

Uždegiminių apydančio audinių mikrobiologinės ir biocheminės savybės

Algimantas Šurna, Jurgina Sakalauskienė, Astra Vitkauskienė¹, Viktoras Šaferis²

Kauno medicinos universiteto Dantų ir žandikaulių ortopedijos klinika,

¹Pulmonologijos ir imunologijos klinika, ²Fizikos, matematikos ir biofizikos katedra

Raktažodžiai: apydančio mikroorganizmai, lizocimas, β -gliukuronidazė, šarminė fosfatazė.

Santrauka. Tyrimo tikslas. Ištirti sergančiųjų uždegiminėmis apydančio audinių ligomis viršdanteninio ir podanteninio apydančio sąlyginai patogeniškų bakterijų populiacijos bei lizosominių fermentų lizocimo, β -gliukuronidazės ir šarminės fosfatazės aktyvumą biologiniuose skysčiuose.

Medžiaga ir metodai. Tyrime dalyvavo 60 ligonių, sergančių uždegiminėmis apydančio audinių ligomis, ir 24 tiriamieji (kontrolinė grupė), kurių apydančio audiniai sveiki. Molekulinės genetikos metodą (Micro-IDent plus, Vokietija) taikėme, atlikdami sudėtinį šešių rūšių apydančio bakterijų tyrimą. Šarminės fosfatazės aktyvumas nustatytas spektrofotometrijos būdu naudojant automatinį biocheminį analizatorių „Monarch“, β -gliukuronidazės aktyvumas tirtas pagal J. A. Mead ir kt. metodiką, modifikuotą L. S. Stračiunskij, lizocimo – turbidimetrijos metodu.

Rezultatai. Nustatytas statistiškai reikšmingas priklausomumas tarp klinikinių ir bakteriologinių duomenų šiais klinikiniais atvejais: dantenų kraujavimas, esant *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga* spp. bakterijoms ($p < 0,01$); patologiškos apydančio kišenės esant *Peptostreptococcus micros* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), *Fusobacterium nucleatum* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), *Campylobacter rectus* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$) ir *Capnocytophaga* spp. bakterijoms ($p < 0,05$); patenkinama burnos ertmės higiena esant visoms mūsų tiriamoms sąlyginai patogeniškoms bakterijoms: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga* spp. ($p < 0,05$). Dantenų vagelės ir mišrių seilių lizocimo aktyvumas rodo apydančio audinių uždegimo sunkumą. Remiantis klinikiniais tyrimo duomenimis, 100 proc. jautrumas ir specifiskumas būdingas vertinant lizocimo kiekį mišrioje seilėse. Sergančiųjų apydančio audinių uždegiminėmis ligomis periferiniame kraujyje randamas padidėjęs lizocimo, β -gliukuronidazės ir šarminės fosfatazės aktyvumas palyginus su sveikais tiriamaisiais. Tai rodo, kad, veikiant patogeniškiems apydančio mikroorganizmams, padidėja neutrofilinių leukocitų aktyvumas.

Išvados. Pagrindiniai etiopatogenetinio apydančio audinių uždegiminių ligų gydymo principai turėtų būti grindžiami mikroorganizmų sunaikinimu, individualiomis gydymo priemonėmis, veikiančiomis burnos ertmės mikroflorą ir imuninę makroorganizmo sistemą.

Įvadas

Žinoma daugiau kaip 500 bakterijų rūšių, kurios sudaro normalią žmogaus burnos florą ir tik kai kurios iš jų gali sukelti uždegimines apydančio audinių ligas (1). Specifinės bakterijos, tiesiogiai susijusios su apydančio uždegiminės ligos etiologija, dažniausiai yra anaerobinės bakterijos: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Bacteroides forsythus* (*B. forsythus*); rečiau: *Campylobacter rectus* (*C. rectus*), *Eubacterium nodatum* (*E. nodatum*), *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), *Prevotella interme-*

dia (*P. intermedia*), *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*), *Streptococcus intermedius* (*S. intermedius*), *Treponema denticola* (*T. denticola*) (1, 2). Suaugusiems, sergantiems sunkiomis apydančio ligomis, dažnai nustatomas *P. gingivalis*; sergantieji agresyviu (jaunatviniu) apydančio uždegimu nustatoma *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*; sergantieji nuo insulino priklausomo cukrinio diabeto ir granulocitopenijos atveju nustatoma *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*; *spirochetos* ir *P. intermedia*, *Treponema* spp. prasiskverbia į dantenų audinius sergant ūminiu opiniu nekrozinu gingivitu (3, 4). Didelę įtaką turi ir

kai kurie virusai, pvz., citomegalo virusas. Tiesioginį ardomąjį poveikį audiniams sukelia dauguma mikroorganizmų, nustatomų sergantiesiems apydančio ligomis. Šie mikroorganizmai gamina stiprius nekrotizuojamuosius toksinus ir fermentus, pvz., kolagenazę, elastazę, fibrinoliziną, chondroitinsulfatazę, hialuronidazę ir kt. (4).

Jau įrodyta, kad dantų apnašos yra pirminis uždegiminių apydančio ligų rizikos veiksnys (2, 4). Dantenų vagelė yra palankiausia vieta bakterinėms ląstelėms ir jų veiklos produktams patekti į apydančio audinius (5). Dantenų vagelės skysčio tyrimai suteikia svarbios informacijos nagrinėjant šių ligų atsiradimo priežastis. Progresuojant uždegiminiams procesams apydančio audiniuose, daugelio fermentų aktyvumas apydančio kišenės skystyje didėja β-gliukuronidazės, kolagenozės ir elastazės (6). Nors dantų apnašos yra svarbus uždegiminių apydančio audinių ligų rizikos veiksnys, tačiau tai nėra pakankama sąlyga ligai pasireikšti.

