

*Казеко Л. А.<sup>1</sup>, Рукша К. Г.<sup>2</sup>, Портянко А. С.<sup>2</sup>, Черствый Е. Д.<sup>1</sup>*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ MMP-13 И MMP-14 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ И БЫСТРОПРОГРЕССИРУЮЩЕМ ПЕРИОДОНТИТЕ**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный медицинский университет,*

*г. Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова,*

*г. Минск, Республика Беларусь*

*В данном исследовании приведены результаты анализа экспрессии матричных металлопротеиназ (ММП) 13 и 14 типа в эпителии и строме десны при периодонтите, а также оценки связи экспрессии данных белков с клинической формой течения заболевания. Показана возможность использования морфологического исследования при воспалительном процессе как дополнительного метода в стоматологической практике.*

*Ключевые слова: матричная металлопротеиназа, периодонтит, десна*

*Kazeka L. A.<sup>1</sup>, Ruksha K. G.<sup>2</sup>, Portyanko A. S.<sup>2</sup>, Cherstvy E. D.<sup>1</sup>*

## **CHANGES IN EXPRESSION OF MMP-13 AND MMP-14 IN CHRONIC AND RAPIDLY PROGRESSIVE PERIODONTITIS**

<sup>1</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus,  
Minsk, Republic of Belarus*

*The study shows the results of changes in the expression of matrix metalloproteinases (MMP) 13 and 14 in the epithelium and stroma of the gingiva in periodontitis and assessment of its possible significance in the clinical course of the disease. We showed the perspective of morphologic examination in the inflammatory process in the dental practice.*

*Key words: matrix metalloproteinase, periodontitis, gingiva*

**Введение.** Периодонтиты – группа заболеваний, характеризующихся разрушением подлежащей соединительной ткани периодонта. Заболевания периодонта являются социально значимой проблемой, поскольку влекут за собой утерю зубов, что снижает качество жизни трудоспособного населения.

Матричные металлопротеиназы (ММП) – семейство Zn-зависимых ферментов, которые участвуют в деструкции всех типов белков внеклеточного матрикса и активируются при воспалительных и опухолевых процессах.

Интерес для стоматологов в качестве потенциальных маркеров течения периодонтита представляют коллагеназы – ММП-8 и ММП-13, разрушающие коллаген I типа, являющийся основным составным компонентом соединительной ткани периодонта, а также желатиназы – ММП-2 и ММП-9. В свою очередь, известно, что коллагеназы активирует мембраносвязанный фермент клеток стромы ММП-14, а желатиназы – ММП-7. В совокупности молекулы запускают «каскад» реакций, ведущих к деструкции периодонта[1].

**Цель исследования** – определить прогностическую значимость иммуногистохимического определения ММП-13 и ММП-14 при периодонтите.

**Материалы и методы.** Для оценки экспрессии было проведено гистологическое исследование 30 биоптатов десны пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом (13 человек) и хроническим периодонтитом (17 человек). Всем пациентам была проведена профессиональная гигиена полости рта и закрытый кюретаж, во время которого выполнена биопсия мягких тканей периодонта.

Фрагменты ткани фиксировались в формалине, после чего изготавливались гистологические срезы толщиной 4 мкм и монтировались на предметные стекла, обработанные 3-аминопропилтриэтоксисиланом. Демаскировка антигенов проводилась в течение 30 с при температуре 125 °С в нагреваемой барокамере Pascal (ДАКО, Дания) в буфере pH 9,0. В качестве первичных использовались моноклональные мышинные антитела к ММП-13 (клон V8A2, Invitrogen, США, 1:250) и моноклональные кроличьи антитела к ММП-14 (клон EP1264Y, Abcam, Великобритания, 1:500). Инкубация с коктейлем из первичных антител проводилась в холодильной камере при 4°С в течение 18 ч. Детекция связавшихся антител производилась при помощи полимерной системы визуализации BioGenex SuperSensitive™ (SS) Polymer-HRP IHC Detection System (BioGenex, США). В качестве хромогена использовался диаминобензидин (ДАКО, Дания), в качестве контрокрасивания – гематоксилин Майера. При проведении отрицательного контрольного окрашивания исключались первичные антитела. Затем производилась съемка

