

УДК 616.314-089.844-06:577.15

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ИНГИБИТОРОВ ДО И ПОСЛЕ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

Ю.В. Югай, А.А. Голицына, В.Е. Толмачев, Е.В. Маркелова

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-8, матриксная металлопротеиназа-9, тканевой ингибитор металлопротеиназ-1, осложнения дентальной имплантации.

THE ANALYSIS OF INDICATORS OF MATRIX METAL PROTEINASES AND THEIR INHIBITORS BEFORE AND AFTER THE DENTAL IMPLANTATION

Yu. V. Yugai, A. A. Golitsyna, V. E. Tolmachev, E. V. Markelova
*Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation)***Background.** An important aspect of occurrence of early complications of dental implantation and inflammation in the implantation area is integrity of a connecting tissue surrounding it while its injury influences the balance of the tissue metalloproteinase-1 inhibitor (TIMP1) and matrix metalloproteinase (MMPs) 8 and 9.**Methods.** 80 patients at the age of 30–60 years old who underwent dental implantation were examined. In 70 cases the postoperative period had no complications (1st group); at 10 cases there were early complications – an edema and hyperemia of the soft tissues (2nd group). In blood and the mixed oral liquid the levels of MMP-8, MMP-9 and TIMP1 were determined. For the control authors investigated the blood and the oral liquid of 20 practically healthy people.**Results.** Statistically significant increase of the systemic level of MMP-8 is revealed, MMP-9 and TIMP1 has been considerably raised at patients of 2nd group. At patients with not complicated postoperative period local and systemic increase of concentration of MMP-9 and local increase of concentration of TIMP1 is found.**Conclusions.** Studying of qualitative and quantitative characteristics of MMPs and their inhibitors is a perspective direction of basic researches which will allow developing the new approaches to diagnostics and treatment of complications at dental implantation.**Keywords:** *matrix metalloproteinase-8, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of the metalloproteinase-1, complications of the dental implantation.*

Pacific Medical Journal, 2014, No. 3, p. 65–67.

Дентальная имплантация является одним из наиболее высокотехнологичных способов восполнения дефектов зубных рядов, который позволяет улучшить качество жизни пациентов с эстетической и функциональной точек зрения. Следует подчеркнуть то особое значение, которое придается физико-химическим характеристикам поверхности имплантатов. Именно посредством их целенаправленных изменений удалось добиться повышения интенсивности интеграционных процессов в зоне имплантации и снизить риск возможных осложнений [3]. Так, имплантаты из титана и его сплавов в качестве опор для зубных протезов могут сохранять непосредственный контакт с костью – так называемый феномен остеоинтеграции и фиброостеоинтеграции [8].

Югай Юрий Вячеславович – аспирант кафедры физиологии человека ТГМУ; e-mail: yury.yugay@yandex.ru

Важным аспектом профилактики ранних осложнений и воспаления в области имплантата оказывается целостность окружающей его соединительной ткани, при нарушении которой может изменяться баланс тканевого ингибитора металлопротеиназ и матриксных металлопротеиназ 8 и 9 [7]. Матриксные металлопротеиназы (Matrix Metalloproteinases – MMPs) играют центральную роль в обмене белков соединительной ткани, в процессах резорбции и ремоделирования костной ткани. MMP-8 синтезируется дифференцированными гранулоцитами в костном мозге и накапливается в специфических гранулах циркулирующих нейтрофилов. Другими источниками MMP-8 являются клетки эпителия десневой борозды, фибробласты десны и периодонтальной связки, моноциты, макрофаги, плазматические клетки. Эта металлопротеиназа занимает важное место в деструкции тканей периимплантного ложа [6, 7].

MMP-9 продуцируется нормальными альвеолярными макрофагами и гранулоцитами, в частности, нейтрофилами, активированными интерлейкинами 1 и 8, а также трансформированными фибробластами. При пародонтите ее главным источником становятся нейтрофилы, в меньшей степени – моноциты и макрофаги [2].

MMPs выполняют важную функцию в развитии и поддержании хронического воспаления [13]. Экспрессия MMP-9 повышена в тканях, где идет процесс ремоделирования и ангиогенеза. Активность MMPs в физиологических условиях регулируется специфическими тканевыми ингибиторами (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases – TIMP). Нарушение тонкого баланса «протеаза : ингибитор» приводит к активации протеолиза.