Uždegiminių apydančio audinių ligų etiologiją lemia keletas svarbių tarpusavyje susijusių veiksnių: makroorganizmas ir jo imuninė sistema, genetiniai, aplinkos, įgyti rizikos veiksniai, sąlyginai patogeniškos apydančio bakterijos ir jų veiklos produktai (3, 7, 8). Didžiausią įtaką makroorganizmo gynybai nuo apydančio infekcijos turi neutrofiliniai leukocitai (3, 9). Jie yra svarbiausi antimikrobinės gynybos elementai ir sudaro pagrindinę leukocitų dalį dantenų vagelėje bei apydančio audinių kišenėje (3, 9). Daug neutrofilinių leukocitų fermentų gali veikti ne tik ląstelės viduje, bet išsiskirti į aplinkinę terpę ir naikinti mikroorganizmus, kurie fagocitozės metu nebuvo sunaikinti dėl savo dydžio arba kitų priežasčių (10–12). Neląstelinis antimikrobinis neutrofilinių leukocitų veikimas gali būti grindžiamas oksidaciniais ir neoksidaciniais mechanizmais (9). Nuo deguonies nepriklausomą neutrofilinių leukocitų bakteriocidinę sistemą sudaro: lizocimas, katijoniniai baltymai, laktoferinas, rūgščioji terpė ir kt. Plačiai paplitęs bakteriocidinis fermentas lizocimas (acetilmuramidazė) svarbus nesavitojo atsparumo veiksnys, ardantis bakterijų sienelės peptidosacharidus, turinčius muramo rūgšties (13). Lizocimo yra daugelyje biologinių skysčių ir žmogaus vidaus organų audiniuose: seilėse, ašarose, piene, žarnyno gleivėse, skersaruožiuose raumenyse, smegenų dangaluose, inkstuose, plaučiuose, leukocituose. Pagrindinį lizocimo kiekį sintetina audinių makrofagai ir neutrofilai (13, 14). Gramneigiamosios bakterijos, sąveikaudamos su antikūnais ir komplementu, kai yra lizocimo, kelis kartus padidina antikūnų bakteriocidiškumą (15). NL lizosominiai fermentai gina makro-

organizmą nuo patogeniškų apydančio mikroorganizmų, be to, jie sukelia apydančio audinių pažeidimą ir kartu palaiko uždegimą (7, 16). Todėl lizosominių fermentų įvairiuose biologiniuose skysčiuose ištyrimas turi didelę reikšmę nagrinėjant uždegiminių apydančio ligų etiopatogenezę.

Tyrimo tikslas – ištirti sąlyginai patogeniškų bakterijų, esančių virš dantenų ir po dantenomis, dažnį; įvertinti lizosominių fermentų: β-gliukuronidazės, šarminės fosfatazės ir lizocimo aktyvumą periferiniame kraujyje; nustatyti lizocimo aktyvumą mišrioje seilėse, dantenų vagelių ar apydančio kišenių skystyje; nustatyti koreliaciją tarp mikrobiologinių, biocheminių ir klinikinių rodiklių.

Tyrimo medžiaga ir metodai

Tyrimė dalyvavo 60 19–44 metų ligonių, sergančių uždegiminėmis apydančio ligomis, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, apydančio kišenės, patenkinama burnos ertmės higienos būklė. Į tyrimą taip pat įtraukti to paties amžiaus 24 tiriamieji, kurių apydančio audiniai sveiki. Apydančio audinių pažeidimas buvo vertinamas CPITN indeksu (17). Pagrindiniai uždegiminių apydančio audinių požymiai: dantenų kraujavimas, dantų apnašos ir mineralizuoti akmenys, apydančio kišenės 4–6 mm gylio ir daugiau. Burnos ertmės higienos būklė buvo vertinama atsižvelgiant į Green-Vermillion indeksą (18). Visi tiriamieji nesirgo sisteminėmis vidaus organų ligomis. Tiriamųjų periferinis kraujas buvo tiriamas taikant M. Timm ir kt. metodiką (19). Šarminės fosfatazės aktyvumas nustatytas spektrofotometrijos būdu naudojant automatinį biocheminį analizatorių „Monarch“. β-gliukuronidazės aktyvumas tiriamose terpėse nustatytas taikant metodiką (20), modifikuotą L. S. Stračiunskij (21). Tiriamųjų pavyzdžių lizocimo aktyvumas nustatytas turbidimetrijos metodu (22). Šarminės fosfatazės aktyvumas buvo matuojamas U/l, β-gliukuronidazės aktyvumas – suskaldyto substrato nM/1 ml plazmoje per 1 val. 37°C temperatūroje, lizocimo aktyvumas – mg/l PK.

Molekulinės genetikos metodu (Micro-IDent plus, Vokietija) atlikome sudėtinį šešių rūšių apydančio bakterijų tyrimą. Metodas grindžiamas mikroorganizmų specifinių DNR fragmentų nustatymu tiriamojame medžiagoje. Tam tikslui naudojome išplėstinį Micro-IDent HAIN LIFESCENCE molekulinės genetikos metodą, kuriuo tiriamojame medžiagoje nustatomos šešių rūšių apydančio bakterijos: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga spp.* (*C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*). Tyrimas buvo atliekamas

trimis etapais: iš tiriamosios medžiagos, paimtos iš sričių, esančių virš dantenų arba po dantenomis, išskirtas DNR, naudojant biotinu žymėtus praimerius, atlikta DNR amplifikacija ir pakartotinė hibridizacija.

Tiriamoji medžiaga buvo renkama iš daugiausia pažeistų vietų, esančių virš dantenų arba po dantenomis, šalia vieno arba dviejų dantų. Kiekvienas žmogus buvo tiriamas individualiai naudojant sterilią popieriaus juostelę. Adsorbuota juostelė buvo atsargiai kišama į dantenų vagelę ar apydančio kišenę ir paliekama 10 sek., po to juostelė dedama į sterilų mėgintuvėlį, kuris užkemšamas kamščiu (23). Dantenų vagelės ar apydančio kišenių skystis buvo renkamas nuo kiekvieno tiriamo danties. Buvo vertinamos virš dantenų ir po dantenomis esančios apnašos ir įvertinami visi klinikiniai požymiai (24). Mišrios seilės buvo renkamos 15 min., centrifuguojamos 3000×g. 2–4°C temperatūroje 15 min., tyrimui naudojamas supernatantinis skystis.

Statistinė analizė atlikta naudojant statistinių programų paketą „SPSS 12“. Reikšmingumo lygmuo, tikrinant statistines hipotezes, pasirinktas 0,05. Kokybiinių požymių tarpusavio nepriklausomumui vertinti taikytas chi kvadrato (χ^2) kriterijus. Dviejų grupių vidurkiams lyginti taikytas Stjudento (t) testas. Skirtumui tarp vidurkių nustatyti buvo vertinamas testo galingumas ir antros rūšies paklaida β , kai pirmos rūšies paklaida α lygi 0,05. Skirtumas statistiškai reikšmingas, kai $\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$.

