. Nicotine can up-regulate the expression of MMPs in PMN leukocytes.

**Objectives.** The aim of the work was to compare salivary MMP-9 levels in patients with chronic periodontitis (smokers and non-smokers) and in control group; and to check the correlation of commonly used parameters of periodontal disease (PD, CAL, PI, BI) with MMP-9 concentration in saliva.

**Material and methods.** The study was carried out on a group of 11 patients with diagnosed chronic periodontitis. Control group was assembled of 10 periodontally healthy people. Clinical data were obtained on PI, BI, PD and CAL. 4 mL of whole stimulated saliva was collected from all subjects. MMP-9 levels in saliva were analyzed by ELISA method.

**Results.** The study revealed significant increase of MMP-9 levels in saliva of periodontitis patients compared to control saliva ( $p < 0.05$ ). Elevated but not statistically significant levels of MMP-9 were detected in saliva of smokers compared to non-smokers. The correlation between MMP-9 concentrations in saliva and PD<sub>max</sub> and CAL<sub>max</sub> was found. No correlation however between MMP-9 and PD, CAL, PI, BI was found.

**Conclusions.** Chronic periodontitis causes statistically significant increase of MMP-9 in saliva (**Dent. Med. Probl.** 2002, 39, 1, 47–53).

**Key words:** periodontitis, matrix metalloproteinases, metalloproteinase-9, salivary collagenases/gelatinases, saliva/analysis.

Metalloproteinazy macierzy (MMPs – matrix metalloproteinases) to enzymy proteolityczne, których działanie jest obecnie uważane za główną przyczynę degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej. Za niszczenie kolagenu w tkankach przyzębia odpowiedzialne są przede wszystkim: MMP-8, MMP-9, pochodzenia neutrofilowego, MMP-2 wydzielana przez fibroblasty [1, 2] oraz MMP-13 wydzielana przez komórki nabłonka dziąsłowego [3]. Na podstawie podziału opierającego się na kryterium swoistości substratu oraz biochemicznej struktury enzymów, metaloproteinaza 9 jest zaliczana do grupy żelatynaz [4]. Obok MMP-9 oznaczonej w tym podziale jako Mr 92K GL do grupy tej należy również MMP-2. Metaloproteinaza 9 degraduje kolageny typu IV i V oraz elastynę, a także działa synergicznie z kolagenazami przez degradację denaturowanego kolagenu (żelatyny). W zdrowych tkankach MMP-9 wraz z innymi metaloproteinazami moduluje prawidłowe przemiany wyżej wymienionych białek macierzy. W licznych badaniach podejmowano próby wyjaśnienia mechanizmu (mechanizmów), w jakim dochodzi do nadmiernego wydzielania metaloproteinaz oraz określenia czynników endo- i egzogennych, które modyfikują wydzielanie tych enzymów. Metaloproteinaza 9 jest wydzielana przez komórki stacjonarne – głównie fibroblasty oraz komórki napływowe, takie jak: granulocyty obojętnochłonne, monocyty/makrofagi. W przypadku wystąpienia stanu zapalnego cytokiny prozapalne (głównie IL-1 $\beta$ ) pobudzają komórki nacieku zapalnego do wydzielania zwiększonych ilości metaloproteinaz, w tym MMP-9. Może wówczas dochodzić do nadmiernego rozkładu tkanki łącznej [4]. W warunkach fizjologicznych stężenie i aktywność metaloproteinaz jest regulowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz – TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) wydzielane przez większość komórek tkanki łącznej i komórki nacieku zapalnego. Na początku lat osiemdziesiątych XX w. Golub et al. zwrócili uwagę na występowanie pozaustrojowych inhibitorów metaloproteinaz – antybiotyków z grupy tetracyklin. Obecnie wiadomo, że oprócz doksylicyny w małych dawkach (20 mg 2 x na dobę), cechy inhibitorów MMPs wykazują również niean-

tybakteryjne pochodne tetracyklin – CMTs (chemically modified non-antimicrobial analogues of tetracyclines) [5], chlorheksydyna [6], tiludronat – bisfosfonat stosowany w leczeniu choroby Pageta [7]. Wszystkie wyżej wymienione związki próbowano zastosować jako środki wspomagające w leczeniu zapalenia przyzębia.

