



<https://doi.org/10.34883/PI.2024.8.2.010>
УДК 616.314.18-002-08:612.398.145.3



Казеко Л.А.¹, Захарова В.А.²✉, Летковская Т.А.¹

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр ЛОТИОС», Минск, Беларусь

Динамика индексов экспрессии MMPs к TIMP1 в оценке эффективности лечения быстропрогрессирующего периодонтита

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Казеко Л.А. – разработка цели, концепции и дизайна исследования, набор пациентов в группы, их обследование и лечение, поиск публикаций по теме, написание текста и утверждение финальной версии рукописи; Захарова В.А. – согласование концепции и дизайна исследования, морфометрический анализ гистологических изображений, статистическая обработка, обобщение данных, критический анализ и корректировка текста рукописи, формата представления полученных результатов; Летковская Т.А. – согласование и утверждение концепции дизайна исследования, корректировка текста рукописи и формата представления результатов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Подана: 27.05.2024

Принята: 31.05.2024

Контакты: zakharava.vikt@gmail.com

Резюме

Цель. Установить характер изменения соотношений уровней экспрессии MMP1, MMP2, MMP8, MMP9, MMP14 к TIMP1 при быстропрогрессирующем периодонтите (БПП) в зависимости от тактики лечения.

Материалы и методы. Проведено одноцентровое рандомизированное контролируемое исследование с параллельным включением пациентов с БПП в сравниваемые группы. Программный анализ параметров экспрессии MMPs (1, 2, 8, 9, 14) и TIMP1 и статистический анализ данных выполнены с использованием AperioImageScope v12.4.0.5043, Statistica 10.0, MedCalc 20.009.

Результаты. Индексы экспрессии MMPs к TIMP1 в группе пациентов с быстропрогрессирующим характером течения периодонтита показали вариабельные тенденции их изменения в зависимости от срока наблюдения и тактики лечения. Сравнительный анализ индексов экспрессии всех изученных MMPs/TIMP1 показал, что на момент манифестации заболевания экспрессия MMPs при стандартном и предлагаемом методах терапии в 2,47 и 2,34 раза превышала таковую TIMP1, в срок 1 месяц увеличивалась до 6,18 и 3,03 соответственно и постепенно снижалась к концу года наблюдения до 0,70 и 0,77 соответственно. Так, в сроке 1 месяца наблюдения и лечения отмечался рост индексов экспрессии MMP8/TIMP1 при обоих вариантах терапии ($Me_{standard}$ с 0,16 до 1,08 и Me_{new} с 0,13 до 2,35), рост индексов экспрессии MMP2/TIMP1 при стандартной терапии (Me с 2,51 до 10,50) и планомерное их снижение к 1 (Me с 2,77 до 1,59) и 12 месяцам (Me до 0,61) терапии при предлагаемом методе лечения. Похожая тенденция выявлена для индексов MMP9/TIMP1 и MMP14/TIMP1, которые характеризовались планомерным снижением параметров от момента манифестации заболевания к 1 и 12 месяцам наблюдения, статистически значимым при предлагаемом варианте лечения ($Me_{MMP9/TIMP1}$ с 1,29 до 0,67 и $Me_{MMP14/TIMP1}$ с 2,19 до 1,1 соответственно, $p < 0,05$).

Заключение. В группе пациентов с быстропрогрессирующим периодонтитом выявлена тенденция к снижению индексов MMPs/TIMP1 менее единицы в сроке 12 месяцев наблюдения и лечения, характеризующая эффективность и относительный контроль ингибирующего действия TIMP1 на активность MMPs при обеих тактиках лечения. А меньшие индексы экспрессии MMPs к TIMP1 в сроке 1 месяца могут свидетельствовать о более низкой активности воспаления, а также более эффективной и быстрой регенерации периодонтальных тканей при предлагаемом методе терапии.

Ключевые слова: периодонтит, MMP, TIMP, иммуногистохимия, биопсия десны

Ludmila A. Kazeko¹, Viktoryia A. Zakharava² ✉, Tat'yana A. Letkovskaya¹

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Scientific and Practical Center LOTIOS, Minsk, Belarus

The Dynamics of MMPs and TIMP-1 Expression Levels in Assessing the Efficacy of Aggressive Periodontitis Treatment

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Kazeko L. – development of the purpose, concept and design of the study, recruitment of patients into groups, their examination and treatment, search for publications on the topic, writing the text and approval of the final version of the manuscript; Zakharava V. – coordination of the concept and design of the study, morphometric analysis of histological images, statistical processing, data synthesis, critical analysis and correction of the manuscript text, format for presenting the results obtained; Letkovskaya T. – coordination and approval of the study design concept, adjustment of the text of the manuscript and format for presenting the results. All authors made significant contributions to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Submitted: 27.05.2024

Accepted: 31.05.2024

Contacts: zakharava.vikt@gmail.com

Abstract

Purpose. To establish changes in the ratio of expression levels of MMP1, MMP2, MMP8, MMP9, MMP14 to TIMP 1 in aggressive periodontitis, depending on the treatment tactics.

Materials and methods. A single-center randomized controlled trial with parallel inclusion of patients with AgP in the comparison groups. Software analysis of MMP (1, 2, 8, 9, 14) and TIMP1 expression parameters and statistical data analysis were performed using AperioImageScope v12.4.0.5043, Statistica 10.0, MedCALc 20.009.

