САЛИВАРНАТА ЕЛАСТАЗА-ЕНЗИМСКИ МАРКЕР НА ПАРОДОНТАЛНОТО ЗДРАВЈЕ

Пешевска С., Накова М., Ивановски К.

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Клиника за болести на устата и пародонтот

Апстракт

Имајќи ја предвид важноста на ранатa детекција, но и следењето на успешноста на терапијата на иницијалната пародонтална болест, ја поставивме целта на истражувањето - да ја проследиме динамиката на саливарната еластаза и да ја евалуираме можноста овој инфламаторен ензим да биде маркер на пародонталното здравје. Двете групи на испитаници беа составени од здрави лица на возраст 20-30 години, при што испитуванатa група ја сочинуваа пациенти со иницијална пародонтална афекција, а кај контролнатa група таа отсуствуваше. Испитуванатa група беше подложена на класична пародонтална терапија, при што клиничките индекси беа одредувани пред и посттераписки, кога беше земана и саливата. Кај обете групи беа нотирани индексот на дентален плак (ИДП), индекс на гингивална инфламација (ИГИ) и индекс на гингивално крвавење (ИГК). Нестимулираната салива беше колекционирана со просто извлекување кај сите испитаници и веднаш беше дистрибуирана на Клиничка биохемија за детекција на еластазата со имунотурбидиметриска метода. Статистичката анализа беше направена со Студентовиот "t" тест. Статистички сигнификантното (p<0,001) елевирање на саливарно-еластазното ниво во испитуванатa група во преттерапискиот период, во однос на контролнатa група, е рефлексија на инфламацијата во пародонтот. Статистички сигнификантниот (p<0.001) пад на еластазното ниво посттераписки, во однос на преттерапиското ниво, кај испитуванатa група, говори за супримирање на инфламаторниот процес, што кореспондира и со високото сигнификантно депресирање (p<0.001), на клиничките индекси. Иако рапидно депресирано, еластазното ниво, непосредно посттераписки, е на горнатa граница на референтни вредности, што укажува на хроницитетот и цикличниот карактер на пародонтопатијата. Со ова се потврдува успешноста на овој индикатор во детекцијата на инфламацијата, но и во верификувањето на терапискатa ефикасност.

Клучни зборови: саливарна еластаза, иницијална пародонтална болест

Вовед

Ензимската саливарна активност го рефлектира пародонталното здравје, а поседува и потенцијал за дијагностицирање на деструктивната пародонтална инфламација и следење на пародонталното заздравување по терапијата. Имајќи го предвид фактот дека прогресивната деструкција на атачментот инволвира сигнификантна протеолиза, јасна е асоцираноста на еластазното ниво со инфламаторниот ткивен одговор на што

укажуваат многу автори (15, 13). Токму екцесивното и неконтролирано ослободување на протеазите при инфламација, причинува автодигестија и ткивна деструкција, при што се ослободуваат биолошки и имунолошки медијатори на инфламација. Саливарно-еластазната активност е збир од еластазните активности ослободени од сите места во пародонтот, при што кај пациентите со пародонтална афекција всушност, нејзините инхибитори се, инхибирани. Paulleto и сор. (14) ја детектираат елевираната еластаза во оралните флуиди при пародонтална болест, а Whitener и сор. (16), заклучуваат дека постојат разлики во саливарните нивоа на еластазата и нејзините инхибитори помеѓу здравите и пациентите со пародонтално заболување, со зголемување на степенот на болеста. Huynh и сор. (10), сугерираат дека еластазната активност е повеќе поврзана со инфламацијата, отколку со степенот на ткивната деструкција, додека Palcanis и сор. (13), сметаат дека таа слободна и комплексирана со инхибиторите, позитивно корелира со губитокот на периодонталниот атачмент и со присуството на одредени пародонтопатогени бактерии во супрагингивалниот плак.