Niektórzy autorzy rozważali również wpływ palenia tytoniu na stężenie i aktywność metaloproteinaz wydzielanych przez komórki stacjonarne oraz komórki nacieku zapalnego. W badaniach *in vitro* wykazano, że makrofagi pochodzące z dróg oddechowych osób palących wydzielają w hodowli znacznie więcej MMP-9 i TIMP-1 zarówno samoistnie, jak i po stymulacji IL-1 oraz lipopolisacharydem [8]. Carty et al. [9] w badaniach nad wpływem metaloproteinaz na przerost mięśni gładkich w ścianie naczyń krwionośnych wykazali, że komórki mięśni gładkich stymulowane w hodowli nikotyną i jej metabolitami (cotyniną) wytwarzają zwiększone ilości metaloproteinaz. Wykazano również, że w płynie kieszonki dziąsłowych, pobranym z miejsc objętych chorobą przyzębia, aktywność enzymów proteolitycznych (elastazy) jest znacznie wyższa u osób palących w porównaniu z osobami niepalącymi. Ponadto zaobserwowano korelację między głębokością kieszonki oraz stężeniem MMP-8 w płynie kieszonki dziąsłowych u osób palących [10].

Stężenie lub aktywność metaloproteinaz w tkankach przyzębia lub płynach ustrojowych może świadczyć o aktywności procesu zapalnego, ryzyku wystąpienia choroby przyzębia, a także może służyć do monitorowania leczenia. W piśmiennictwie stężenie lub aktywność metaloproteinaz było oznaczane w materiałach biopsyjnych pobranych z tkanek dziąsła podczas zabiegów chirurgicznych na przyzębiu [2, 11, 12], hodowli komórek pobranych z miejsca objętego procesem zapalnym [13, 14], w płynie kieszonki dziąsłowych [15, 16], a także w ślinie [1, 17–20].

Celem pracy była ocena stężenia MMP-9 w ślinie osób z chorobą przyzębia w zależności od stanu klinicznego pacjenta. Porównano stężenie MMP-9 w ślinie osób z chorobą przyzębia i osób z grupy kontrolnej oraz badano zależność między stężeniem MMP-9 w ślinie osób chorych (palą-

cych i niepalących) a wybranymi wskaźnikami klinicznymi stanu przyzębia.

Przeprowadzono również analizę korelacji między stężeniem MMP-9 w ślinie a wiekiem pacjentów oraz porównano wybrane wskaźniki kliniczne stanu przyzębia i stężenia MMP-9 w ślinie osób palących i niepalących.

## Materiał i metody

Badaniami objęto 21 osób. Grupę badaną stanowiło 11 pacjentów leczonych w Zakładzie Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia IS AM w Warszawie, u których na podstawie wywiadu, badania klinicznego i radiologicznego rozpoznano przewlekłe zapalenie przyzębia. Pacjenci zakwalifikowani do grupy badanej nie byli uprzednio leczeni z powodu zapalenia przyzębia. Średnia wieku pacjentów wynosiła 43 lata; wśród badanych było 5 kobiet i 6 mężczyzn. Żaden z badanych pacjentów nie zgłaszał w wywiadzie współistniejących chorób układujących, zwłaszcza przebiegających z zaburzeniami przemiany i degradacji tkanki łącznej, takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, choroby pęcherzowe skóry, stwardnienie rozsiane. Pacjenci nie przyjmowali również żadnych leków. Przeprowadzono wywiad dotyczący palenia tytoniu. W grupie osób z chorobą przyzębia było 5 osób palących i 6 niepalących. Grupę kontrolną stanowiło 10 osób ze zdrowym przyzęciem (7 kobiet i 3 mężczyzn, średnia wieku 27,1 lat).

Badania kliniczne stanu przyzębia przeprowadzono za pomocą pakietu diagnostycznego Florida Probe® – z zastosowaniem sondy o stałej sile nacisku sprzężonej z komputerem. Badanie periodontologiczne obejmowało pomiary głębokości kieszonek i stopnia utraty przyczepu łącznotkankowego (w mm) oraz obliczenie wskaźników płytki i krwawienia według O'Leary.