Results. MMPs-TIMP1 expression indices in the group of patients with aggressive periodontitis showed variable trends in their changes depending on the duration of follow-up and treatment option. A comparative analysis of the expression indices of all studied MMPs/TIMP1 showed that at the time of disease manifestation, MMPs expression with standard and proposed therapies was 2.47 and 2.34 times higher than that of TIMP1, increased to 6.18 and 3.03 respectively within 1 month and gradually decreased to 0.70 and 0.77 respectively by the end of the year of follow-up. Thus, during 1 month of follow-up and treatment, there was an increase in the MMP8/TIMP1 expression indices for both therapy options (Me_{standard} from 0.16 to 1.08 and Me_{new} from 0.13 to 2.35), an increase in



the MMP2/TIMP1 expression indices with standard therapy (Me from 2.51 to 10.50) and a systematic decrease to 1 (Me from 2.77 to 1.59) and 12 months (Me to 0.61) of therapy with the proposed treatment method. A similar trend was found for the MMP9/TIMP1 and MMP14/TIMP1 indices, which were characterized by a systematic decrease in parameters from the moment of disease manifestation to 1 and 12 months of follow-up, statistically significant with the proposed treatment option ($Me_{MMP9/TIMP1}$ from 1.29 to 0.67 and $Me_{MMP14/TIMP1}$ from 2.19 to 1.1, respectively, $p < 0.05$).

Conclusion. In the group of patients with aggressive periodontitis, a tendency to decrease MMPs/TIMP1 indices by less than one was revealed during 12 months of follow-up and treatment, characterizing the effectiveness and relative control of the inhibitory effect of TIMP1 on MMPs activity with both treatment tactics. And lower MMPs expression indices to TIMP 1 in a row of 1 month may indicate lower inflammatory activity, as well as more effective and rapid regeneration of periodontal tissues with the proposed therapy method.

Keywords: periodontitis, MMP, TIMP, immunohistochemistry, gingival biopsy

■ ВВЕДЕНИЕ

Основной причиной развития периодонтита являются инфекционное поражение тканей периодонта, а также индуцированная микроорганизмами иммунная и воспалительная реакции организма человека. Длительное прогрессирование процесса приводит к разрушению поддерживающих тканей периодонта, включая периодонтальную связку и альвеолярную кость, определяя деструктивный характер заболевания.

Заболевания периодонта вызываются изменением уровня целого ряда ферментов, относящихся к семейству матриксных металлопротеиназ (MMPs), известно около 30 подклассов, которые помимо прямой деградации костного коллагенового матрикса могут модулировать резорбцию кости посредством активации и дифференцировки остеокластов.

Действию MMPs противодействуют тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMPs), которые подавляют их активность, ограничивая разрушение первичных субстратов (Snoek-van Burden и Von den Hoff, 2005). MMP мембранного типа (MT-MMP) образуют отдельную группу, поскольку они связаны с клеточной мембраной и редко ингибируются TIMP1 (English et al., 2001; Baker et al., 2002).

Немногие исследования были посвящены определению уровня TIMP1 в тканях периодонта, данные их достаточно противоречивы. В соответствии с результатами Soell M. et al. (2002) и Garlet G.P. et al. (2004), выявлена повышенная экспрессия TIMPs в пораженных тканях периодонта, которая, по мнению авторов, связана с попыткой поддержания гомеостаза в ответ на повышенную экспрессию MMPs [1, 2]. Другие исследования показали более низкие уровни TIMP1 в пораженных тканях периодонта, что позволяет предположить, что дисбаланс MMPs/TIMPs приводит к разрушению периодонта [1, 3]. Высокое соотношение MMP9/TIMP1 (то есть повышенный уровень MMP9 и пониженный уровень TIMP1) является маркером деструктивных процессов в периодонте [4].

В дополнение к антибактериальной терапии при лечении заболеваний периодонта рассматриваются терапевтические подходы, модулирующие реакцию хозяина на инфекционные агенты [5], например, ингибирование коллагеназ синтетически модифицированными низкодозированными тетрациклинами, у которых отсутствуют свойства антибиотиков, но выражено модулирующее, антиколлагенолитическое действие [6].

SDD (субантимикробные дозы доксициклина) получили широкое распространение как эффективная дополнительная системная терапия в лечении периодонтита наряду с проведением традиционного scaling и root planing. Этот эффект достигается за счет действия низких доз тетрациклина и его аналогов и ингибирования MMP8 и MMP13 [7].

Никаких существенных побочных эффектов или нежелательных долгосрочных антимикробных эффектов, связанных с пероральным приемом SDD, нет. Дополнительное использование SDD в дозе 20 мг два раза в день эффективно и хорошо переносится, значительно улучшает некоторые показатели здоровья периодонта (снижает утерю эпителиального прикрепления, уменьшает глубину зондирования), что объясняется ингибированием MMPs (полученный результат сохраняется в течение 9 месяцев у взрослых с хроническим периодонтитом) [8, 9].

Применение субантимикробных доз доксициклина эффективно при проведении хирургических вмешательств на тканях периодонта: отмечается скорейшее заживление ран, уменьшение глубины зондирования, увеличение уровня эпителиального прикрепления, ингибирование резорбции кости и снижение экспрессии MMPs [10, 11].

Проведенное при локализованном агрессивном периодонтите нехирургическое лечение с системным применением антибиотиков (500 мг амоксициллина и 250 мг метронидазола 3 раза в день в течение 7 дней) привело к значительному снижению уровней MMP1, MMP8, MMP9, MMP12 и MMP13 в десневой жидкости, собранной из пораженного участка, и сопоставимости их с показателями со здоровых участков [12].

Bataiosu M. et al. провели исследование, целью которого была оценка влияния комбинации метронидазола с амоксициллином или спирамицином на высвобождение и активацию MMP2 и баланс MMP2/TIMP2. Был сделан вывод о том, что обе комбинации антибиотиков, протестированные в исследовании, обладают способностью уменьшать воспаление, а также ингибировать активность MMP2. Никаких существенных различий в экспрессии TIMP2 не выявлено [13].