гистологических препаратов по 3 случайных непересекающихся поля зрения таким образом, чтобы поле зрения включало участок эпителия и стромы десны. В каждом поле зрения с помощью программы Aperio ImageScope v.9.0 происходило автоматическое разделение пикселей по цвету в зависимости от интенсивности иммуногистохимического окрашивания. В дальнейшем, согласно преобладающему цвету, экспрессию учитывали как отрицательную (синий цвет), слабую (желтый цвет), умеренную (оранжевый цвет) или выраженную (коричневый цвет). Статистический анализ производился с использованием пакета Statistica 12. Сравнение групп проводили с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса.

**Результаты и обсуждение.** Экспрессия ММП-13 имела место во всех исследуемых случаях как быстро прогрессирующего, так и хронического периодонтита. Для фермента было характерно его отсутствие в эпителии десны и локализация в стромальных клетках, предположительно, макрофагах и фибробластах (рис. 1). При сравнении групп с быстро прогрессирующим и хроническим течением периодонтита не было выявлено статистически значимых различий экспрессии ММП-13 в строме.

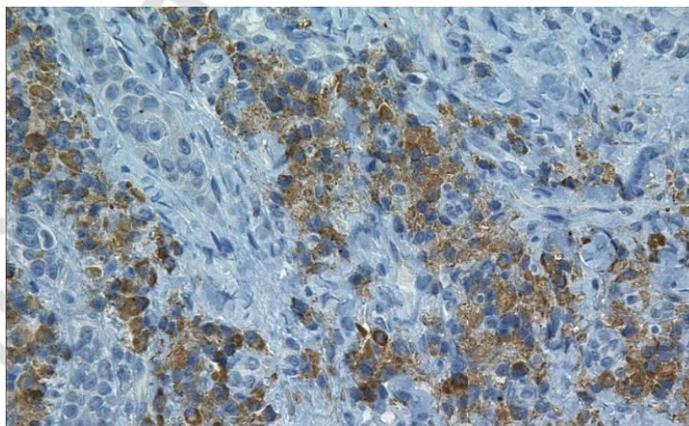


Рис. 1. Экспрессия ММП-13 в строме десны,  $\times 200$  (хромоген – DAB, контрокрашивание гематоксилином Майера)

ММП-14 характеризовалась мембранным паттерном окрашивания клеток базального слоя эпителия и клеток стромы. Экспрессия носила преимущественно слабый и умеренно выраженный характер и достоверно снижалась в строме периодонта при быстро прогрессирующем периодонтите по

сравнению с группой пациентов с простым и сложным хроническим периодонтитом ( $p = 0,0027$ ) (таблица 1, рисунок 2).

Таблица 1

Сравнение экспрессии MMP-14 в строме периодонта в группах с различным клиническим течением периодонтита

Экспрессия MMP-14 в строме периодонта	Быстропрогрессирующий периодонтит	Хронический (простой или сложный) периодонтит	Количество пациентов, всего
Слабая и умеренная	13	7	20
	43,33 %	23,33 %	66,67 %
Выраженная	0	10	10
	0,00 %	33,33 %	25,93 %
Количество случаев, всего	13	17	30
% от всех случаев	43,33 %	56,67 %	100,00%
$\chi^2$ с поправкой Йетса $p = 0,0027$			