Od wszystkich pacjentów pobierano próbki śliny między godziną 10<sup>00</sup> a 14<sup>00</sup>, co najmniej godzinę po posiłku, czyszczeniu zębów, płukaniu jamy ustnej. Bezpośrednio przed zbieraniem materiału nie wykonywano zabiegów profilaktycznych, np. skalingu ani pomiarów klinicznych, np. głębokości kieszonek, aby nie zanieczyścić próbek krwią. Bezpośrednio przed pobraniem próbek pacjent dwukrotnie płukał jamę ustną około 10 ml wody przez 10 s w celu usunięcia resztek pokarmowych. Zbierana ślina była śliną pełną stymulowaną poprzez żucie 5 ml parafiny przez 30 s. Pobierano około 4 ml śliny do dwóch probówek. Następnie próbki zamrażano w temp. -20°C i przechowywano w tej temperaturze do chwili wykonania testu.

Stężenie MMP-9 w ślinie oznaczano metodą immunoenzymatyczną ELISA za pomocą testów

do ilościowego oznaczania ludzkiej metaloproteiny 9 (całkowitej – zarówno postaci aktywnej, jak i prometaloproteiny).

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą testu *t*-Studenta dla dwóch populacji niezależnych. Przyjęto poziom istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono średnie wartości wskaźników klinicznych zarejestrowanych u pacjentów z chorobą przyzębia z uwzględnieniem podziału na grupę osób palących i niepalących. Średni wskaźnik płytki wyniósł w grupie badanej 73,55%, średni wskaźnik krwawienia 30,09%, średnia wartość głębokości kieszonek w grupie badanej wynosiła 3,34 mm. Wskaźnik płytki oraz średnia głębokość kieszonek były wyższe w grupie osób palących, a wskaźnik krwawienia w grupie osób niepalących. Różnice dotyczące wskaźnika płytki, wskaźnika krwawienia oraz średniej głębokości kieszonek w grupie osób palących i niepalących nie były znamienne statystycznie.

Maksymalna głębokość kieszonki zanotowana u pacjentów z grupy badanej wynosiła 7,91 mm, maksymalna utrata przyczepu łącznotkankowego wynosiła 8,27 mm, a średni poziom utraty przyczepu łącznotkankowego 3,34 mm. Powyższe wskaźniki były wyższe w grupie osób palących. Zanotowane różnice pomiędzy średnim poziomem utraty przyczepu łącznotkankowego, maksymalną głębokością kieszonek oraz maksymalną utratą przyczepu łącznotkankowego w grupie osób palących i niepalących były znamienne statystycznie.

W tabeli 2 porównano średnie wartości stężenia MMP-9 w ślinie pacjentów z grupy badanej oraz osób z grupy kontrolnej. Otrzymane wartości były wyższe w ślinie osób z chorobą przyzębia (656,36) niż w grupie kontrolnej (152), a różnica między nimi była znamienna statystycznie ( $p = 0,008$ ).

W tabeli 3 porównano średnie stężenie MMP-9 w ślinie osób palących i niepalących. Otrzymana średnia wartość była znacznie wyższa w grupie osób palących (892) niż w grupie niepalących (460), różnica nie była jednakże znamienna statystycznie.

W tabeli 4 zestawiono zależność między klinicznymi wskaźnikami stanu przyzębia oraz wiekiem a stężeniem MMP-9 w ślinie pacjentów z chorobą przyzębia z uwzględnieniem podziału na grupę osób palących i niepalących. Zaobserwowano istotną korelację między maksymalną głębokością kieszonek oraz maksymalną utratą przyczepu łącznotkankowego a stężeniem MMP-9 w całej grupie badanej oraz w grupie osób palących. W grupie osób niepalących zanotowano

**Tabela 1.** Średnie wartości wskaźników klinicznych w grupie badanej**Table 1.** Mean results of clinical parameters in study group

	Średnia głębokość kieszonki PD (mm)	Maksymalna głębokość kieszonki PD <sub>max</sub>	Średni poziom utraty przyzęcia łącznotkankowego CAL (mm)	Maksymalna utrata przyzęcia łącznotkankowego CAL <sub>max</sub>	Wskaźnik płytki PI (%)	Wskaźnik krwawienia BI (%)
Średnia w grupie badanej n = 11	3,32	7,91	3,34	8,27	73,55	30,09
Średnia w grupie osób niepalących n = 6	2,95	6,67	2,90	7,00	67,50	30,83
Średnia w grupie osób palących n = 5	3,78	9,40	3,88	9,80	80,80	29,2
Istotność statystyczna (osoby niepalące/palące)	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	<b>p &lt; 0,05</b>	<b>p &lt; 0,05</b>	p > 0,05	p > 0,05