Ghodpage P. et al. после проведения scaling и root planing отметили наряду с уменьшением кровоточивости, глубины зондирования, утери эпителиального прикрепления снижение экспрессии MMP1 и увеличение экспрессии TIMP1 в десневой жидкости [14].

Исследование Sundjojo M. et al. подтвердило описанное при нехирургическом лечении улучшение клинических показателей. Однако, как отметили авторы, экспрессия MMP9 не претерпела существенных изменений после 30-го дня. Была отмечена слабая корреляция между уровнем транскрипции MMP9 и кровоточивостью десны [15].

Нехирургическое лечение локализованного агрессивного периодонтита эффективнее при дополнительном использовании β -глюкана, что сопровождается тенденцией к модуляции профиля цитокинов в образцах тканей десны. Получен лучший модулирующий эффект на уровни MMP1 и MMP9 по сравнению с контрольной



группой. MMP9 оказался более чувствительным индикатором состояния периодонта по сравнению с MMP1: экспрессия MMP9 может быть точным индикатором активности заболеваний периодонта [16].

У пациентов с периодонтитом, получавших дополнительно лечение диодным лазером, наблюдалось увеличение уровня эпителиального прикрепления через 3 и 6 месяцев после лечения, уменьшение глубины периодонтальных карманов через 6 месяцев; уровень экспрессии MMP8 снижался статистически значимо по сравнению с контрольной группой [17].

Гипербарическая кислородная терапия наряду с нехирургическим лечением хронического периодонтита может иметь дополнительный эффект в снижении уровня MMP8 в слюне [18].

Обработка озоном в дополнение к нехирургическому лечению периодонтита улучшает клинические показатели тканей периодонта, а также значительно снижает уровень MMP9 по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) через 8 недель [19].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить характер изменения соотношений уровней экспрессии MMP1, MMP2, MMP8, MMP9, MMP14 к TIMP1 при быстро прогрессирующем периодонтите в зависимости от тактики лечения.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические данные. В группу исследования включены 19 пациентов с генерализованной формой быстро прогрессирующего периодонтита (БПП) (Grade C), которым выполнено клинико-инструментальное обследование и лечение на кафедре консервативной стоматологии УО «Белорусский государственный медицинский университет». В рамках одноцентрового слепого рандомизированного контролируемого проспективного продольного исследования пациенты с быстро прогрессирующим течением периодонтита параллельно включались в сравниваемые группы в зависимости от применяемой тактики лечения.

Критериями включения в исследование явились клинико-рентгенологические признаки поражения периодонта и возраст пациентов 18–35 лет. У каждого из пациентов получено информированное согласие, форма которого разработана в рамках исследования.

Объектом исследования явился биопсийный материал десны, полученный в процессе кюретажа периодонтальных карманов. В качестве объекта исследования выступили 19 пациентов с БПП, обратившихся за медицинской помощью в 2018–2020 гг., которым выполнялось клинико-инструментальное и морфологическое исследование в динамике с контрольными точками: 0 – на момент обращения и диагностики БПП до начала лечения и с интервалами 1 и 12 месяцев. Рандомизация пациентов в группы осуществлялась с использованием метода случайных чисел. В первой группе (группа сравнения, $n=9$) проводилось стандартное лечение (в соответствии с клиническими протоколами, утвержденными в 2011 г.), во второй группе (группа исследования, $n=10$) применялся предложенный метод лечения, заключающийся в дополнительном введении в периодонтальный карман антисептического и гемостатического компресса, содержащего трикальцийфосфат, эвгенол и йодоформ; в случае обострения применялись НПВП.

Иммуногистохимическое исследование. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование выполнено на базе кафедры патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет». Из парафиновых блоков наиболее информативных микропрепаратов биопсийного материала десен пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом изготавливались гистологические срезы с толщиной 2,5 мкм, депарафинировались и окрашивались с использованием иммуногистохимического метода. Протокол ИГХ-окрашивания и характеристика выявленной экспрессии представлены в табл. 1, 2.

Морфометрический анализ. Морфометрический анализ сканов ИГХ препаратов выполнялся с использованием программного обеспечения AperioImageScope v12.4.0.5043 путем выделения 12 случайных непересекающихся полей зрения стромального компонента десны (цифровое увеличение $\times 200$). Интенсивность коричневой

Таблица 1
Ключевые особенности ИГХ для выявления MMPs и TIMP1 в биопсийном материале десен пациентов с БПП
Table 1
Key features of IHM for the detection of MMPs and TIMP1 in the gingival biopsy material of patients with aggressive periodontitis

Первичное антитело, клон	Происхождение антител	Демаскировочный буфер pH, время экспозиции при 125°	Визуализирующая система	Разведение	Время экспозиции хромогена	Позитивный контроль
MMP1	кроличьи	pH=9,0 – 1'	rabbit	1:1000	3 минуты	слизистая желудка
MMP2	кроличьи	pH=9,0 – 1'	rabbit	1:100	5 минут	слизистая кишки
MMP8	кроличьи	pH=9,0 – 2.5'	rabbit	1:1000	3 минуты	костный мозг
MMP9	мышинные	pH=9,0 – 2.5'	mouse	1:1600	5 минут	костный мозг
MMP14	кроличьи	pH=9,0 – 30"	rabbit	1:500	5 минут	слизистая желудка
TIMP1	кроличьи	pH=9,0 – 2'30"	rabbit	1:50	4 минуты	простата

Таблица 2
Характер экспрессии MMPs и TIMP1 в биопсийном материале десен пациентов с быстропрогрессирующим периодонтитом
Table 2
Features of IHM expression of MMPs and TIMP1 in the gingival biopsy material of patients with aggressive periodontitis