Vertinant biocheminių rodiklių tarpusavio ryšį (šarminės fosfatazės, β -gliukuridazės, lizocimo aktyvumą periferiniame kraujyje ir kišenių skystyje bei mišrioje seilėse) su uždegiminiais apydančio audinių procesais, taikytas netiesinės koreliacijos koeficientas r . Vertinant diagnostines tiriamų biocheminių rodiklių galimybes, atlikta diskriminantinė analizė. Atitinkamai vertinant gautus bakteriologinio tyrimo duomenis (*Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum/periodonticum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga spp.* (*C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena*), išaugintų bakterijų tarpusavio ryšį su uždegiminių apydančio audinių procesais, taikyti galimybių santykiai.

Rezultatai

Biocheminiais ir mikrobiologiniais tyrimais nustatyta galima neutrofilinių leukocitų lizosominių fermentų ir sąlyginai patogeniškų apydančio bakterijų įtaka uždegiminių apydančio ligų etiopatogenezei. Kontrolinės grupės tiriamųjų, kurių apydančio audiniai sveiki, ir ligonių, kuriems nustatytas kraujavimas iš dantenų, apydančio kišenės, kurių burnos ertmės higienos būklė patenkinama, kiekybinė lizosominių fermentų sudėtis pateikiama 1–3 lentelėse. Remiantis lentelėse pateiktais duomenimis, ligonių, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, apydančio kišenės, patenkinama burnos higiena, vidutinis kiekis lizocimo apydančio kišenių skystyje, β -gliukuridazės peri-

1 lentelė. Kontrolinės grupės tiriamųjų, kurių apydančio audiniai sveiki, ir ligonių, kuriems kraujuoja dantenos, biocheminių rodiklių vidutinės reikšmės

Biocheminiai rodikliai	Grupės				Vidurkių skirtumas		p	β*
	Kontrolinė grupė (n=24)		Ligoniai (n=28), kuriems nustatytas dantenų kraujavimas					
	vidurkis	SD	vidurkis	SD	absoliutus	proc.		
Lizocimas dantenų vagelių skystyje	125,55	3,19	184,83	3,97	59,28	47,2	0,000	0,000
Lizocimas neaktyvintose seilėse	116,27	3,29	83,37	2,39	32,90	−28,3	0,000	0,000
β-gliukuronidazės aktyvumas PK	1,01	0,08	1,11	0,08	0,11	10,7	0,000	0,007
Lizocimo aktyvumas PK	8,48	0,60	9,18	0,60	0,70	8,2	0,000	0,016
Šarminės fosfatazės aktyvumas PK	91,86	4,19	104,97	5,61	13,11	14,3	0,000	0,000

* $\alpha=0,05$ skaičiuojant β . PK – periferinis kraujas.

2 lentelė. Kontrolinės grupės tiriamųjų, kurių apydančio audiniai sveiki, ir ligonių, kurių buvo susiformavusios apydančio kišenės, biocheminių požymių vidutinės reikšmės

Biocheminiai rodikliai	Ligoniai, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės (n=32)		Vidurkių skirtumas K** – L		p	β*
	vidurkis	SD	absoliutus	proc.		
Lizocimas dantenų vagelių skystyje	275,66	7,63	150,11	119,6	0,000	0,000
Lizocimas seilėse	46,93	3,41	69,34	–59,6	0,000	0,000
β-gliukuronidazės aktyvumas PK	1,25	0,07	0,24	24,4	0,000	0,000
Lizocimo aktyvumas PK	11,06	1,14	2,58	30,5	0,000	0,000
Šarminės fosfatazės aktyvumas PK	123,71	5,11	31,85	34,7	0,000	0,000

*α=0,05 skaičiuojant β. ** Kontrolinės grupės biocheminių rodiklių reikšmės pateikiamos 1 lentelėje.
L – ligoniai. PK – periferinis kraujas.

3 lentelė. Kontrolinės grupės tiriamųjų, kurių apydančio audiniai sveiki, ir ligonių, kurių burnos ertmės higienos būklė patenkinama, biocheminių rodiklių vidutinės reikšmės

Biocheminiai rodikliai	Ligoniai, kurių burnos higiena patenkinama (n=60)		Vidurkių skirtumas K** – L		p	β*
	vidurkis	SD	absoliutus	proc.		
Lizocimas dantenų vagelių skystyje	233,27	46,11	107,72	85,80	0,000	0,000
Lizocimas seilėse	63,94	18,57	52,34	–45,01	0,000	0,000
β-gliukuronidazės aktyvumas PK	1,19	0,10	0,18	17,99	0,000	0,000
Lizocimo aktyvumas PK	10,18	1,32	1,70	20,11	0,000	0,001
Šarminės fosfatazės aktyvumas PK	114,97	10,82	23,10	25,15	0,000	0,000

*α=0,05 skaičiuojant β. ** Kontrolinės grupės biocheminių požymių reikšmės pateikiamos 1 lentelėje.
L – ligoniai. PK – periferinis kraujas.

feriniame kraujyje ir šarminės fosfatazės periferiniame kraujyje aktyvumas, lyginant su kontrolinės grupės tiriamaisiais, padidėja nuo 8,2 iki 119,6 proc. (α≤0,05; β≤0,1), o vidutinė lizocimo reikšmė mišrioje seilėse sumažėja nuo 28,3 iki 59,6 proc. (α≤0,05; β≤0,05).

Vidutinis lizocimo kiekis mišrioje seilėse ligonių, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, apydančio kišenės ir patenkinama burnos higiena buvo statistiškai reikšmingai mažesnis nei kontrolinės grupės tiriamųjų, atitinkamai: 83,37±2,39 mg/l; 46,93±3,41 mg/l; 63,34±18,57 mg/l ir 116,27±6,9 mg/l. Mes nustatėme pačią didžiausią lizocimo koncentraciją apydančio kišenių skystyje ligoniams, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir buvo patenkinama burnos higiena (275,66±7,63 mg/l; 233,27±46,11 mg/l), ši koncentracija buvo daug didesnė už lizocimo koncentraciją dantenų vagelių skystyje ligonių, kuriems buvo susiformavusios dantenų kišenės (184,83±3,97 mg/l) ir kontrolinėje grupėje (125,5±

3,19 mg/l). Reikia pažymėti, kad lizocimo koncentracija dantenų vagelių skystyje ligonių, kuriems buvo susiformavusios dantenų kišenės, taip pat buvo statistiškai reikšmingai didesnė (p<0,05) nei kontrolinės grupės tiriamųjų.