**Tabela 2.** Średnie wartości stężenia MMP-9 w ślinie pacjentów z zapaleniem przyzębia oraz osób z grupy kontrolnej**Table 2.** Mean results of MMP-9 levels in saliva of periodontitis patients and control group

	MMP-9 (ng/ml)
Stężenie w ślinie pacjentów z grupy badanej	656,36
Stężenie w ślinie pacjentów w grupie kontrolnej	152
Istotność statystyczna	<b>p = 0,008</b>

**Tabela 3.** Średnie wartości stężenia MMP-9 w ślinie w grupie osób palących i niepalących**Table 3.** Mean concentration of MMP-9 in saliva of smokers and non-smokers

	MMP-9 (ng/ml)
Średnie stężenie w ślinie osób palących	892
Średnie stężenie w ślinie osób niepalących	460
Istotność statystyczna	p > 0,05

**Tabela 4.** Korelacja między klinicznymi wskaźnikami oceny stanu przyzębia oraz wiekiem a stężeniem MMP-9 w ślinie pacjentów z zapaleniem przyzębia (test Pearsona)**Table 4.** Correlation between clinical periodontal parameters and the patients' age and MMP-9 concentration in saliva of periodontitis patients Pearson's linear correlation coefficient

	Średnia głębokość kieszonki PD (mm)	Maksymalna głębokość kieszonki PD <sub>max</sub>	Średni poziom utraty przyzęcia łącznotkankowego CAL (mm)	Maksymalna utrata przyzęcia łącznotkankowego CAL <sub>max</sub>	Wskaźnik płytki PI (%)	Wskaźnik krwawienia BI (%)	Wiek
Stężenie MMP-9 (grupa badana n = 11)	0,053	0,815*	0,525	0,803*	0,312	0,054	-0,241
Stężenie MMP-9 (osoby niepalące n = 6)	0,150	0,737	-0,158	0,616	0,868*	0,293	-0,644
Stężenie MMP-9 (osoby palące n = 5)	-0,415	0,943*	0,645	0,876*	-0,267	0,043	-0,024

\* Znaczące statystycznie przy p &lt; 0,05 (statistical difference at p &lt; 0,05).



znamienną korelację między wskaźnikiem płytki a stężeniem MMP-9. W żadnej z grup nie zaobserwowano natomiast istotnych korelacji między wskaźnikiem krwawienia, średnią głębokością kieszonek, średnim poziomem utraty przyczepu łącznotkankowego a stężeniem MMP-9.

## Omówienie

W 1990 r. Gangbar et al. [21] zidentyfikowali i określili aktywność żelatynazy pochodzącej z granulocytów obojętnochłonnych w materiale otrzymanym z płukania jamy ustnej 3 ml wody destylowanej. Stwierdzili statystycznie znamienne podwyższenie aktywności żelatynazy u pacjentów z zapaleniem przyzębia w stosunku do grupy kontrolnej.

Uitto et al. [18] wykazali, że ślina pacjentów z zapaleniem przyzębia zawiera wyższe stężenie kolagenaz w porównaniu ze śliną osób zdrowych. W 1994 r. Ingman et al. [19] wykazali, że ślina pacjentów z zapaleniem przyzębia dorosłych oraz pacjentów zdrowych zawiera cząsteczki proteiny o masie 92 kDa, które wykazują aktywność żelatynolityczną. W teście porównawczym wykazywały podobną ruchliwość jak cząsteczki żelatynaz pochodzenia neutrofilowego. Były więc prawdopodobnie cząsteczkami MMP-9, żelatynazy o masie 92 kDa, pochodzącej głównie z neutrofili. Halinen et al. [17] wykazali podwyższoną aktywność żelatynazy o masie 92 kDa (MMP-9) w ślinie pacjentów z zespołem Downa i zapaleniem przyzębia w porównaniu z grupą kontrolną (osoby z zespołem Downa bez zmian w przyzębiu). Autorzy tych prac nie porównywali jednak stężeń MMP-9 w ślinie pacjentów z zapaleniem przyzębia oraz osób zdrowych. Ingman et al. [1] w badaniach nad zawartością metaloproteiny macierzy i ich inhibitorów w płynie kieszonek dziąsłowych oraz ślinie pacjentów z zapaleniem przyzębia, wykorzystali technikę ELISA do jakościowego i ilościowego oznaczenia enzymów. Badania te wykazały, że MMP-8 i MMP-9 pochodzenia neutrofilowego są głównymi kolagenazami i żelatynazami w płynie kieszonek dziąsłowych pacjentów z zapaleniem przyzębia dorosłych. Autorzy ci określili również ilościowo stężenie metaloproteiny 9 w płynie kieszonek dziąsłowych oraz obliczyli, że jest ono znamienne wyższe u pacjentów z zapaleniem przyzębia w stosunku do osób z grupy kontrolnej ( $p < 0,01$ ). Nieminen et al. [20] wykazali, że aktywność proteaz ślinowych odpowiada stanowi klinicznemu tkanek przyzębia zarówno przed leczeniem, jak i po leczeniu przyczynowym i korekcyjnym. Wskaźniki stanu przyzębia (PI, GI, BOP, PD) oraz aktywność proteaz malały w czasie le-