Маркеры	Характер экспрессии
MMP1	Гомогенное окрашивание цитоплазмы лейкоцитов/гистиоцитов, фибробластов, эндотелия в коричневый цвет различной интенсивности
MMP2	Гомогенное окрашивание цитоплазмы эпителиальных клеток (преимущественно базальных слоев), фибробластов, эндотелия и лейкоцитов в коричневый цвет различной интенсивности
MMP8	Гомогенное окрашивание цитоплазмы лейкоцитов/гистиоцитов, фибробластов, эндотелия в коричневый цвет различной интенсивности
MMP9	Гомогенное окрашивание цитоплазмы лейкоцитов/гистиоцитов, фибробластов, эпителиальных клеток (преимущественно базальных слоев) в коричневый цвет различной интенсивности
MMP14	Гомогенное окрашивание цитоплазмы эпителиальных клеток (преимущественно базальных слоев), фибробластов, эндотелия и лейкоцитов в коричневый цвет различной интенсивности
TIMP1	Гомогенное цитоплазматическое и мембранное окрашивание в коричневый цвет различной интенсивности лейкоцитов/гистиоцитов, эпителия десны, фибробластов



окраски (продуктов реакции ДАБ-хромогена) измерялась AperioImageScope автоматически и разделялась на 3 уровня интенсивности и негативную реакцию. Результат программной оценки параметров позитивности (Positivity – отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$) имел прямую взаимосвязь с данными визуальной оценки.

Статистический анализ. Размер выборки предварительно не рассчитывался, а определялся количеством пациентов, соответствующих установленным критериям включения и исключения. Статистический анализ данных выполнялся с использованием программного обеспечения Statistica 10.0, MedCalc 20.009. Для оценки характера распределения полученных данных использовался критерий Шапиро – Уилка (W). Описательная статистика непараметрических данных представлялась с вычислением медианы (Me), интерквартильного (25% и 75% процентиля – IQR), максимального и минимального значения. Парное сравнение независимых выборок выполняли с использованием критерия Манна – Уитни (U-критерий), выборок с наблюдениями в динамике – с использованием критерия Вилкоксона (W-критерий). Уровень статистической значимости $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным, MMPs и TIMPs показали взаимную регуляцию их экспрессии, которая может зависеть от эндогенно секретируемых факторов (роста) и цитокинов (Gomez et al., 1997) и заключаться не только в ингибировании TIMPs различных классов/подклассов MMPs [4, 20].

В нашем исследовании в качестве одного из диагностически значимых маркеров для оценки эффективности лечения пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом из всех TIMPs использован TIMP1. Это обусловлено тем, что лишь TIMP1 и TIMP3 являются индуцибельными ферментами (причем TIMP3 – мембраносвязанным ферментом, образующим прочные связи с компонентами экстрацеллюлярного матрикса (Leco et al., 1994; Yu et al., 2000)), в то время как экспрессия TIMP2 в значительной степени является конститутивной, а выявление TIMP4 ограничено нервной тканью, яичками, яичниками, а также тканями сердца, молочной железы и скелетных мышц у мышей (Young et al., 2002; Lambert et al., 2004). Экспрессия TIMP1 иммунными и резидентными клетками, такими как фибробласты, нейтрофилы, лимфоциты, эпителиальные, эндотелиальные, дендритные и опухолевые клетки, а также взаимосвязь с уровнями экспрессии MMPs обусловили использование нами TIMP1 в качестве наиболее чувствительного и информативного маркера для оценки дисбаланса цитокинов в тканях периодонта при быстро прогрессирующем периодонтите.

Характер экспрессии изученных MMPs и TIMP1 в биопсийном материале десен пациентов при быстро прогрессирующем периодонтите представлен на рис. 1 и в табл. 2.

Диагностическое и прогностическое значение уровней экспрессии MMPs и TIMPs на этапе манифестации заболевания в биопсийном материале десны у пациентов с быстро прогрессирующим характером течения периодонтита продемонстрировано нами в целом ряде публикаций [21–23].

Динамика уровней стромальной экспрессии различных MMPs и TIMP1 в зависимости от сроков наблюдения и характера терапии была весьма вариабельной (рис. 2).

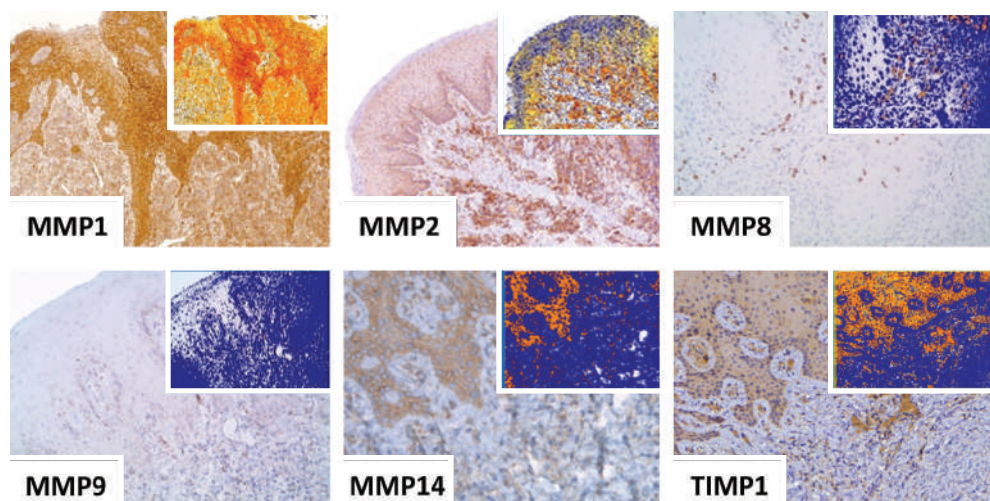


Рис. 1. ИГХ-выявление экспрессии MMPs и TIMP1 в биопсийном материале десен (×200) и работы алгоритма Positive Pixel Count v9 программы AperioImageScope v12.4.0.5043