Материал и методы. Обследованы 80 пациентов Краевой стоматологической поликлиники г. Владивостока и стоматологической поликлиники «Никодент» в возрасте от 30–60 лет: 43 человека молодого (до 44 лет) и 37 человек среднего (от 44 до 60 лет) возраста, которым была проведена операция дентальной имплантации. В 70 случаях послеоперационный период протекал без осложнений (1-я группа): из них 39 человек молодого и 31 – среднего возраста. У 10 человек наблюдались ранние (отек и гиперемия мягких тканей) осложнения (2-я группа): 4 человека молодого и 6 – среднего возраста.

В качестве материала исследования использовались сыворотка крови и смешанная ротовая жидкость

Таблица

Уровень MMP-8, MMP-9 и TIMP-1 в сыворотке крови и ротовой жидкости (слюне), $M \pm t$

Показатель	Контроль	До операции		1-я группа		2-я группа		
		до 44 лет	44–60 лет	до 44 лет	44–60 лет	до 44 лет	44–60 лет	
MMP-8, нг/мл	Кровь	9,7±1,2	6,0±3,3	7,5±2,9	12,4±4,8	14,0±6,5	26,8±7,1 ¹	36,7±5,0 ¹
	Слюна	72,9±11,5	58,9±2,4	52,9±2,1	54,9±2,1	55,3±1,8	62,3±1,5	64,5±1,5
MMP-9, нг/мл	Кровь	188,4±5,3	221,9±57,5	231,1±56,1	293,8±47,81	293,9±52,1 ¹	302,9±46,9 ¹	312,2±44,1 ¹
	Слюна	477,5±111,3	472,7±132,2	498,5±98,5	790,8±143,4	801,9±110,5 ¹	1942,9±135,2 ¹	2032,8±141,3 ¹
TIMP1, пг/мл	Кровь	164,4±7,1	171,5±8,5	172,5±8,57	190,5±11,2	188,5±14,7	221,2±8,4 ^{1,2}	223,5±11,5 ¹
	Слюна	0,7±0,1	1,2±0,2	1,1±0,2	1,4±0,31	2,1±0,4 ¹	2,5±0,4 ^{1,2}	2,1±0,6 ¹

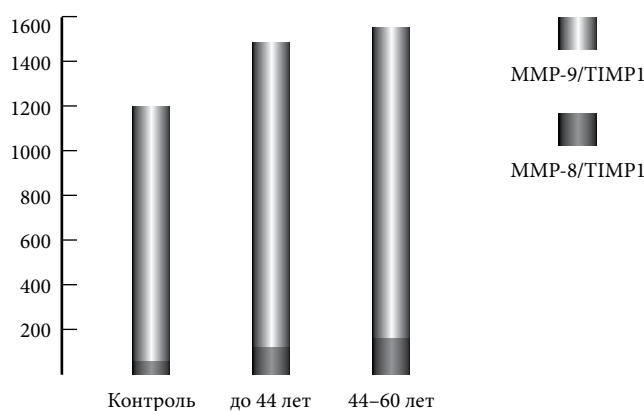
¹ Разница с контролем статистически значима.² Разница с 1-й группой статистически значима.

Рис. 1. Соотношение MMP-8/TIMP1 и MMP-9/TIMP1 в сыворотке крови 2-й группы после дентальной имплантации.

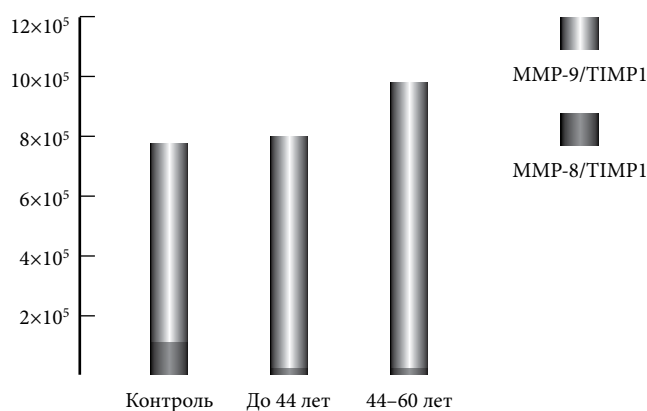


Рис. 2. Соотношение MMP-8/TIMP1 и MMP-9/TIMP1 в ротовой жидкости 2-й группы после дентальной имплантации.