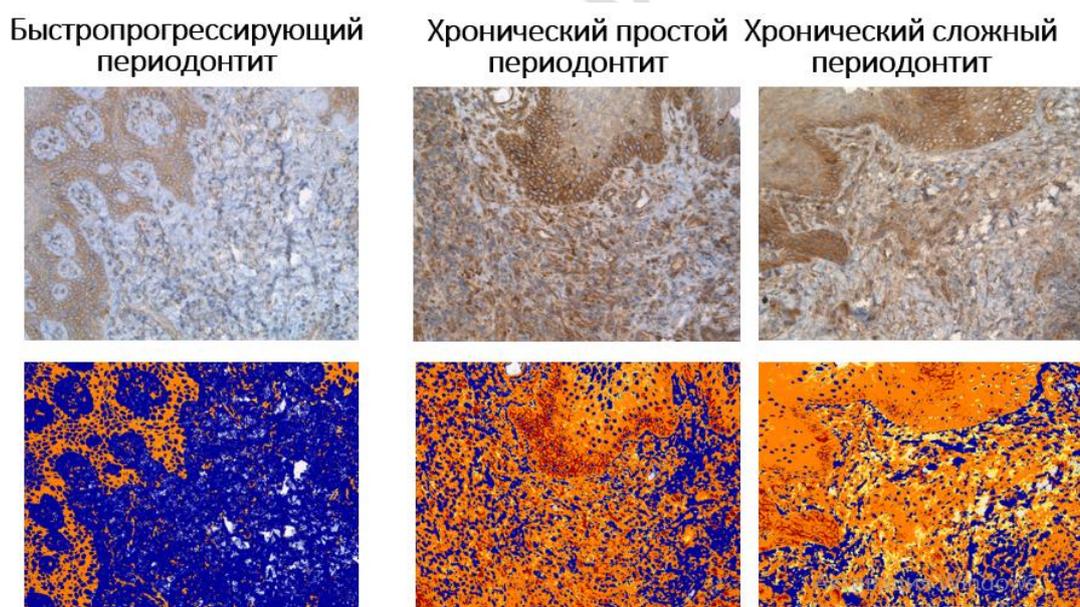


Рис.2. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к MMP-14,  $\times 200$  (хромоген – DAB, контрокрашивание гематоксилином Майера) и изображение после морфометрического анализа с помощью программы Aperio ImageScope v 9.0.

MMP-13 (коллагеназа-3) – фермент, который присутствует в заживающей ткани десны, пульпе, одонтобластах. Известно, что MMP-13 способна активировать остеобласты и тем самым участвует в патогенезе многих остеодеструктивных заболеваний [2]. Ранее было описано повышение иммуногистохимической экспрессии MMP-13 и увеличение ее концентрации в десневой жидкости наряду с MMP-7, -8, -9, а также параллельное увеличение

концентрации карбокситерминальных пептидов коллагена I типа в периоды прогрессирования заболевания, что свидетельствует о разрушении соединительной ткани [3, 4]. В нашем исследовании уровень ММП-13 достоверно не изменялся в тканях пациентов с разным течением периодонтита. Тем не менее, несомненно, что ММП-13 появляется при воспалении и участвует в активационном каскаде металлопротеиназ, поскольку известно, что в нормальной ткани десны экспрессия фермента отсутствует.

В литературе описано возрастание уровня ММП-14 в десневой жидкости при прогрессировании периодонтита [5]. Согласно нашим данным, выраженная экспрессия ММП-14 появлялась только при хронической форме заболевания, в то время как при быстро прогрессирующей в ряде случаев была отрицательной или слабой. Таким образом, повышение уровня ММП-14, возможно, могло бы стать маркером хронического течения процесса. Тем не менее, для уточнения роли данного фермента в хронизации периодонтита, требуется дальнейшее комплексное изучение изменений экспрессии и других ММП, образующих единый каскад, ведущий к разрушению соединительной ткани.

#### Литература

1. Cavalla F., Hernandez-Rios P., Sorsa T. et al. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation // *Int. Journal of Mol. Sciences.* – 2017. – № 18. – 440.
2. Reboul P., Pelletier J. P., Tardif G. et al. The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes. A role in osteoarthritis // *J Clin Invest.* – 1996. – №97. – P. 2011-2019.
3. Petra S., Bogdan O., Sorina M. S. et al. Matrix metalloproteinase -7, -8, -9, -13 in gingival tissue of patients with type I diabetes and periodontitis // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2014. – № 55. – P. 1137-1141.
4. Hernandez R. M., Sorsa T., Obregon F. et al. Proteolytic roles of matrix metalloproteinase (MMP)-13 during progression of chronic periodontitis: initial evidence for MMP-13/MMP-9 activation cascade // *J Clin Periodontol.* – 2009. – № 36. – P. 1011-1017.
5. Hernandez M., Gamonal J., Tervahartiala T. et al. Associations between matrix metalloproteinase-8 and -14 and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid from subjects with progressive chronic periodontitis: a longitudinal study // *J. Periodontol.* – 2010. – № 81. – P. 1644-1652.