Fig. 1. IHC testing of MMPs and TIMP1 expression in the gingival biopsy material (×200) and the operation of the Positive Pixel Count v9 algorithm of the AperioImageScope v12.4.0.5043 program

Тенденция к планомерному снижению уровней экспрессии изученных маркеров от момента манифестации заболевания к 1-му и 12-му месяцу наблюдения при обоих вариантах терапии отмечалась для MMP2, а при предлагаемом методе терапии дополнительно для MMP8 и MMP14. Планомерное повышение уровней экспрессии в динамике наблюдалось лишь для MMP8 при стандартном лечении. Для MMP1 и MMP9 отмечалась волнообразная динамика при обоих вариантах терапии. Относительно TIMP1 имела место тенденция к снижению уровней экспрессии на 1-м месяце с ростом к 12-му месяцу наблюдения. При этом разница колебаний позитивности TIMP1 с резким снижением на 1-м месяце наблюдения была более значимой при стандартной терапии.

Для анализа эффективности различных вариантов терапии при быстро прогрессирующем периодонтите в рамках данного исследования выполнены расчет и оценка соотношения позитивности экспрессии каждой из изученных MMPs к TIMP1 на момент манифестации заболевания и в сроки 1 и 12 месяцев после начала терапии.

Группы исследования и сравнения по индексам экспрессии MMP2, MMP8, MMP9 к TIMP1 на этапе манифестации заболевания были сопоставимы ($p > 0,05$, табл. 3). Для оценки индексов экспрессии MMP1 и MMP14 к TIMP1 в группе исследования данных было недостаточно по причине малого количества наблюдений из-за искусственных изменений ИГХ препаратов.

Согласно полученным результатам, отмечалась преимущественно волнообразная динамика индексов стромальной экспрессии MMP1, MMP2, MMP8 к TIMP1 (рис. 3, табл. 3, 4) с повышением индексов экспрессии в период 1 месяца наблюдения и снижением к концу года наблюдения.

Индексы экспрессии MMP2/TIMP1 имели тенденцию к росту в срок 1 месяц наблюдения при стандартной терапии и планомерному снижению к 1 и 12 месяцам

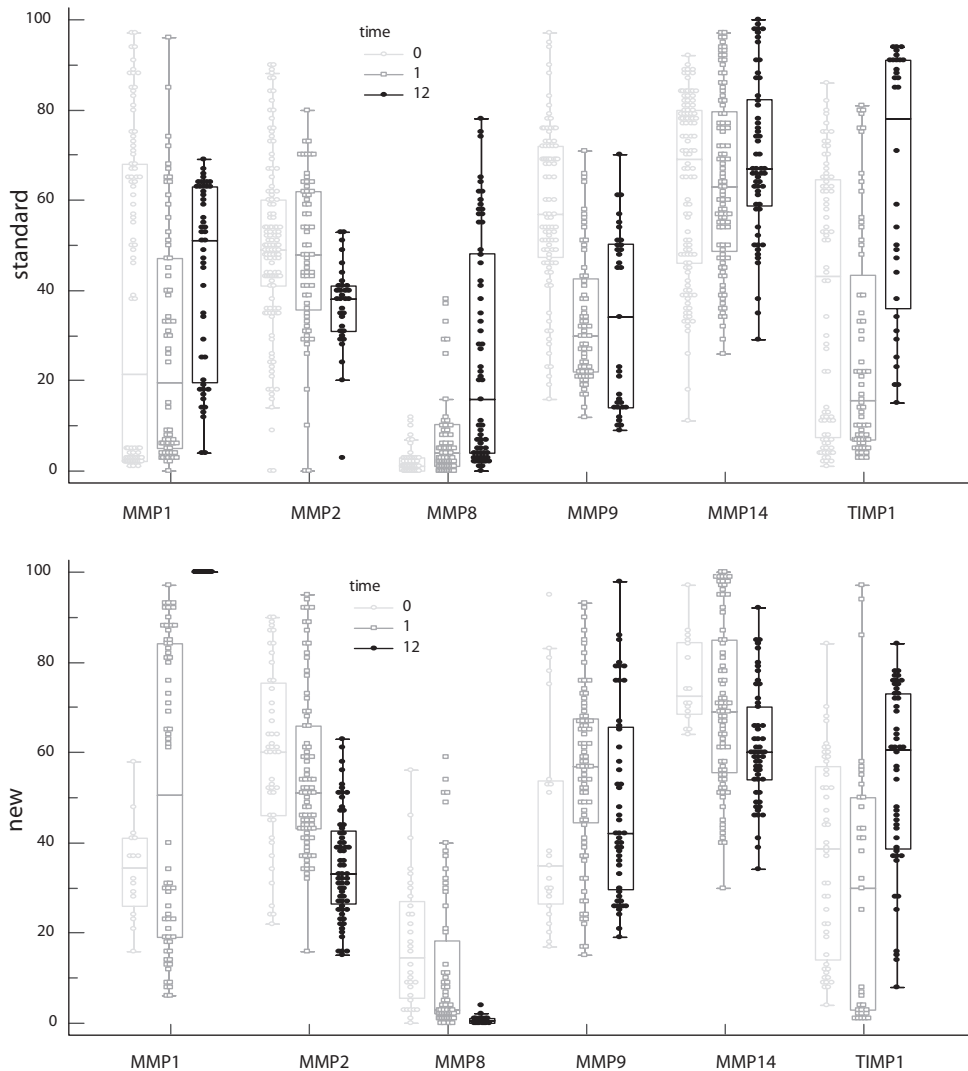


Рис. 2. Динамика позитивности стромальной экспрессии MMPs и TIMP1 в биопсийном материале десен пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом в зависимости от сроков наблюдения (мес.)