czenia. Stwierdzono również korelację między aktywnością proteaz ślinowych (głównie elastazy) oraz GI i PD.

Przeprowadzone badania własne potwierdzają wyniki badań cytowanych autorów. Średnie stężenia MMP-9 w ślinie pacjentów w grupie badanej było czterokrotnie wyższe (656,36 ng/ml) niż w grupie kontrolnej (152 ng/ml), a różnica między nimi była znamienna statystycznie ( $p = 0,008$ ).

Rozbieżne z cytowanymi badaniami i trudne do interpretacji wyniki uzyskano po analizie korelacji między klinicznymi wskaźnikami stanu przyzębia oraz stężeniem MMP-9 w ślinie pacjentów z zapaleniem przyzębia. Brak zależności między wskaźnikiem płytki oraz wskaźnikiem krwawienia a stężeniem MMP-9 może świadczyć o tym, że stężenie metaloproteiny w tkankach przyzębia nie zależy bezpośrednio i jedynie od stanu higieny jamy ustnej w chwili badania. Proces namnażania i aktywacji komórek napływowych, wytwarzających metaloproteiny jest rozłożony i może zależeć od czasu trwania choroby, wcześniejszego leczenia oraz stanu ogólnego pacjenta. Brak zależności między średnią głębokością kieszonek i średnią utratą przyczepu łącznotkankowego a stężeniem MMP-9 w ślinie oraz wystąpienie korelacji pomiędzy największą głębokością kieszonki i największą utratą przyczepu łącznotkankowego a stężeniem MMP-9 może świadczyć, że głównym źródłem MMP-9 w ślinie są miejsca objęte najgłębszą utratą przyczepu łącznotkankowego oraz największą głębokością kieszonek. Wydaje się, że stężenie metaloproteiny w ślinie jest średnim stężeniem enzymów pochodzących z kieszonek przyzębnych poszczególnych zębów. Metaloproteina 9 jest zaliczana przez niektórych autorów do grupy kolagenaz ślinowych (żelatynaz ślinowych) [5, 18, 20]. Według Uitto et al. [18] głównym źródłem kolagenazy ślinowej są neutrofile. Każdy mililitr pełnej śliny zawiera 100 000–500 000 neutrofili w różnych stadiach rozpadu. Większość leukocytów dostaje się do środowiska jamy ustnej przez szczelinę dziąsłową. Chociaż w ślinie oraz w płynie kieszonek dziąsłowych stwierdzono stosunkowo wysoką aktywność kolagenazy, jest mało prawdopodobne, że ta pula enzymu przyczynia się do destrukcji tkanki łącznej przyzębia lub innej tkanki łącznej w jamie ustnej. Płyn zawierający enzym wpływa na zewnątrz kieszonek przyzębnych, a zluszczający się nabłonek jamy ustnej raczej skutecznie ogranicza przejście substancji ślinowych do głębiej położonych tkanek. Podwyższona liczba granulocytów w ślinie odpowiada jednak zwiększonej ich ilości w tkankach przyzębia w przebiegu zapalenia.