Lizocimo aktyvumas tiriamųjų periferiniame kraujyje reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinės grupės tiriamųjų ir sudarė atitinkamai: ligoniams, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas – 9,18±0,6 mg/l, ligoniams, kuriems buvo apydančio kišenės – 11,06±1,14 mg/l, ligoniams, kurių burnos higiena patenkinama – 10,18±1,32 mg/l ir 8,48±0,6 mg/l (p<0,05). β-gliukuronidazės aktyvumas periferiniame kraujyje ligonių, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, ligonių, kuriems buvo apydančio kišenės ir kurių burnos higiena patenkinama, buvo žymiai didesnis nei kontrolinės grupės (1,01±0,08 nmol/1 ml/1 val.) ir buvo lygus atitinkamai 1,11±0,08 nmol/1 ml/1 val. ir 1,25±0,07 nmol/1 ml/1 val., 1,19±0,1 nmol/1 ml/1 val. (p<0,05).

Šarminės fosfatazės aktyvumas periferiniame kraujyje tiriamųjų, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena buvo patenkinama, atitinkamai sudarė $123,71 \pm 5,11$ U/l, $114,97 \pm 10,82$ U/l ir šio fermento aktyvumas statistiškai reikšmingai didesnis nei tiriamųjų, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas ($104,97 \pm 5,61$ U/l) ir kontrolinės grupės, turinčių sveikus apydančio audinius ($91,86 \pm 4,1$ U/l) ($p < 0,05$).

Biocheminių rodiklių jautrumas ir specifiskumas pateikiami 4 lentelėje. Barjerų reikšmės nustatytos naudojant ROC kreives (25). Remiantis ketvirtos lentelės duomenimis, matuojant lizocimo aktyvumą mišrioje seilėse, apydančio kišenių skystyje tyrimo jautrumas – 93,3 proc., specifiskumas – 100 proc. Nustatant kitus biocheminius rodiklius, tyrimo jautrumas buvo ne mažiau kaip 70 proc. Tiriamųjų požymių diagnostines savybes vertinome netiesinės koreliacijos η koeficientais, kurie pateikiami paveiksle. Remdamiesi paveiksle pateiktais duomenimis, galime daryti išvadą, kad mūsų tiriamoms ligoms diagnozuoti geriausiai tinka šie rodikliai: apydančio kišenių skysčio lizocimo, mišrių seilių lizocimo, šoninės fosfatazės periferiniame kraujyje ($0,74 < \eta < 0,99$) aktyvumas.

Nustatydami priklausomumą tarp tiriamų ligų ir mikroorganizmų, taikėme chi kvadrato (χ^2) kriterijų. Rizikos veiksniams nustatyti apskaičiavome šansų santykį ir jų 95 proc. pasikliautinąjį intervalą. Analizės duomenys pateikiami 5 lentelėje.

Ligoniams, kurių burnos higiena patenkinama, nustatytas statistiškai reikšmingas priklausomumas tarp šios ligos ir visų tiriamų mikroorganizmų: *P. micros*, *F. nucleatum/periodonticum*, *C. rectus*, *E. nodatum*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga spp.* ($p < 0,05$).

Didžiausią galimybę sukelti šią ligą turi mikroorganizmas *C. rectus*, šansų santykis – 39,7. Reikia pažymėti, kad mikroorganizmo *Capnocytophaga spp.* nenustatyta nė vienam kontrolinės grupės tiriamajam, todėl šansų santykis neskaičiuotas.

Ligoniams, kurių dantenos kraujuoja, nustatytas statistiškai reikšmingas priklausomumas tarp šios ligos ir tirtų mikroorganizmų: *E. nodatum*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga spp.* ($p < 0,01$). Didžiausią galimybę sukelti šią ligą turi mikroorganizmai *E. nodatum* ir *E. corrodens*, šansų santykis – atitinkamai – 19,8 ir 12,5.

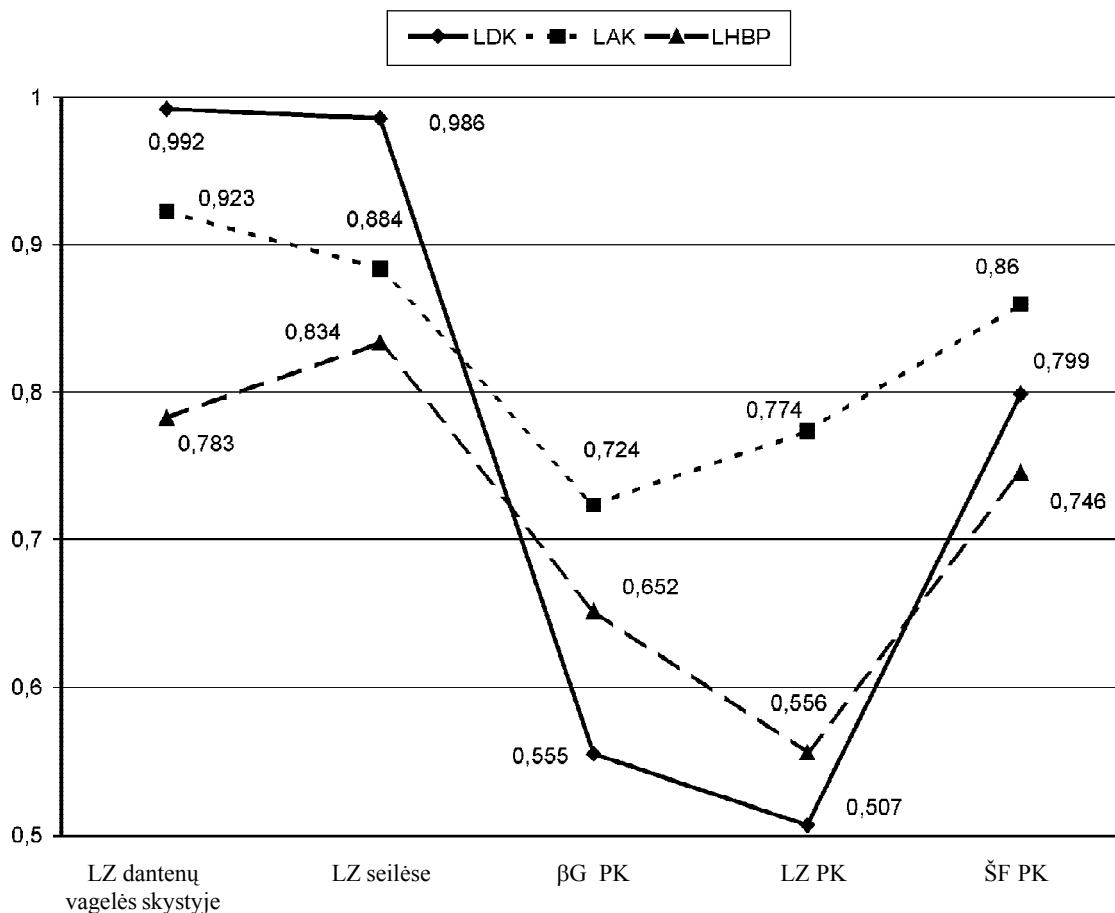
Ligoniams, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės, nustatytas statistiškai reikšmingas priklausomumas tarp šios ligos ir mikroorganizmų: *P. micros* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), *F. nucleatum* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), *C. rectus* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), mikroorganizmų *Capnocytophaga spp.* ($p < 0,05$). *F. nucleatum*, *P. micros* ir *C. rectus*, sukeliančių šią ligą. Šansų santykis atitinkamai – 713,0; 33,0 ir 29,6.