Fig. 2. Dynamics of stromal expression positivity of MMPs and TIMP1 in gingival biopsy material of patients with aggressive periodontitis depending on the observation period (month)

терапии при предлагаемом методе лечения (табл. 4). При этом в сроке наблюдения 1 месяц индексы экспрессии MMP2/TIMP1 при предлагаемом методе терапии были практически в 10 раз ниже таковых при стандартном лечении (табл. 3).

Похожая тенденция выявлена для индексов MMP9/TIMP1 и MMP14/TIMP1, которые характеризовались планомерным снижением параметров от момента манифестации заболевания к 1 и 12 месяцам наблюдения, статистически значимым при предлагаемом варианте лечения (табл. 4).

Таблица 3
Сравнение независимых групп пациентов с быстропрогрессирующим периодонтитом по параметрам отношений стромальной экспрессии MMPs к TIMP1 в биопсийном материале десен (критерий Манна – Уитни)
Table 3

Comparison paired samples of patients with aggressive periodontitis according to the parameters of the ratio of stromal expression of MMPs to TIMP1 in the gingival biopsy material of (Mann-Whitney test)

Индексы	0 (манифестация)		1 месяц		12 месяцев	
	standard	new	standard	new	standard	new
MMP1/ TIMP1	0,75 [0,63; 1,01]	–	11,83 [8,0; 15,7]	7,75 [2,38; 15,0]	0,76 [0,67; 1,28]	1,44 [1,32; 1,71]
	–		U=113 p=0,21		U=206 p<0,001*	
MMP2/ TIMP1	2,51 [0,89; 8,79]	2,77 [1,41; 7,42]	10,50 [7,88; 18,0]	1,59 [0,90; 18,5]	0,57 [0,41; 1,04]	0,61 [0,44; 1,19]
	U=684,5 p=0,55		U=155,5 p=0,047*		U=699 p=0,50	
MMP8/ TIMP1	0,16 [0,07; 0,45]	0,13 [0,06; 0,26]	1,08 [0,05; 4,07]	2,35 [0,04; 16,5]	0,67 [0,63; 0,86]	0,01 [0,0; 0,04]
	U=216 p=0,39		U=420 p=0,22		Z=–5,59 p<0,001*	
MMP9/ TIMP1	3,5 [0,93; 11,55]	4,11 [3,75; 8,64]	2,56 [1,73; 3,96]	1,29 [0,67; 16,25]	0,53 [0,45; 0,61]	0,67 [0,50; 1,62]
	U=140 p=0,50		U=259 p=0,68		U=470 p=0,003*	
MMP14/ TIMP1	5,42 [1,32; 16,2]	–	4,92 [1,05; 10,83]	2,19 [1,08; 25,0]	0,95 [0,86; 1,47]	1,10 [0,85; 1,45]
	–		U=754,5 p=0,43		U=723,5 p=0,66	

Примечание: * различия статистически значимы.

Таблица 4
Сравнение зависимых групп пациентов с быстропрогрессирующим периодонтитом по параметрам отношений стромальной экспрессии MMPs к TIMP1 в биопсийном материале десен (критерий Вилкоксона)
Table 4

Comparison paired samples of patients with aggressive periodontitis according to the parameters of the ratio of stromal expression of MMPs to TIMP1 in the gingival biopsy material of (Wilcoxon test)

Индексы экспрес- сии / Ме	standard			new		
	0	1 месяц	12 месяцев	0	1 месяц	12 месяцев
MMP1/TIMP1	0,75	11,83	0,76	–	7,75	1,44
MMP2/TIMP1	2,51	10,50	0,57	2,77	1,59	0,61
				$W_{0-1}=19$ p=0,002* $W_{1-12}=15$ p=0,006* $W_{0-12}=61$ p=0,72		
MMP8/TIMP1	0,16	1,08	0,67	0,13	2,35	0,01
	$W_{0-1}=17$ p=0,008*			$W_{0-1}=20$ p=0,013* $W_{0-12}=3$ p=0,001* $W_{1-12}=43,5$ p=0,21		
MMP9/TIMP1	3,5	2,56	0,53	4,11	1,29	0,67
	$W_{0-1}=37$ p=0,11			$W_{0-1}=1,6$ p=0,11 $W_{1-12}=1$ p<0,001*		
MMP14/TIMP1	5,42	4,92	0,95	–	2,19	1,10
	$W_{0-1}=42$ p=0,18			$W_{1-12}=13$ p=0,004*		

Примечание: * различия статистически значимы.