За посттераписка редукција на еластазното ниво известуваат бројни автори (3, 7), сугерирајќи дека таа може да игра значајна улога и во прогресијата на пародонталната болест, па затоа промените во нејзиното ниво во овој период можат да бидат индикатор за активноста и напредувањето на болеста. Во многу известувања (11, 15) е детектиран драматичен пад во еластазното ниво како резултат на успешна тераписка постапка. Дека мерењата на саливарната еластаза обезбедуваат ветувачка насока во евалуацијата на пародонталното здравје известуваат и Nieminen и сор. (12).

Имајќи ја предвид важноста на раната детекција, но и следењето на успешноста на терапијата на иницијалната пародонтална болест, ја поставивме целта на истражувањето - да ја проследиме динамиката на саливарната еластаза и да ја евалуираме можноста овој инфламаторен ензим да биде маркер на пародонталното здравје.

Материјал и метод

За остварување на поставената цел на Клиниката за болести на устата и пародонтот беа проследени вкупно 40 испитаници, од кои контролната група ја сочинуваа 20, а испитуваната група, исто така, 20 испитаници. Испитуваната група беше формирана од пациенти со утврдена пародонтална болест од иницијален клинички стадиум, на возраст од 20 до 30 години. Во анамнестичкото проследување, вниманието беше фокусирано на добивање темелни податоци за верификација на отсуство на какво било системско заболување. Дијагнозата беше поставувана врз база на анамнестичките податоци, клиничкиот преглед и рентгенскиот наод. Клиничкиот преглед насочен кон анализа на гингивалниот статус, беше реализиран преку примена на индексот на дентален плак по Silness-Loe (ИДП), индексот на гингивална инфламација по Loe-Silness (ИГИ) и индексот на гингивално крвавење по Cowell и сор. (ИГК).

По извршениот клинички преглед и нотирањето на индексните вредности (ИДП, ИГИ, ИГК), кај оваа група беше земена мешана салива по пат на просто извлекување, без стимулација, во количество од 5 до 10 ссм, во стерилни шишенца, а потоа во временски период до 2 часа беше дистрибуирана во Институтот за клиничка биохемија за понатамошно обработување. Испитуваната група (20), беше третирана со класична тераписка постапка, која се состои од елиминација на меки и тврди забни наслаги, киретажа на пародонтални џебови сè до максимално елиминирање на патолошката содржина и смирување на инфламацијата до комплетна санација, а потоа беа нотирани индексните вредности на ИДП, ИГИ, ИГК и беше колекционирана салива од третираните пациенти.

Контролната група ја сочинуваа здрави испитаници без пародонтална болест, кај кои беа направени истите испитувања.

За одредување на еластазата во салива беше користена имунотурбидиметриска метода. Статистичката обработка на податоците за индексните вредности како и вредноста на саливарниот маркер беше направена со помош на Студентовиот „t"-тест.

Резултати

Резултатите од спроведените методолошки зацртани параметри, како и од статистичката обработка на податоците се презентирани на табеларните прикази кои следуваат.

ТАБЕЛА 1. *- ПРИКАЗ НА ИНДЕКСНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ДЕНТАЛЕН ПЛАК, ГИНГИВАЛНА ИНФЛАМАЦИЈА И ГИНГИВАЛНО КРВАВЕЊЕ, КАЈ ИСПИТУВАНАТА ГРУПА ПРЕД И ПОСТТЕРАПИСКИ*

	Испитувана група пред терапија n = 20			Испитувана група по терапија n = 20		
	ИДП	ИГИ	ИГК	ИДП	ИГИ	ИГК
x	1.86	2.10	1.64	0.66	0.69	0.57
SD	0.99	0.98	1.70	0.58	0.49	0.50
Se	0.157	0.155	0.269	0.130	0.110	0.089
t				5.856	6.763	2.807
p				<0.001	<0.001	<0.001
				***	***	***

На табела 1, даден е споредбен приказ на вредностите на индексите на дентален плак, гингивална инфламација и гингивално крвавење, кај испитуваната група пред и пост тераписки, од кој е јасна високата статистичка сигнификантност на разликите на вредностите (p<0,001) за сите испитувани индекси, која е условена од драстичниот пад на вредностите на испитуваните индекси посттераписки.