Bakteriologinio tyrimo duomenys rodo, kad *P. micros*, *F. nucleatum/periodonticum*, *C. rectus* ir *E. nodatum* nustatomi statistiškai reikšmingai dažniau ligoniams, kuriems susiformuoja apydančio kišenės ir kurių burnos higiena patenkinama nei kontrolinės grupės tiriamiesiems ($p < 0,05$). Tirdami sąsają tarp viršdanteninių ir podanteninių sričių mikroorganizmų, nustatėme, kad bakterijų *E. corrodens* paplitimas tiriamose vieno danties srityse kontrolinėje grupėje sudaro 20,8 proc. Tiriamiesiems, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės, nustatėme *E. corrodens* 12,5 proc. vieno danties apydančio sričių; vieno dan-

4 lentelė. Biocheminių rodiklių jautrumas ir specifiskumas

Biocheminiai rodikliai	Ligoniai, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas			Ligoniai, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės			Ligoniai, kurių burnos higiena patenkinama		
	barjeras	jautrumas	specifiškumas	barjeras	jautrumas	specifiškumas	barjeras	jautrumas	specifiškumas
Lizocimas dantenų vagelių skystyje	155,19	100	100	200,60	100	100	179,41	93,3	100
Lizocimas seilėse vagelių skystyje	99,82	100	100	81,60	100	100	90,10	100	100
β -gliukuronidazės aktyvumas PK	1,06	75	91,7	1,13	100	91,7	1,10	78,3	91,7
Lizocimo aktyvumas PK	8,83	71,4	83,3	9,77	87,5	100	9,33	70	91,7
Šarminės fosfatazės aktyvumas PK	98,42	82,1	91,7	107,79	100	100	103,41	78,3	100

PK – periferinis kraujas.



Pav. Netiesinės koreliacijos koeficientai (η)

LZ – lizocimas, βG – β-gliukuronidazė, ŠF – šarminė fosfatazė, PK – periferinis kraujas, LDK – ligoniai, kurių dantenos kraujuoja, LAK – ligoniai, kuriems susidariusios apydančių kišenės, LHBP – ligoniai, kurių burnos higiena patenkinama.

ties – 21,4 proc. apydančio sričių, dviejų dantų – 64,3 proc. apydančio sričių. Tiriamiesiems, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas, *Capnocytophaga spp.* (35,7 proc.) buvo nustatyta iš labiausiai pažeistos vietos vieno danties srityse; o tiriamiesiems, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir burnos higiena patenkinama, *Capnocytophaga spp.* rasta 21,9 proc., *C. rectus* – 56,2 proc. nustatyta iš labiausiai pažeistos vietos vieno danties srityse, o *F. nucleatum* – 3,1 proc. vieno danties apydančio srityse ir 96,9 proc. labiausiai pažeistos vietos dviejų dantų srityse. Tyrimo metu nustatėme, kad kontrolinės grupės tiriamųjų 12,5 proc. vieno danties apydančio sričių *P. micros* buvo teigiamas. Ligoniams, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena patenkinama, *P. micros* vieno danties buvo 28,1 proc., dviejų dantų – 71,9 proc. sričių. Ligoniams, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, nustatytas *P. micros* dažnis vieno danties labiausiai pažeistoje vietoje buvo 28,6 proc. Kontrolinėje grupėje *F. nucleatum* dažnis buvo 4,2 proc. vieno danties sričių, o tiriamųjų, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, iš labiausiai pažeistos vie-

tos vieno danties sričių buvo nustatyta 25 proc., kontrolinės grupės tiriamųjų vieno danties apydančio sričių *C. rectus* nustatyta 8,3 proc., o tiriamiesiems, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas – 7,1 proc. vieno danties apydančio sričių labiausiai pažeistos vietos. Kontrolinės grupės tiriamųjų apydančio vieno danties pažeidimas *E. nodatum* nustatytas 12,5 proc., vieno danties iš labiausiai pažeistos vietos apydančio sričių – 12,5 proc. tiriamiesiems, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir burnos higiena patenkinama, ir 32,1 proc. apydančio sričių vieno danties bei 50 proc. dviejų dantų apydančio sričių tiriamiesiems, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas.

Rezultatų aptarimas

Daugelis autorių nurodo (3, 26) etiologinę dantų apnašų įtaką apydančio audinių uždegiminių ligų patogenezėi. Kitas svarbus rizikos veiksnys šių ligų etiopatogenezėi – imuninė makroorganizmo reakcija, kaip atsakas į apnašų komponentus (3). Sąlyginai patogeniškos anaerobinės bakterijos: *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, *B. forsythus*, *C. rectus*, *P. gin-*