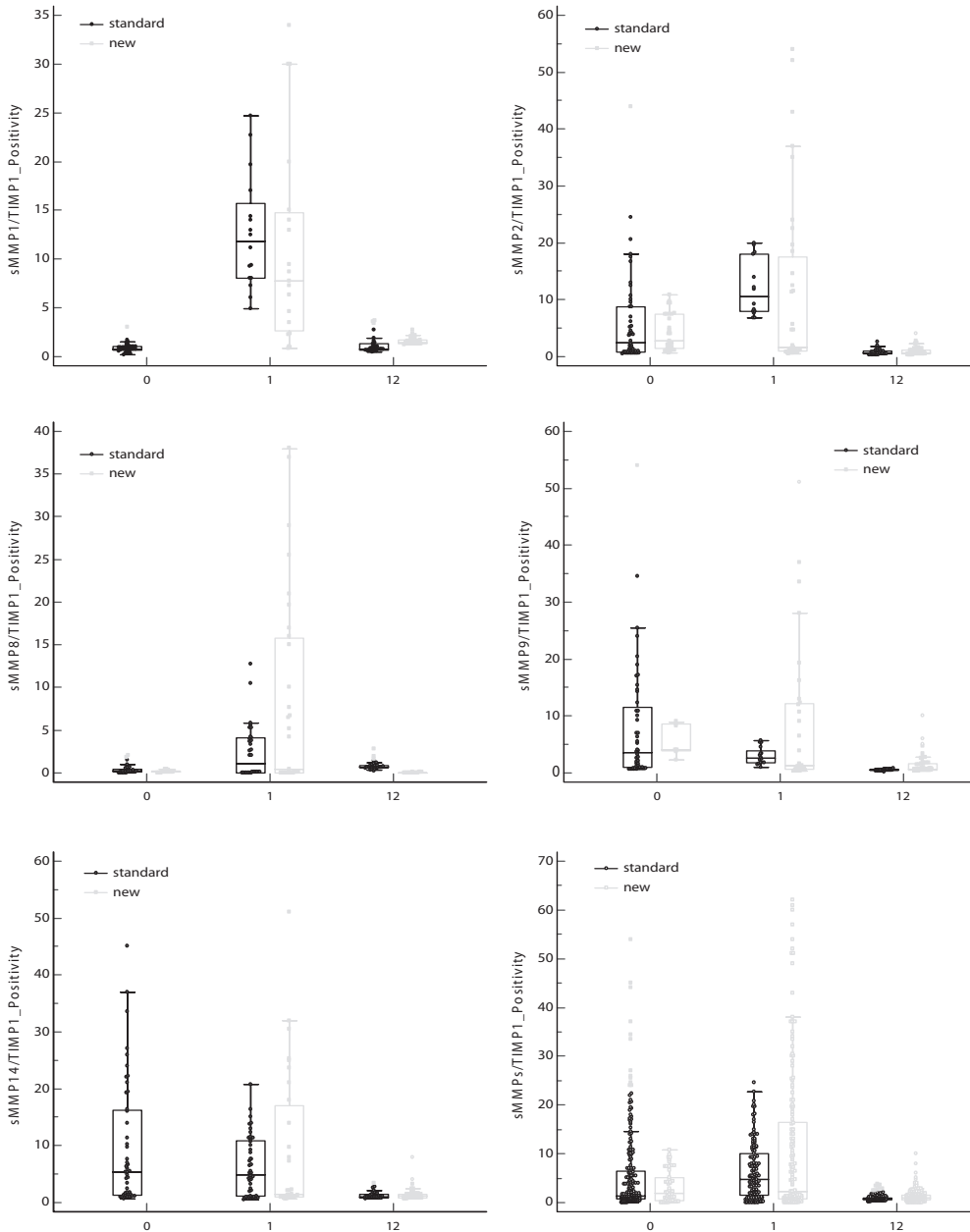


Рис. 3. Динамика отношений позитивности стромальной экспрессии MMPs к TIMP1 в биопсийном материале десен пациентов с быстро прогрессирующим периодонтитом в зависимости от сроков наблюдения (мес.)

Fig. 3. Dynamics of the ratio of stromal expression of MMPs to TIMP1 in gingival biopsy material of patients with aggressive periodontitis depending on the observation period (month)

При этом для MMP8 показан статистически значимый рост индексов экспрессии MMP8/TIMP1 в динамике от манифестации к 1 месяцу наблюдения как при стандартном, так и при предлагаемом методе терапии (табл. 4) и со значимым их снижением в срок 12 месяцев, причем более выраженным при предлагаемом методе терапии по сравнению со стандартным (табл. 3, 4).

Баланс между MMPs и TIMPs играет важную роль в поддержании целостности здоровых тканей. Избыточность экспрессии MMPs и/или недостаточность экспрессии TIMPs могут приводить к деструкции экстрацеллюлярного матрикса, в том числе тканей периодонта и альвеолярной кости. Почти все классы и подклассы MMPs могут быть ингибированы всеми четырьмя TIMPs, однако существуют различия в средстве связывания (Olson et al., 1997).

TIMPs образуют нековалентные стехиометрические комплексы с MMPs в соотношении 1:1. В связи с этим нами выполнен сравнительный анализ индексов экспрессии всех изученных MMPs к TIMP1 (рис. 3), который показал, что на момент манифестации заболевания экспрессия всех MMPs при стандартном и предлагаемом методах терапии в 2,47 и 2,34 раза превышала таковую TIMP1, в срок 1 месяц увеличивалась до 6,18 и 3,03 раза соответственно и постепенно снижалась к концу года наблюдения до 0,70 и 0,77 раза соответственно.

Выявленная тенденция к снижению средних значений индексов MMPs/TIMP1 менее единицы, то есть более низких средних показателей экспрессии всех изученных MMPs по сравнению с таковыми TIMP1, в сроке 12 месяцев наблюдения может свидетельствовать об эффективности обеих тактик лечения, как стандартной, так и предлагаемой. Одновременно вдвое более низкие индексы MMPs/TIMP1 на фоне более высоких уровней TIMP1 в сроке 1 месяца наблюдения при предлагаемом методе лечения по сравнению со стандартным могут отражать относительно более эффективную и быструю регенерацию и более низкую активность воспаления тканей периодонта на фоне проводимого лечения.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ соотношения уровней стромальной экспрессии MMPs и TIMP1 в группе пациентов с быстропрогрессирующим периодонтитом показал вариабельные тенденции их изменения в зависимости от срока наблюдения и тактики лечения. Так, при стандартной терапии в сроке 1 месяц отмечались рост индексов экспрессии MMPs к TIMP1 для MMP1, MMP2, MMP8, статистически значимый лишь для MMP8, и незначимое снижение индексов экспрессии MMP9 и MMP14. Одновременно при предлагаемом методе лечения к концу 1 месяца наблюдения отмечались планомерное снижение индексов экспрессии MMP2 и MMP9 к TIMP1, статистически значимое лишь для MMP2, и значимый их рост для MMP8. Выявленная тенденция к снижению индексов MMPs/TIMP1 менее единицы в сроке 12 месяцев наблюдения может свидетельствовать об эффективности и относительном контроле ингибирующего действия TIMP1 на активность MMPs при обеих тактиках лечения, как стандартной, так и предлагаемой. А менее выраженный рост индексов экспрессии MMPs к TIMP1 в сроке 1 месяца наблюдения при предлагаемом методе терапии по сравнению со стандартным может свидетельствовать об относительно более низкой активности воспаления, более эффективной и быстрой регенерации периодонтальных тканей и, вероятно, меньшей скорости утраты альвеолярной кости.



