

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 (1<sup>st</sup> group); at 10 cases there were early complications – an edema and hyperemia of the soft tissues (2<sup>nd</sup> 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 2<sup>nd</sup> 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 <sup>1</sup>	36,7±5,0 <sup>1</sup>
	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 <sup>1</sup>	302,9±46,9 <sup>1</sup>	312,2±44,1 <sup>1</sup>
	Слюна	477,5±111,3	472,7±132,2	498,5±98,5	790,8±143,4	801,9±110,5 <sup>1</sup>	1942,9±135,2 <sup>1</sup>	2032,8±141,3 <sup>1</sup>
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 <sup>1,2</sup>	223,5±11,5 <sup>1</sup>
	Слюна	0,7±0,1	1,2±0,2	1,1±0,2	1,4±0,31	2,1±0,4 <sup>1</sup>	2,5±0,4 <sup>1,2</sup>	2,1±0,6 <sup>1</sup>

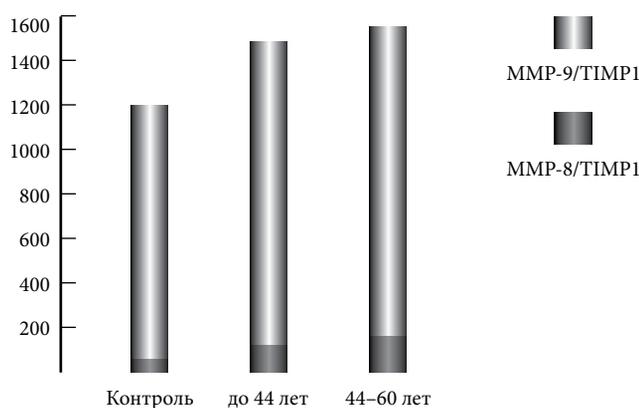
<sup>1</sup> Разница с контролем статистически значима.<sup>2</sup> Разница с 1-й группой статистически значима.

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

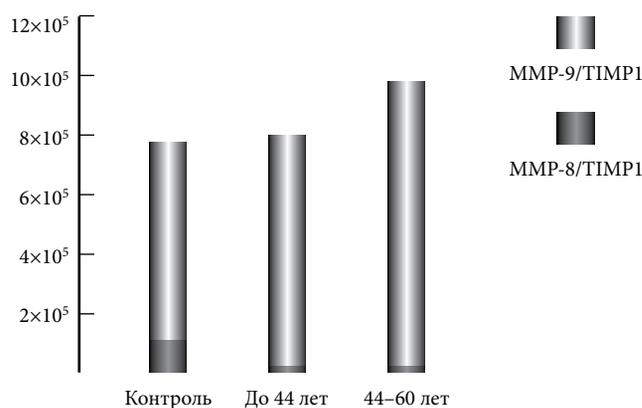


Рис. 2. Соотношение MMP-8/TIMP1 и MMP-9/TIMP1 в ротовой жидкости 2-й группы после дентальной имплантации.

(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,  $\alpha_2$ -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 матриксинов.

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.

#### Литература

1. Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойзонов Е.Л. [и др.] Прогностическая значимость протеаз у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи // Бюллетень СО РАМН. 2005. № 2 (116). С. 82–91.
2. Назаров П.Г. Реактанты острой фазы воспаления. СПб.: Наука, 2001. 423 с.
3. Югай Ю.В., Толмачев В.Е., Маркелова Е.В. [и др.] Оценка цитокинового профиля у пациентов до и после дентальной имплантации // Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. № 1. С. 20–22.
4. Brew K., Dinakarpanian 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.

Поступила в редакцию 17.07.2014.

#### 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.