5 lentelė. Mikroorganizmų ir ligos požymių ryšys

Grupės	Mikroorganizmai	Chi kvadrato (χ^2) reikšmė	Laisvės laipsnių sk.	<i>p</i>	Šansų santykis (95 proc. PI)
LDK	<i>P. micros</i>	2,508	1	0,152	3,7 (0,7–19,7)
	<i>F. nucleatum</i>	4,309	1	0,056	7,7 (0,9–67,6)
	<i>C. rectus</i>	0,211	1	1,000	1,8 (0,15–20,8)
	<i>E. nodatum</i>	17,093	1	0,000	19,8 (3,8–102,2)
	<i>E. corrodens</i>	15,594	1	0,000	12,5 (3,3–48,3)
	<i>Capnocytophaga spp.</i>	10,612	1	0,001	–
LAK	<i>P. micros</i>	24,506	1	0,000	33,0 (6,3–172,5)
	<i>F. nucleatum</i>	48,131	1	0,000	713,0 (42,3–1207,5)
	<i>C. rectus</i>	16,596	1	0,000	29,6 (3,5–246,5)
	<i>E. nodatum</i>	0,249	1	0,691	1,6
	<i>E. corrodens</i>	0,194	1	0,713	0,7
	<i>Capnocytophaga spp.</i>	6,000	1	0,014	–
LBHP	<i>P. micros</i>	13,496	1	0,000	11,8 (2,5–54,5)
	<i>F. nucleatum</i>	24,128	1	0,000	39,7 (5,0–314,8)
	<i>C. rectus</i>	7,778	1	0,005	11,5 (1,5–91,4)
	<i>E. nodatum</i>	6,743	1	0,015	6,4 (1,4–29,7)
	<i>E. corrodens</i>	4,200	1	0,045	3,3 (1,0–11,0)
	<i>Capnocytophaga spp.</i>	8,526	1	0,004	–

LDK – lignoniai, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas. LAK – lignoniai, kuriems buvo susidariusios apydančio kišenės. LBHP – lignoniai, kurių burnos higiena patenkinama.

givalis, *P. intermedia* gali sukelti apydančio audinių destruktiją keliais būdais: mikroorganizmai tiesiogiai išskiria proteolizinius fermentus, ardančius apydančio audinių struktūras; bakterijos ir jų veiklos produktai, ypač lipopolisacharidai, prasiskverbę per dantenų vagelės epitelinę jungtį, aktyvina kraujo komponentus: makrofagus, limfocitus; makroorganizmas pradeda gaminti biologiškai aktyvias medžiagas (IL-1, TNF), kurios sukelia kaulinio audinio rezorbciją, prostaglandiną E2, metaloproteinazes, ardančias kolageninius ir nekolageninius jungiamojo audinio komponentus (27, 28). Komplemento sistemos aktyvinimas yra svarbus uždegiminio proceso patogenezėi: C5a aktyvina leukocitus, didina jų prikibimą prie endotelio, sukelia neutrofilinių leukocitų chemotaksį; veikiant C3b ir C3bi komponentams, jungiantis prie tam tikrų neutrofilinių leukocitų receptorių, mikroorganizmai opsonizuojami (15, 29). C3, C5 komponentus gali aktyvinti iš leukocitų išsilaisvinę lizosominiai fermentai, fibrinolizinas; uždegiminiam procesui svarbūs yra arachidono rūgšties metabolitai, citokinai (IL-1, TNF, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ), trombocitus aktyvinantis faktorius (15). Mikroorganizmai geba aktyvinti žmogaus imunitetą. Lizocimas yra svarbus organizmo nespecifinio atsparumo veiksnys, todėl mūsų nustatyti lizocimo aktyvumo rodmenys žmogaus organizmo biologinėse terpėse yra svarbūs, jie patvirtina kitų mokslininkų nustatytą sumažėjusį lizocimo aktyvumą mišrioje

seilėse ir padidėjusį jo aktyvumą dantenų kišenių skystyje sergančiųjų uždegiminėmis apydančio audinių ligomis (14). Lizocimo koncentracija dantenų vagelių skystyje ir apydančio kišenių skystyje rodo, kad pats mažiausias lizocimo aktyvumas buvo kontrolinės grupės tiriamųjų dantenų vagelių skystyje. Padidėjęs lizocimo aktyvumas dantenų vagelių skystyje nustatytas lignoniams, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena buvo patenkinama. Tai gali būti paaiškinama padidėjusiu neutrofilinių leukocitų kiekiu ir ryškia sekrecine šių ląstelių degranuliacija (30), kurią sukelia bakterijų ir jų toksinų poveikis. Tačiau lignonų, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena patenkinama, lizocimo aktyvumas mišrioje seilėse buvo daug mažesnis, atitinkamai – $\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$, $\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$ palyginus su kontroline grupe, tai pažymi ir kiti tyrėjai (14). Ši būklė gali būti paaiškinama tuo, kad dalis lizocimo šių lignonų mišrioje seilėse sunaudojama bakterijų sienelėje esantiems peptidoglikanams ardyti, taip pat surišama bakterinės kilmės mukopeptidų arba yra suardoma neutrofilinių leukocitų ir seilių proteolizinių fermentų.

Didelį susidomėjimą sukėlė duomenys apie tiriamųjų, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas, susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena buvo patenkinama, β -gliukuronidazės ir šar-

minės fosfatazės periferiniame kraujyje aktyvumo pokyčius. β -gliukuronidazės yra neutrofilinių leukocitų lizosomų žymuo, taigi, β -gliukuronidazė geba ardyti neląstelines struktūras (30). Šio fermento aktyvumo padidėjimas biologiniuose skysčiuose yra siejamas su uždegiminės apydančio ligos progresavimu (6). Šarminės fosfatazės galima taikyti kaip biologinį žymenį norint kuo anksčiau diagnozuoti apydančio audinių uždegimines ligas (6, 31).

Mūsų duomenimis, lizocimo, β -gliukuronidazės, šarminės fosfatazės periferiniame kraujyje aktyvumas statistiškai reikšmingai skyrėsi tiriamųjų, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas, susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena buvo patenkinama, nuo kontrolinės grupės duomenų. Kitų tyrėjų nustatyti duomenys apie β -gliukuronidazės ir šarminės fosfatazės padidėjusį aktyvumą dantenų vagelių skystyje, sergant apydančio audinių uždegimu, sutampa su mūsų tyrimo analogiškais duomenimis (6, 14).

Nustatytas viršdanteninių ir podanteninių sričių *P. micros*, *F. nucleatum* dažnis bakteriologiniuose mėginiuose ligonių, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena buvo patenkinama, statistiškai reikšmingai skyrėsi ($p < 0,05$) nuo kontrolinės grupės. *C. rectus* dažnis kontrolinėje grupėje – 8,3 proc., grupėje ligonių, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės ir kurių burnos higiena patenkinama – 56,2 proc. ir statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinės grupės ($p \leq 0,005$), tai patvirtina ir kiti tyrėjai, kad bakterija *C. rectus*, anaerobas, beveik visada nustatomas gilesnėse apydančio kišenėse, be to, nustatytas tiesioginis ryšys tarp *C. rectus* ir apydančio audinių uždegimo progresavimo laipsnio (28). *E. nodatum* ir *E. corrodens* dažnis labiausiai pažeisto danties vietoje ligoniams, kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės, burnos higiena patenkinama, buvo vienodas, t. y. visose grupėse atitinkamai – 12,5 proc.