Badania wykazały, że stężenie kolagenaz w ślinie pacjentów bezzębnych jest bardzo niskie [18]. Na stężenie MMP-9 w ślinie może mieć więc wpływ liczba zachowanych zębów i liczba zębów z kieszonkami patologicznymi.

Przeprowadzone badania kliniczne dotyczące wskaźnika płytki, wskaźnika krwawienia, głębokości kieszonek oraz utraty przyczepu łącznotkankowego u pacjentów palących w porównaniu z niepalącymi pozostają w zgodzie z wynikami uzyskanymi we wcześniejszych badaniach własnych [22] oraz badaniami innych autorów [23, 24].

Liede et al. [23] badali związek między paleniem tytoniu i stanem klinicznym tkanek przyzębia oraz stężeniem proteinaz ślinowych. Wyniki ich badań wskazują, że procent zębów z kieszonkami powyżej 4 mm jest znamienne niższy u pacjentów niepalących ( $p < 0,05$ ), a aktywność proteolityczna enzymów ślinowych oraz stężenie MMP-8 były znamienne niższe u pacjentów palących. W badaniach własnych nie stwierdzono znamiennej statystycznie różnicy pomiędzy stężeniem MMP-9 w ślinie pacjentów palących i niepa-

lących. Różnica ta była jednak znaczna, a brak spodziewanej istotności statystycznej można tłumaczyć małą grupą badaną, w której wystąpiła duża rozbieżność danych.

Reasumując, metaloproteinaza 9 występuje w znacząco wyższym stężeniu w ślinie pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia w porównaniu ze śliną osób zdrowych. W przebiegu przewlekłego zapalenia przyzębia dochodzi więc do zwiększonego wydzielania MMP-9 do śliny.

Ponieważ u wszystkich pacjentów z zapaleniem przyzębia stwierdzono podwyższone stężenie MMP-9 w ślinie, enzym ten może być bezpośrednio odpowiedzialny za niszczenie elementów tkanki łącznej w przyzębiu w przebiegu zapalenia przyzębia. Określenie stężenia MMP-9 w ślinie może być dobrą i prostą metodą odzwierciedlającą stężenie tych enzymów w tkankach przyzębia *in situ*.

Należy podkreślić, że niniejsza praca ma charakter badań wstępnych, które ze względu na uzyskanie ciekawych wyników będą kontynuowane i rozszerzane.

## Piśmiennictwo

- [1] 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.
- [2] KOROSTOFF J. M., WANG J. F., SARMENT D. P., STEWART J. C., FELDMAN R. S., BILLINGS P. C.: Analysis of *in situ* protease activity in chronic adult periodontitis patients: expression of activated MMP-2 and a 40 kDa serine protease. *J. Periodontol.* 2000 71, 3, 353–360.
- [3] UITTO V. J., AIROLA K., VAALAMO M., JOHANSSON N., PUTNINS E. E., FIRTH J. D., SALONEN J., LOPEZ-OTIN C., SARIALHO-KERE U., KAHARI V.: Collagenase-3 (Matrix Metalloproteinase-13) expression is induced in oral mucosal epithelium during chronic inflammation. *Am. J. Pathol.* 1998, 152.
- [4] BIRKEDAL-HANSEN H.: Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J. Periodontol.* 1993, 64, 474–484.
- [5] SORSA T., DING Y., SALO T., LAUHIO A., TERONEN O., INGMAN T., OHTANI H., ANDOH N., TAKEHA S., KONTTINEN Y. T.: Effects of tetracyclines on neutrophil, gingival and salivary collagenases. A functional and western-blot assessment with special reference to their cellular sources in periodontal diseases. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994, 732, 112–131.
- [6] GENDRON R., GRENIER D., SORSA T., MAYRAND D.: Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1999, 6, 437–439.
- [7] NAKAYA H., OSAWA G., IWASAKI N., COCHRAN D. L., KAMOI K., OATES T. W.: Effects of bisphosphonate on matrix metalloproteinase enzymes in human periodontal ligament cells. *J. Periodontol.* 2000, 71, 1158–1166.
- [8] LIM S., ROCHE N., OLIVER B. G., MATTOIS W., BARNES P. J., FAN CHUNG K.: Balance of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 from alveolar macrophages in cigarette smokers. Regulation by IL-10. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000, 162, 1355–1360.
- [9] CARTY C. S., SOLOWAY P. D., KAYASTHA S., BAUER J., MARSAN B., RICOTTA J. J., DRYJSKI M.: Nicotine and cotinine simulate secretion of basic fibroblast growth factor and affect expression of matrix metalloproteinases in cultured human smooth muscle cells. *J. Vasc. Surg.* 1997, 25, 628.
- [10] SODER B.: Neutrophil elastase activity, levels of prostaglandin E<sub>2</sub> and matrix metalloproteinase-8 in refractory periodontitis sites in smokers and non-smokers. *Acta Odontol. Scand.* 1999, 57, 77–82.
- [11] REYNOLDS J. J., HEMBRY R. M., MEIKLE M. C.: Connective tissue degradation in health and periodontal disease and the roles of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors. *Adv. Dent. Res.* 1994, 8, 312–319.
- [12] REYNOLDS J. J.: Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation. *Oral. Dis.* 1996, 2, 70–76.
- [13] NIP L. H., UITTO V. J., GOLUB L. M.: Inhibition of epithelial cell matrix metalloproteinases by tetracyclines. *J. Periodont. Res.* 1993, 28, 379–385.
- [14] NAKAYA H., OATES T. W., HOANG A. M., KAMOI K., COCHRAN D. L.: Effects of interleukin-1 beta on matrix metalloproteinase-3 levels in human periodontal ligament cells. *J. Periodontol.* 1997, 68, 517–523.