ТАБЕЛА 2. *- ПРИКАЗ НА САЛИВАРНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ЕЛАСТАЗАТА КАЈ КОНТРОЛНАТА И ИСПИТУВАНАТА ГРУПА ПРЕД ТЕРАПИЈА*

μg /l	Контролна група n = 20	Испитувана група пред терапија n = 20
x	39.9	75.6
SD	11	14
Se	2.46	2.21
t		13.545
p		< 0.001
		***

Саливарните вредности на еластазата кај контролната и испитуваната група пред терапија прикажани на табела 2, покажуваат силен пораст на вредноста 75,614,00 μg/l, во испитуваната група, наспроти контролната, каде таа вредност е 39,911,00 μg/l, што резултира во висока статистичка сигнификантност на разликите на вредностите (p<0,001).

ТАБЕЛА 3. *- СПОРЕДБЕН ПРИКАЗ НА САЛИВАРНИТЕ ВРЕДНОСТИ НА ЕЛАСТАЗАТА КАЈ ИСПИТУВАНАТА ГРУПА ПРЕД И ПОСТТЕРАПИСКИ*

μg /l	Испитувана група пред терапија n = 20	Испитувана група по терапија n = 20
x	75.6	47.17
SD	14	13
Se	2.21	2.90
t		11.905
p		<0.001

Следната табела 3, е споредбен приказ на саливарните вредности на еластазата кај испитуваната група пред и посттераписки, при што е нотирана висока статистичка сигнификантност на разликите на вредностите (p<0,001), посттераписки, а истата е резултат од драматичниот пад на саливарното еластазно ниво во групата по класична терапија од 47,1713,00 μg/l, наспроти испитуваната група преттераписки каде еластазната вредност е 75,6 14,00 μg/l.

ТАБЕЛА 4. *- ПРИКАЗ НА САЛИВАРНАТА ВРЕДНОСТ НА ЕЛАСТАЗАТА КАЈ КОНТРОЛНАТА И ИСПИТУВАНАТА ГРУПА ПРЕД И ПОСТТЕРАПИСКИ*

μg /l	Контролна група n = 20	Испитувана група пред терапија n = 20	Испитувана група по терапија n = 20
x	39.9	75.6	47.17
SD	11	14	13
Se	2.46	2.21	2.90
t		13.48	4.57
p		<0.001	<0.001
		***	***

На табела 4, даден е компаративен приказ на саливарната вредност на еластазата кај контролната и испитуваната група пред и по терапијата, при што евидентна е висока статистичка сигнификантност (p<0,001), во испитуваната група пред и посттераписки наспроти контролната група. Динамиката на

саливарната вредност на еластазата укажува дека таа е елевирана во испитуваната група пред терапија (75,614,00 μg/l), наспроти контролната група каде е 39,911,00 μg/l, односно 47,1713,00 μg/l, во испитуваната група по терапија.

Дискусија

Одговорот на пародонталното ткиво на микробната инвазија го вклучува и продуцирањето на неколку фамилии ензими кои ги ослободуваат стромалните, епителните клетки, но и инфламаторните клетки. За особеното значење на протеолитичните ензими известува и Белазелкоска(1). Хуманата еластаза е серин-протеаза синтетизирана од клетките на миелопоетичната лоза, а е депонирана во азурофилните гранули на полиморфонуклеарите. При прекумерна активација или при дезинтеграција на неутрофилите, еластазата одговорна пред сé за интраце-луларен пад на протеините, се ослободува во екстрацелуларните простори, каде може да го разгради еластинот, колагенот, фибриногенот, факторите на коагулација, протеогликаните и конституенсите на базалната мембрана.