P. micros dažnis kontrolinėje grupėje – 12,5 proc.; *Capnocytophaga spp.* ligonių, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas ir kuriems buvo susiformavusios apydančio kišenės, kurių burnos higiena patenkinama, skirtumas statistiškai nereikšmingas ($p > 0,05$), *F. nucleatum* – kontrolinėje ir ligonių, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, grupėse dažnis buvo atitinkamai – 4,2 ir 25 proc. ir šie skirtumai buvo statistiškai reikšmingi ($p < 0,01$). *C. rectus* dažnis kontrolinėje ir ligonių, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas, grupėse beveik nesiskyrė ir buvo atitinkamai – 8,3 ir 7,1 proc. ($p > 0,05$). Tačiau *E. nodatum* dažnis grupėje ligonių, kuriems buvo nustatytas dantenų kraujavimas beveik septynis kartus buvo didesnis, t. y. 82,1 proc. palyginus su kontroline grupe – 12,5

proc., *E. corrodens* nustatytas grupėje ligonių, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas ir buvo beveik keturis kartus dažnesnis – 85,7 proc. palyginus su kontroline grupe – 20,8 proc., *Capnocytophaga spp.* grupėje ligonių, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas, nustatytas dažnis buvo 35,7 proc. Statistiškai reikšmingai skyrėsi nustatymo dažnis: *P. micros*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *E. nodatum*, *E. corrodens* tarp tiriamųjų, kuriems nustatytas dantenų kraujavimas ir tarp ligonių, kuriems buvo apydančio kišenės bei kurių burnos higiena buvo patenkinama, o *Capnocytophaga spp.* tarp šių grupių tiriamųjų skyrėsi nereikšmingai ($p > 0,05$).

Apydančio audiniuose randamos bakterijos: *P. micros*, *F. nucleatum*, *E. nodatum*, *E. corrodens*, *C. rectus* gali būti naudojamos stebėti ligonius, sergančius uždegiminėmis apydančio ligomis ir parenkant naujus gydymo metodus. Pradinė apydančio uždegiminių ligų pasireiškimo ir plitimo priežastis yra patogeniškų bakterijų persistencija burnos ertmėje, jų susikaupimas apydančio kišenėse, kuriose yra anaerobinės sąlygos ir galimybė išvengti bakteriocidinio bei plaunamojo seilių poveikio, susidaro idealios sąlygos mikroorganizmų populiacijoms daugintis. Gramneigiamųjų anaerobinių bakterijų susikaupimas apydančio kišenėse, jų junginiai sąlygoja šių bakterijų gaminamų fermentų ir toksinų padidėjimą. Šie elementai aktyvina fagocitus, jų chemotaksį, baktericidines sistemas ir uždegimo veiksnius, taip pat prasideda alternatyvi (lipopolisacharidais – LPS) komplemento aktyvacija. Visi šie veiksniai galiausiai sukelia nesibaigiančias uždegimines apydančio audinių reakcijas bei aplinkinių audinių irimą. Manome, kad pagrindinis etiopatogenetinio gydymo principas – mikroorganizmų augimo bei dauginimosi slopinimas ir makroorganizmo imuninės sistemos stiprinimas.

Išvados

1. Nustatytas statistiškai reikšmingas priklausomumas tarp klinikinių ir bakteriologinių duomenų šiais klinikiniais atvejais: dantenų kraujavimas esant bakterijoms *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga spp.* ($p < 0,01$); patologiškos apydančio kišenės esant bakterijoms *Peptostreptococcus micros* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), *Fusobacterium nucleatum* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$), *Campylobacter rectus* ($\alpha \leq 0,05$ ir $\beta \leq 0,2$) ir *Capnocytophaga spp.* ($p < 0,05$); patenkinama burnos ertmės higiena esant visoms mūsų tiriamoms sąlyginai patogeniškoms bakterijoms: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga spp.* ($p < 0,05$).

2. Dantenų vagelės ir mišrių seilių lizocimo aktyvumas rodo apydančio audinių uždegimo sunkumą.

Microbiological and biochemical characteristics of inflammatory tissues in the periodontium

Algimantas Šurna, Jurgina Sakalauskienė, Astra Vitkauskienė¹, Viktoras Šaferis²

Department of Prosthodontics, ¹Department of Pulmonology and Immunology,

²Department of Physics, Mathematics and Biophysics, Kaunas University of Medicine, Lithuania

Key words: periodontopathic bacteria; lysozyme; β -glucuronidase; alkaline phosphatase.

Summary. *Objective.* To investigate bacterial populations in subgingival and supragingival plaque samples of patients with inflammatory periodontal diseases and activities of the lysosomal enzymes – lysozyme, alkaline phosphatase, and β -glucuronidase – in peripheral venous blood, in gingival crevicular fluid, and mixed nonstimulated saliva.

Methods and materials. The study included 60 patients with inflammatory periodontal diseases without any internal pathology and 24 periodontally healthy subjects. Molecular genetic assay (Micro-IDent plus, Germany) for complex identification of additional six periodontopathic bacteria was applied. The activity of lysozyme was determined turbidimetrically, the activity of alkaline phosphatase – spectrophotometrically with a “Monarch” biochemical analyzer, the activity β -glucuronidase – according to the method described by Mead *et al.* and modified by Strachunskii.

Results. A statistically significant association between clinical and bacteriological data was found in the following cases: gingival bleeding in the presence of *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga spp.* ($P < 0.01$); pathological periodontal pockets in the presence of *Peptostreptococcus micros* ($\alpha \leq 0.05$ and $\beta \leq 0.2$), *Fusobacterium nucleatum* ($\alpha \leq 0.05$ and $\beta \leq 0.2$), *Campylobacter rectus* ($\alpha \leq 0.05$ and $\beta \leq 0.2$), and *Capnocytophaga spp.* ($P < 0.05$); and satisfactory oral hygiene in the presence of all microorganisms investigated ($P < 0.05$).

The activity of lysozyme in gingival crevicular fluid and mixed nonstimulated saliva indicates the severity of periodontal inflammation. Based on clinical data, in assessing the amount of lysozyme in mixed nonstimulated saliva, sensitivity and specificity of 100% was found. Increased activities of lysozyme, alkaline phosphatase, and β -glucuronidase were found in peripheral venous blood of patients with inflammatory periodontal disease as compared to control group.