(слюна) пациентов до и после дентальной имплантации. Уровень MMP-8, MMP-9 и TIMP1 определяли иммуноферментным методом с применением реактивов R&D Diagnostics Inc. (США). Для контроля исследовали сыворотку крови и ротовую жидкость 20 практически здоровых добровольцев сопоставимого возраста. Полученные данные обработаны методами вариационной статистики с использованием программы SPSS v. 16.

Результаты исследования. Системное содержание MMP-8 у пациентов с неосложненным послеоперационным течением было незначительно увеличено по сравнению с таковым до операции и по сравнению с контролем и значительно повышено у пациентов 2-й группы. При этом концентрация MMP-8 в смешанной ротовой жидкости практически не изменялась (табл.).

Уровень MMP-9, как в сыворотке крови, так и в ротовой жидкости, до операции существенно не отличался от показателей контрольной группы. Однако на 7-е сутки после оперативного вмешательства определено незначительное системное увеличение ее концентрации у представителей 1-й группы и почти двукратное повышение в крови у лиц с осложненным течением послеоперационного периода. Между пациентами разных возрастных групп существенных различий показателей не выявлено. Также установлено увеличение содержания MMP-9 в слюне после дентальной

имплантации, более выраженное во 2-й группе и у лиц в возрасте 44–60 лет (табл.).

Концентрация TIMP1 была увеличена до и после дентальной имплантации по сравнению с контролем. Соотношение MMP-8/TIMP1 по сыворотке крови было увеличено, а соотношение MMP-9/TIMP1 повышалось, как системно, так и локально (рис. 1, 2).

Обсуждение полученных данных. Анализ сывороточного содержания MMP-8, MMP-9 и TIMP1 у пациентов с осложненным послеоперационным периодом позволил выявить увеличение этих показателей, что свидетельствует о патогенетической роли нарушений соединительнотканного матрикса в развитии ранних осложнений дентальной имплантации.

MMPs обуславливают распад коллагена и других белков соединительнотканного матрикса, а белковые тканевые ингибиторы регулируют их активность. В совокупности аппарат MMPs способен гидролизовать любые компоненты экстрацеллюлярного матрикса: коллагены и проколлагены, протеогликаны, эластин, фибронектин, ламинин, а также адгезины, интегрин и другие массовые поверхностные белки клеток соединительной ткани [1, 9].

Количество вновь синтезируемых MMPs поддается регуляции на уровне транскрипции их структурных генов, но фактическая протеолитическая активность определяется преимущественно на уровне активации

проферментов. Она находится в зависимости от ингибирования активных форм ферментов эндогенными ингибиторами, α_2 -макро-глобулином, TIMP. Экспрессия этих ингибиторов также регулируется факторами роста, гормонами, цитокинами и компонентами межклеточного вещества [5]. Нарушение структуры межклеточного матрикса может оказывать существенное влияние на клетки, взаимодействующие через него с внешней средой.

MMP-8 играет важную роль в деструкции тканей периимплантного ложа и рассматривается в качестве основного разрушающего фактора при осложнениях после дентальной имплантации [6, 14]. У лиц с осложненным течением послеоперационного периода определялось увеличение системного уровня MMP-8, что могло быть связано с активностью воспалительного процесса.

Концентрация MMP-9 на локальном и системном уровнях у пациентов 2-й группы была значительно выше нормы, что может рассматриваться в качестве диагностического признака [6, 10]. Предполагается, что активность MMP-9 может быть использована как маркер риска осложнений дентальной имплантации [11]. TIMP1 подавляет активность MMP-8 и MMP-9 в соотношении 1:1, непосредственно взаимодействуя с активным центром MMPs [4].

Характеризуя роль экспрессии и активации MMPs в проявлении их активности, нужно отметить, что в норме ткани не содержат активных MMPs, а содержание их предшественников находится на минимальном уровне [12]. Таким образом, обе стадии регуляции являются необходимыми для накопления в ткани активной формы матриксина.

Во 2-й группе соотношение MMP-8/TIMP1 в сыворотке крови увеличивалось по сравнению с контролем в 2 и 2,8 раза в разных возрастных группах, соответственно. Это свидетельствовало о том, что при развитии ранних осложнений наблюдается увеличение концентрации MMP-8, «ответственной» за разрушение тканей периимплантного ложа, а компенсаторное увеличение уровня TIMP1 было недостаточным, что вело к нарушению баланса протеолитической активности. К тому же TIMP1 может инактивироваться протеолитическими ферментами – трипсином, хомотрипсином и эластазой нейтрофилов, – благодаря чему значительно возрастает активность MMPs. Изменения соотношений MMP-8/TIMP1 в слюне пациентов 2-й группы оказались неинформативными.