Еластазата имплицирана во пародонталната деструкција главно е регулирана со инхибиторите 2 макроглобулин и 1 антитрипсин, при што нивната протективна улога може да биде изгубена при присуство на кислородни радикали, кои, пак, ги продуцираат стимулираните неутрофили. Бројни студии говорат за елевирани саливарни нивоа при пародонталната болест (15, 16, 6). Зголеменото саливарно ниво на еластазата е во согласност со зголеменото ослободување на истата од гранулоцитите, како и со нивниот зголемен број при инфламацијата. Балансот помеѓу концентрацијата на еластазата и активните инхибитори одредува дали ќе се појави протеолизата. Своите штетни дејства еластазата ги искажува локално и веднаш по ослободувањето од инфламаторните клетки пред да биде блокирана од инхибиторите.

Од нашите добиени резултати при кои во контролната група ги детектираме ИДП, ИГИ и ИГК со вредност 0, наспроти испитуваната група преттераписки, каде ИДП е со вредност 1.860.99, евидентно е соодветствувањето со зголемените ИГИ и ИГК, кои се 2.100.98, односно 1.641.70, при иницијална пародонтална болест.

Сметаме дека нашите резултати се рефлексија на несомненото партиципирање на плакот во инфламаторната реакција на гингивалното ткиво, која се реперкуира во мошне рани васкуларни измени, детектирани со гингиворагија, како сигурен знак за активна инфламаторна фаза на пародонталното заболување, или, пак, за вовед во пародонтално-ткивна деструкција.

Нашите добиени резултати од кои е јасно статистички сигнификантното ($p<0,001$) елевирање на саливарно-еластазното ниво во испитуваната група во преттерапискиот период во однос на контролната група се во склад со наодите на бројни автори (3, 5, 14).

Вака високото ниво сметаме дека е рефлексија на гранулоцитните инфламаторни ефекти условени со либерирање на еластазата, која ја алтерира васкуларната пермеабилност, ја посредува цитотоксичноста и дигестира голем дел од компонентите на врзното ткиво. Едновремено, сметаме дека вака високото ниво се должи на ензимско-инхибиторниот дисбаланс со што сме во согласност со Boackle и сор. (2). Конечно, вака високите нивоа на еластаза, всушност се израз на силната ткивна инфламација и затоа што таа има моќ да ги деградира хуморалните одбранбени компоненти како Ц3 и ИгГ, но и тенденција да ја редуцира комплементната инхибиторна функција.

Неоспорен факт е, дека полиморфонуклеарите се нагласено присутни во инфламираните гингивални ареи, и дека е зголемен бројот на истите во ѓебот, што во крајна линија е во согласност со вака детектираните еластазни нивоа. Бидејќи вкупното саливарно ниво е збир на вкупната слободна, но и комплексирана еластаза од сите инфламирани места во оралниот простор, сметаме

дека елевацијата на еластазата е рефлексија на присутната инфламација во пародонтот, а се должи на прекумерното либерирање на истата, но и на комплексираната со инхибиторите, што е во склад со Figuerdo и сор. (9), Eley и Cox(8).

Тераписките мерки при лекувањето на иницијалната пародонтална афекција, всушност треба да воспостават деликатна рамнотежа помеѓу количеството и составот на плакот, од една страна, и заштитните реакции на организмот, од друга страна. Оваа рамнотежа е извонредно вулнерабилна и бара перманентно следење и одржување. Соодветната терапија значајно ја редуцира величината на инфламацијата при што клиничките параметри (ИДП, ИГИ, ИГК), го следат објективното клиничко подобрување.

Нашите добиени резултати во испитуваната група во посттерапискиот период нотираат високо сигнификантна статистичка ($p<0.001$) редукција на сите испитувани индексни вредности, во однос на преттераписките вредности.