Conclusions. The main principles of the treatment of periodontal inflammatory diseases should be based on microorganism elimination, creation of individual treatment means affecting microflora in the mouth and immune system of macroorganisms.

Correspondence to A. Šurna, Department of Prosthodontics, Kaunas University of Medicine, Sukilėlių 51, 50106 Kaunas, Lithuania. E-mail: surna@dent.kmu.lt

Literatūra

1. Inagaki S, Onishi S, Kuramitsu HK, Sharma A. Porphyromonas gingivalis vesicles enhance attachment, and the leucine-rich repeat BspA protein is required for invasion of epithelial cells by “Tannerella Forsythia”. Infect Immun 2006;74:5023-8.
2. Kamma JJ, Nakou M, Gmür R, Baehni PC. Microbiological profile of early onset/aggressive periodontitis patients. Oral Microbiol Immunol 2004;19:314-21.
3. Kinane DF, Podmore M, Ebersole J. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. Periodontol 2000 2001;26:54-91.
4. Grudenov AI, Czeriavina TS, Morozova LI. Etiologicheskaja rol' opredelionnykh tipov mikroorganizmov v pathogenesis parodontologicheskikh boleznej. (Etiological role of certain types of microorganisms in pathogenesis of periodontal diseases). Stomatologija 1986;4:6-10.
5. Ebersole JL. Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. Periodontol 2000 2003; 31:135-66.
6. Lamster IB, Grbic JT. Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. Periodontol 2000 1995;7:83-99.
7. Ebersole JL, Taubman MA. The protective nature of host responses in periodontal diseases. Periodontol 2000 1994;5: 112-41.
8. Williams RC. Periodontal disease: the emergence of a new paradigm. Compendium 1998;19:4-10.
9. Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. Periodontol 2000 2003; 31:55-76.
10. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. Lab Invest 2000;80:617-53.
11. Taillander G, Benquet EP, Gineste M. Les polynucleares neutrophiles et les maladies parodontales. (Polynuclear neutro-

- phils and periodontal diseases.) J Parodontol 1989;9:181-88.
12. Poškienė R, Žekonis J, Sakalauskienė J. Lizocimo ir β -gliukuronidazės kiekybiniai pokyčiai sergančiųjų parodontitu veninio kraujo leukocitų inkubacinėse terpėse veikiant *E. coli* endotoksiniui. (Quantitative changes of lysozyme and β -glucuronidase in leucocyte incubation media of peripheral venous blood of patients with periodontitis influenced by endotoxin *E. coli*.) Medicina (Kaunas) 1999;35(Suppl 4):241-5.
 13. McCulloch CA. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. J Clin Periodontol 1994; 21:497-506.
 14. Syrjanen SM, Alakuijala P, Markkanen SO, Markkanen H. Gingival fluid, beta2- microglobulin and protein levels as indicators of periodontal disease. Scand J Dent 1989;97:500-4.
 15. Lasinskaitė-Čerkašina A, Pavilionis A, Vaičiuvėnas V. Medicinos mikrobiologija ir virusologijos pagrindai. (Fundamentals of medical bacteriology and virology.) Kaunas; 2005. p. 362-410.
 16. Page RC, Kornman KS. Pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontol 2000 1997;14:9-11.
 17. Oral health surveys: basic methods. 4th ed. Geneva: WHO; 1997.
 18. Green JC, Vermillion JR. The simplified oral hygiene index. J Am Dent Assoc 1964;68:7-13.
 19. Timm M, Baehr RV, Hildebrand A. Der Lysozymfreisetzungstest-eine Methode zum Nachweis der Stimulierung neutrophiler Granulozyten und Monozyten des Menschen. (The lysozyme liberation test – a method for the demonstration of stimulation of human neutrophil granulocytes and monocytes.) Allerg Immunol 1984;30:175-82.
 20. Mead JA, Smith JN, Williams RT. Studies in detoxication. 67. The biosynthesis of the glucuronides of umbelliferone and 4-methylumbelliferone and their use in fluorimetric determination of beta-glucuronidase. Biochem J 1955;61:69-74.
 21. Strachunskii LS. Opreddenije aktivnosti lizosomal'nykh gidrolaz v plazme krovi. (Determination of the activity of lysosomal hydrolases in the blood plasma). Lab Delo 1980;6:329-32.
 22. Grant KhIa, Iavorkovskii LI, Blumberga IA. Sravnitel'naja otsenka nekotorykh metodov kolichestvennogo opredelenija lizotsima v syvorotke krovi. (Comparative evaluation of certain methods of quantitative determination of lysozyme in the blood serum.) Lab Delo 1973;5:300-4.
 23. Jin LJ, Soder B, Corbet EF. Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis. J Periodontol 2000;71:929-39.
 24. Barer GM, Kocherzhinskii VV, Khalitova ES. Desnevaja zhidkost': sostav i svoistva. (Gingival fluid: composition and properties). Stomatologija 1986;4:86-90.
 25. Bühl A, Zöfel P. Einführung in die moderne Datenanalyse unter Windows (Taschenbuch). (SPSS 11. Introduction in the modern analysis of data under Windows (the book of a pocket format)). München, Boston: Addison-Wesley; 2000. p. 1-601.
 26. Williams RC. A century of progress in understanding periodontal disease. Compend Contin Educ Dent 2002;23(Suppl 5):3-10.
 27. Birkedal-Hansen H. Roles of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. J Periodontol Res 1993;28: 500-10.
 28. Dahan M, Nawrocki B, Elkaïm R, Soell M, Bolcato-Bellemin A-L, Birembaut P, et al. Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva. J Clin Periodontol 2001;28:128-36.
 29. Majanskij DN. Chronicheskoe vospalenie. (Chronic inflammation.) Moskva: Medicina; 1991.
 30. Jentsch H, Sievert Y, Gocke R. Lactoferrin and other markers from gingival crevicular fluid and saliva before and after periodontal treatment. J Clin Periodontol 2004;31:511-4.
 31. Sibille V, Lwebuga-Mukasa JS, Polonski L, Merrill WW, Ingbar DH, Gee JB. An *in vitro* model for polymorphonuclear-leucocyte-induced injury to an extracellular matrix. Relative contribution of oxidants and elastase to fibronectin release from amnionic membranes. Am Rev Respir Dis 1986;134:134-40.

Straipsnis gautas 2007 11 07, priimtas 2008 03 05

Received 7 November 2007, accepted 5 March 2008