- [15] CHEN H. Y., COX S. W., ELEY, B. M., MANTYLA P., RONKA 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.
- [16] ATILLA G., SORSA T., RONKA H., EMINGIL G.: Matrix metalloproteinases (MMP-8 and MMP-9) and neutrophil elastase in gingival crevicular fluid of cyclosporin-treated patients. *J. Periodontol.* 2001, 72, 354–360.
- [17] HALINEN S., SORSA T., DING Y., INGMAN T., SALO T., KONTTINEN Y., SAARI H.: Characterization of matrix metalloproteinase (MMP-8 and MMP-9) activities in the saliva and in gingival crevicular fluid of children with Down's syndrome. *J. Periodontol.* 1996, 67, 748–754.
- [18] UITTO V. J., SUOMALAINEN K., SORSA T.: Salivary collagenase. Origin characteristics and relationship to periodontal health. *J. Periodont. Res.* 1990, 25, 135–142.
- [19] INGMAN T., SORSA T., LINDY O., KOSKI H., KONTTINEN Y. T.: Multiple forms of gelatinases/type IV collagenases in saliva and gingival crevicular fluid of periodontitis patients. *J. Clin. Periodontol.* 1994, 21, 26–31.
- [20] NIEMINEN A., NORDLUND L., UITTO V. J.: The effect of treatment on the activity of salivary proteases and glycosidases in adults with advanced periodontitis. *J. Periodontol.* 1993, 64, 297–301.
- [21] GANGBAR S., OVERALL C. M., MC CULLOCH C. A. G., SODEK J.: Identification of polymorphonuclear leukocyte collagenase and gelatinase activities in mouthrinse samples: correlation with periodontal disease activity in adult and juvenile periodontitis. *J. Periodont. Res.* 1990, 25, 257–267.
- [22] KOWALSKI J., GÓRSKA R., GREGOREK H., MADALIŃSKI K.: Wpływ wybranych czynników ryzyka na wybrane parametry kliniczne i immunologiczne osób z chorobą przyzębia. Część I. Palenie tytoniu. *Stomat. Współczesna* 1999, 6, 27–29.
- [23] LIEDE K. E., HAUKKA J. K., HIETANEN J. H., MATTILA M. H., RONKA H., SORSA T.: The association between smoking cessation and periodontal status and salivary proteinase levels. *J. Periodontol.* 1999, 70, 1361–1368.
- [24] TONETTI M. S.: Cigarette smoking and periodontal diseases: etiology and management of disease. *Ann. Periodontol.* 1998, 3, 88–101.

### Adres do korespondencji:

Małgorzata Nędzi-Góra  
Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia IS AM  
ul. Miodowa 18  
00-952 Warszawa  
tel./fax: (22) 831-21-36  
e-mail: isam@polbox.com

Praca wpłynęła do Redakcji: 29.03.2002 r.  
Zaakceptowano do druku: 11.04.2002 r.

Received: 29.03.2002  
Accepted: 11.04.2002