Сметаме дека вака добиените резултати се во согласност со редуцираниот бактериски предизвик, причинет од драстичното намалување на нивото на денталниот плак. Наш став е дека механичката обработка е извонредно важен чинител во пародонталната терапија, кој го прекинува бактерискиот и екстрацелуларниот матрикс, ги редефинира коренските површини ослободувајќи ги од субгингивалното некротично ткиво и минерализирани депозити, овозможувајќи побрза ремоделација на пародонтално ткивниот комплекс.

Нашите добиени резултати говорат за статистички сигнификантен ($p<0.001$) посттераписки пад на еластазното ниво, во однос на преттерапиското ниво, со што сме во склад со бројни автори (15, 11, 3, 7). Ваквите резултати говорат за супримирање на инфламаторниот процес, што кореспондира и со високата статистичка сигнификантност ($p<0.001$), на клиничките индекси, во истите групи. Овој наод е во согласност и со Niemenen и сор. (12), кои сметаат дека нивото на саливарната еластаза го следи процесот на пародонтално заздравување по успешната терапија, што е клинички верификувано со соодветните индекси (ИГИ, ИГК). Нашите добиени резултати за саливарната еластазна динамика верифицираат висока статистичка значајност ($p<0.001$), на испитуваната група пред и посттераписки во однос на контролната група, но за одбележување е фактот дека иако рапидно депресирани, нивоата на еластазата, се во рамките на горната граница на референтните вредности, непосредно по завршувањето на терапијата. На овој начин се потврдува успешноста на овој инфламаторен индикатор во детекцијата не само на инфламацијата, туку и во верификувањето на тераписката успешност.

Уште да одбележиме дека во посттерапискиот период, иако во нормален опсег, сепак, сè уште високото еластазно ниво, на одреден начин сугерира поголема полиморфонуклеарна активност условена од хроницитетот и цикличниот карактер на болеста. Вака добиените резултати сугерираат дека протективните механизми се лесно респонсивни дури и на предизвиците на иницијалната пародонтална болест, и дека ваквите ефекти реално се детектирани во саливата.

Сметаме дека следењето на еластазната саливарна динамика, поседува добар потенцијал за детекција на раните инфламаторни измени во пародонталниот комплекс, како и на респонсивитетот на преземените тераписки мерки за ограничување на истите, но сепак дефинитивното промовирање на саливарната еластаза за доволно суптилен инфламаторен маркер на пародонтална болест бара поопсежни и подолготрајни проследувања.

SALIVARY ELASTASE - ENZYME MARKER OF PERIODONTAL HEALTH

Peševska S., Nakova M., Ivanovski K.

Summary

Having in consideration the importance of the early detection, as well as the observation of the success of the therapy of the initial periodontitis, we establish the aim of the survey- to follow through the dynamic of the salivary elastase and to evaluate the possibility, this inflammatory enzyme to be marker of the periodontal health. Both groups of the examinee were consisted of health people aged 20-30, where the examined group was consisted of patients with an initial periodontal affection, and at the controlled group the same was in absent. The examined group was apt to a classical periodontal therapy, where the clinical indices were determined pre and post-therapeutic, as well as the assimilation of the saliva. At both groups the index of dental plaque (IDP), the index of gingival inflammation (IGI), and the index of gingival bleeding (IGB) were noted. The non stimulated saliva was collected with a simple extrication at all the examinee and was immediately distributed at the Clinical biochemistry for the detection of the elastase with imunoturbidimetric method. The statistical analysis was made with the Student's "t" test. Statistically significant (p<0,001) elevation of the elastase level in the examined group in the pre-therapeutic period regarding the controlled group is a reflection of the inflammation in the periodontal complex. Statistically significant (p<0,001) drop of the elastase level post-therapeutic regarding the pre-therapeutic level, at the examined group, speaks of the sublimation of the inflammation process, which also corresponds with a highly significant depression (p<0,001), of the clinical indices. Although rapidly depression, of the elastase level, directly post-therapeutic, is at the top border of the referent values, which indicates to the chronicity and the cyclical character of periodontitis. With this indicator, the efficiency in detection of the inflammation is confirmed as well as the verification of the therapeutic efficiency.