■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Soell M., Elkaim R., Tenenbaum H., Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res*. 2002;81:174–178.
2. Garlet G.P., Jr Martins W., Fonseca B.A., Ferreira B.R., Silva J.S. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2004;31:671–679.
3. Tuter G., Kurtis B., Sedar 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.
4. Verstappen J., Von den Hoff J.W. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): Their Biological Functions and Involvement in Oral Disease. *Journal of Dental Research*. 2006;85(12):1074–1084.
5. Teughels W., Dhondt R., Dekeyser C., Quirynen M. Treatment of aggressive periodontitis. *Periodontology*. 2000. 2014;65(1):107–133.
6. Swamy D.N., Sanivarapu S., Moogla S., Kapalavai V. Chemically modified tetracyclines: The novel host modulating agents. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2015;19(4):370–374.
7. Honibald E.N., Mathew S., Padmanaban J., Sundaram E., Ramamoorth R.D. Periocutics: Matrix metalloproteinase inhibitors as an adjunctive therapy for inflammatory periodontal disease. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012;4(2):417–421.
8. Ciancio S., Ashley R. Safety and efficacy of subantimicrobial-dose doxycycline therapy in patients with adult periodontitis. *Adv Dent Res*. 1998;12:27–31.
9. Reddy M.S., Geurs N.C., Gunsolley J.C. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003;8:12–37.
10. Gapski R., Barr J.L., Sarment D.P., Layher M.G., Socransky S.S., Giannobile W.V. Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: A proof of concept trial. *J Periodontol*. 2004;75:441–452.
11. Gapski R., Hasturk H., Van Dyke T.E. Systemic MMP inhibition for periodontal wound repair: results of a multi-centre randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2009;36:149–156. doi: 10.1111/j.1600-51X.2008.01351.x
12. Goncalves P.F., Huang H., McAninley S., Alfant B., Harrison P., Aukhil I., Walker C., Shaddox L.M. Periodontal Treatment Reduces Matrix Metalloproteinase Levels in Localized Aggressive Periodontitis. *J Periodontol*. 2013;84(12):1801–1808.
13. Bataiosu M.M., Taisescu C.I., Pisoschi C.G. Effects of therapy with two combinations of antibiotics on the imbalance of MMP-2/TIMP-2 in chronic periodontitis. *Rom J Morphol Embryol*. 2015;56(1):77–83.
14. Ghodpage P.S., Kolte R.A., Kolte A.P., Gupta M. Influence of phase I periodontal therapy on levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *The Saudi Dental Journal*. 2014;26(4):171–175.
15. Sundjojo M., Lessang R., Soerono Yu., Bachtar B.M. Scaling and root planing effect to mRNA expression of Matrix Metalloproteinase-9 and periodontal clinical parameters on chronic periodontitis. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clinica Integrada*. 2019;19(1):1–7.
16. Hazzaa H.H., Abo Hager E.A. Expression of MMP-1 and MMP-9 in localized aggressive periodontitis patients before and after treatment: a clinical and immunohistochemical. *Oral Medicine, X-Ray, Oral Biology & Oral Pathology*. 2017;63(1):667–684.
17. Sopi M., Kocani F., Bardhoshi M., Meqa K. The effect of periodontal therapy on the level of MMP-8 in patients with chronic periodontitis. *Eur J Dent*. 2023;17:70–75.
18. Soranta N.P., Hendianib I., Rusminahc N., Wandawa G. Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy on MMP-8 Saliva Levels in Chronic Periodontitis: A Preliminary Research. *The International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*. 2021;60(4):45–55.
19. Gul S.N.S., Dilsiz1 A., Ozturk N., Gul M.A. Effects of Ozone Therapy as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Treatment on Clinical Periodontal Parameters and Inflammatory Markers in Periodontitis Patients. *Meandros Med Dent J*. 2023;24(2):119–124.
20. Lambert E., Dassé E., Haye B., Petitfrère E. TIMPs as multifacil proteins. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004;49:187–198.
21. Kazeko L.A., Zakharava V.A., Anfinogenova E.A., Cherstvoy E.D. The significance of the expression of matrix metalloproteinases in the differential diagnosis of periodontal diseases. *Russian Journal of Archive of Patology*. 2021;83(3):20–29. doi: 10.17116/patol20218303120. (in Russian)
22. Kazeko L.A., Zakharava V.A., Benesh J.D. The role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the pathogenesis of aggressive periodontitis. *Stomatologiya Estetika Innovatsii = Dentistry Aesthetics Innovations*. 2022;6(4):329–336. doi: 10.34883/PI.2022.6.4.006
23. Kazeko L.A., Zakharava V.A., Benesh J.D., Cherstvoy E.D. Significance of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases expression in pathogenesis and differential diagnosis of periodontal pathology. *Vestnik RAMN=Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2023;78(3):213–226. doi: 10.15690/vramn2041. (in Russian)