У лиц с ранними осложнениями дентальной имплантации соотношение MMP-9/TIMP1 в сыворотке крови и слюне увеличивалось, особенно у пациентов среднего возраста, что подтверждает роль гиперпродукции MMP-9 в патогенезе нарушений внеклеточного матрикса.

Изучение качественных и количественных характеристик MMPs и их ингибиторов представляет собой перспективное направление фундаментальных исследований, которое позволит разработать новые

подходы к диагностике и лечению осложнений при дентальной имплантации.

References:

1. Klisho E.V., Kondakova I.V., Choynzonov E.L. [et al.] Prognostic significance of proteases in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck // Bulletin SB RAMS. 2005. No. 2 (116). P. 82–91.
2. Nazarov P.G. Acute phase reactants of inflammation. - St. Petersburg: Nauka, 2001, 423 p.
3. Yugay Yu.V., Tolmachev V.E., Markelova E.V. [et al.] Evaluation of cytokine profile in patients before and after dental implant // Pacific Medical Journal. 2013. No. 1. P. 20–22.
4. Brew K., Dinakarpanthian D., Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function // Biochim. Biophys. Acta. 2000. Vol. 1477 (1–2). P. 267–283.
5. Fini M.E., Cook J.R., Mohan R., Brinckerhoff C.E. Regulation of matrix metallo-proteinase gene expression // Matrix metallo-proteinases / eds. Parks W.C., Mecham R.P. San Diego: Academic Press, 1998. P. 299–356.
6. Kiili M., Cox S.W., Chen H.Y. [et al.] Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue // J. Clin. Periodontol. 2002. Vol. 29. P. 224–232.
7. Mäkelä M., Salo T., Uitto V.J., Larjava H. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and TIMP-9) of the oral cavity: cellular origin and relationship to periodontal status // J. Dent. Res. 1994. Vol. 73, No. 8. P. 1397–1406.
8. Mine Y., Makihira S., Nikawa H. [et al.] Impact of titanium ions on osteoblast-, osteoclast- and gingival epithelial-like cells // Journal of Prosthodontic Research. 2010. Vol. 54. P. 1–6.
9. Nagase H., Woessner J.F. Matrix metalloproteinases // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, No. 31. P. 21491–21494.
10. Rai B., Kharb S., Jain R., Anand S.C. Biomarkers of periodontitis in oral fluids // J. Oral Science. 2008. Vol. 50, No. 1. P. 53–56.
11. Séguier S., Gogly B., Bodineau A. [et al.] Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue // J. Periodontol. 2001. Vol. 72. P. 1398–1406.
12. Shapiro S.D., Senior R.M. Matrix metalloproteinases: matrix degradation and more // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 1999. Vol. 20. P. 1100–10102.
13. Sorsa T., Tjaderhane L., Salo T. Matrix metalloproteinases in oral diseases // Oral. Dis. 2004. Vol. 10, No. 6. P. 311–318.
14. Tuter G., Kurtis B., Serdar M. [et al.] Effects of phase 1 periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 // J. Clin. Periodontol. 2005. Vol. 32. P. 1011–1015.

Received: 2014.07.17.

Анализ показателей матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов до и после дентальной имплантации

Ю.В. Югай, А.А. Голицына, В.Е. Толмачев, Е.В. Маркелова
Тихоокеанский государственный медицинский университет
(690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Резюме. Проведен анализ системного и локального содержания матриксных металлопротеиназ (MMPs) 8 и 9 и их тканевого ингибитора (TIMP1) у пациентов до и после операции дентальной имплантации. Выявлено достоверное увеличение MMPs и TIMP1 при наличии ранних послеоперационных осложнений. Изучение качественных и количественных характеристик MMPs и их ингибиторов представляет собой перспективное направление фундаментальных исследований, которое позволит разработать новые подходы к диагностике и лечению осложнений при дентальной имплантации.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-8, матриксная металлопротеиназа-9, тканевой ингибитор металлопротеиназ-1, осложнения дентальной имплантации.