Key words: salivary elastase, initial periodontitis

Литература

1. Белазелкоска З., Биохемиска верификација на хидролитичната ензимска активност кај заболени од прогресивна пародонтопатија (дисертација), Скопје: Стоматолошки факултет, 1989
2. Boackle et al., Salivary nonimmunoglobulin agglutinin inhibits human leukocyte elastase digestion of acidic proline rich salivary proteins J. Dent. Res. 2001, Jun;80(6):1550-4
3. Cox SW, Eley BM., Cathepsin B L-, elastase-, tryptase-, trypsin and dipeptidylpeptidase4-like activities in gingival crevicular fluid:a comparison of levels before and after basic periodontal treatment of chronic periodontitis J.Clin. Periodontol.,1992;19:333-339
4. Darany DG., Beck FM., Walters JD., The relationship of gingival fluid leukocyte elastase activity to gingival fluid flow rate J. Periodontol., 1992; 63:743-747
5. Dedeyan VR., Solovyova NI., Yezikyan TI., Medvedeva IA. Treatment of periodontal diseases with Diplen-Denta films with chlorohexidine: Clinical laboratory study. Stomatologii M, 1997;76(4):18-22
6. Eley BM, Cox SW., Cathepsin B L-, elastase-, tryptase-, trypsin and dipeptidylpeptidase4-like activities in crevicular fluid:Correlation with clinical parameters in untreated periodontitis patients J .Periodont. Res., 1992a; 27:62-69
7. Eley BM, Cox SW., Cathepsin B L-, elastase-, tryptase-, trypsin and dipeptidylpeptidase4-like activities in gingival crevicular fluid:a comparison of levels before and after periodontal surgery in periodontitis patients J. Periodontol., 1992c; 412-417
8. Eley BM., Cox SW., A biochemical study of serine proteinase activities at local gingival tissue sites in human hronic periodontitis. Arch. Oral. Biol.,1990;35 (1):23-7

9. Figueredo CMS and Gustafsson A., Activity and inhibition of elastase in GCF J. Clin. Periodontol.,1998; 25:531-535
10. Huynh C., Roch-Arveiller M.,MeyerJ.,Giroud JP., Gingival crevicular fluid of patients with gingivitis or periodontal disease:evaluation of elastase -alpha-1 proteinase inhibitor complex J.Clin.Periodont.,1992;19:187-192
11. Jin LJ, Soder PO., Asman B., Soder B., Puriene A., Bergstrom K., Variations in crevicular fluid elastase levels in periodontitis patients on long-term maintenance. Eur J Oral Sci 1995 Apr; 103(2 (Pt 1)):84-9
12. Nieminen A., Nordlund L., Uitto VJ., The effect of treatment on the activity of salivary proteases and glycosidases in adults with advanced periodontitis. J Periodontol., 1993 Apr;64(4):297-301
13. Palcanis KG, Larjava IK, Wells BR, Suggs KA, Landis JR, Chadwich DE, Jeffcoat MK, Elastase as a predictor of periodontal disease progression J. Periodontol., 1992; 63:237-242
14. Pauletto Nathalie C., Kirsti Liede, Anja Nieminen, Hannu Larjava, and Veli-Jukka Uitto Effect of Cigarette Smoking on Oral Elastase Activity in Adult Periodontitis Patients J Periodontol.,2000;71:58-62.
15. Uitto VJ., Nieminen A., Coil J., Hurttia H., Larjava H., Oral fluid elastase as an indicator of periodontal health J Clin Periodontol., 1996 Jan;23(1):30-7
16. Whitener S.J.,Pederson D.E,Stanke S.R, Sebastiani P.T,Lamberts B.L,TurnerD.W, Salivary levels of a2macroglobulin, a1antittrypsin,C reactive protein,cahtepsinG and elastase in humans with or without destructive periodontal disease Archs.Oral.Biol.1995 ; Vol. 40, No12. pp:1151-1155