

Eva Skalerič¹

Raven nekaterih kazalcev vnetja in inflamatornih citokinov v serumu bolnikov s parodontalno boleznijo²

*The Levels of Some Inflammatory Mediators and Cytokines
in the Sera of Patients with Periodontal Disease*

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: parodontalne bolezni, vnetje, označevalci, citokini

Parodontalna bolezen je najbolj razširjena kronična vnetna bolezen ljudi. Začetek in razvoj vnetja obzobnih tkiv je pogojen s številom in vrsto mikroorganizmov v plaku ter z vnetno imunološkim odgovorom organizma. Raziskave s pomočjo analitične epidemiologije in molekularne biologije v zadnjem desetletju so pokazale, da vnetni proces v obzobnih tkivih ne ogroža samo obstoja zob, ampak lahko doprinese tudi k razvoju nekaterih sistemskih bolezni. Parodontalna bolezen sodeluje pri razvoju nekaterih bolezni z neposrednim vdorom mikroorganizmov preko ulceriranega notranjega gingivalnega epitelijskega vrvotoka ter s porastom nekaterih mediatorjev vnetja in inflamatornih citokinov v krvi. Namen raziskave je bil pri sistemsko zdravih krvodajalcih s parodontalno boleznijo ugotoviti koncentracijo kazalcev vnetja (C-reaktivni protein (CRP), fibrinogen, prokalcitonin) in inflamatornih citokinov (IL-2, sIL-2R, IL-6, IL-8, TNF- α) v njihovem serumu. Previdevali smo, da velikost mehke stene obzobnih žepov v stiku z bakterijami (okužena parodontalna rana) vpliva na koncentracijo vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu. Za oceno okužene parodontalne rane smo izmerili obseg zobnega vratu na 515 ekstrahiranih zobeh. Povprečne vrednosti obsega zobnega vratu posameznega zoba smo zmnožili s povprečno vrednostjo šestih meritev globine sondiranja posameznega zoba pri preiskovanih osebah. Vsota zmnožkov vrednosti posameznih zob je predstavljala velikost okužene parodontalne rane posameznega bolnika. Vsota zmnožkov meritev globine obzobnih žepov, ki so krvaveli ob sondiranju, pa je predstavljala velikost aktivne okužene parodontalne rane. V raziskavo smo vključili 31 sistemsko zdravih moških krvodajalcev, starih od 30 do 56 let (povprečno 43,2 leti). Naš parodontalni pregled je vključeval meritve globine obzobnih žepov in prisotnost krvavitve ob sondiranju. Za preverjanje povezanosti med površino aktivne okužene parodontalne rane in koncentracijo vnetnih mediatorjev ter citokinov smo izračunali korelacijske koeficiente po Pearsonu. Za statistično značilne smo vzeli P-vrednosti, manjše od 0,05. Rezultati meritev obsega zobnega vratu v zgornji čeljusti pri moških so pokazali vrednosti od 20,58 do 32,67 mm, pri ženskah pa od 19,69 do 30,95 mm. V spodnji čeljusti je pri moških znašal obseg zobnega vratu od 17,53 do 32,19 mm, pri ženskah pa od 16,07 do 30,48 mm. Izmerjene velikosti okužene parodontalne rane pri 31 krvodajalcih so znašale od 4,13 do 27,59 cm² (v povprečju 17,98 cm²). Velikosti aktivne okužene parodontalne rane pa so znašale od 0,86 do 25,4 cm² (v povprečju 10,14 cm²). Statistična analiza je pokazala, da je med vsemi opazovanimi vnetnimi mediatorji in citokini povezava samo med velikostjo okužene parodontalne rane ter IL-2 in njegovim receptorjem. Koncentracije IL-2 in sIL-2R so bile statistično značilno večje ($p < 0,01$) pri večjih skupnih ranah kot tudi pri krva-

3

¹ Eva Skalerič, abs. dent. med., Katedra za ustne bolezni in parodontologijo, Medicinska fakulteta, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana.

² Delo je bilo nagrajeno s fakultetno Prešernovo nagrado za študente v letu 2002.

večih globokih parodontalnih ranah preiskovancev. Zaključki raziskave kažejo, da imajo sistemsko zdravi moški krvodajalci značilno večjo koncentracijo IL-2 in sIL-2R v serumu takrat, kadar je prisotna večja prizadetost obzobnih tkiv izmerjena na osnovi globine obzobnih žepov. Visoka prisotnost krvavečih obzobnih žepov t. i. aktivne okužene rane dodatno zveča koncentracijo IL-2 in sIL-2R v serumu preiskovancev z vnetjem obzobnih tkiv.

ABSTRACT

KEY WORDS: periodontal diseases, inflammatory mediators, cytokines

Periodontal disease is the most widespread disease of all chronic inflammatory diseases. The initiation and development of inflammation in the periodontal tissue is influenced by the number and type of microorganisms and by the inflammatory immune host response. Analytical epidemiology and molecular biology studies in the last decade have shown that periodontal inflammation does not only present a risk for tooth loss, but may also play a role in the development of certain systemic diseases. Periodontal disease plays a role in development of some diseases via direct penetration of microorganisms into the bloodstream through an ulcerated inner gingival epithelium and by increasing the levels of some inflammatory mediators and cytokines in the serum. The aim of our study was to determine the levels of inflammatory mediators (C-reactive protein (CRP), fibrinogen, procalcitonin) and inflammatory cytokines (IL-2, sIL-2R, IL-6, IL-8, TNF- α) in the serum of systemically healthy blood donors with periodontal disease. Our hypothesis was that the size of soft periodontal pocket wall in contact with bacteria (infected periodontal wound) influences the level of inflammatory mediators and cytokines in the serum. For the evaluation of infected periodontal wounds, the cervical circumference was measured at the cemento-enamel junction on 515 extracted teeth. The average values of cervical circumferences of individual teeth were multiplied by the average values of six measurements of probing depth for individual teeth in 31 blood donors. The sum of all products for individual teeth presented the size of the infected periodontal wound for each individual. The sum of all products of periodontal pocket measurements, which bled on probing, presented the size of the active infected periodontal wound. Our study included 31 systemically healthy male blood donors aged between 30 and 56 years (average age 43.2 years). Our periodontal examination included pocket depth probing and bleeding on probing. The association between the area of active periodontal wound and the concentrations of inflammatory mediators and cytokines was tested by calculating the Pearson's correlation coefficient. A P value of less than 0.05 was considered statistically significant. The results for cervical circumferences in the maxilla ranged from 20.58 to 32.67 mm in the male population, and from 19.69 to 30.95 mm in the female population. In the mandible, the cervical circumferences ranged from 17.53 to 32.19 mm in males, and from 16.07 to 30.48 mm in females. The measured sizes of infected periodontal wounds in 31 blood donors ranged from 4.13 to 27.59 cm² (average size 17.98 cm²). The measured sizes of active infected periodontal wounds ranged from 0.86 to 25.4 cm² (average size 10.14 cm²). The statistical analysis showed that among all inflammatory mediators and cytokines observed in the serum of blood donors, only IL-2 and sIL-2R showed a positive correlation with the size of infected periodontal wound. The levels of IL-2 and sIL-2R in the serum were statistically significantly higher ($p < 0.01$), with greater size of infected periodontal wound and deep bleeding periodontal wound. The results of our study show a significantly higher level of serum IL-2 and sIL-2R in systemically healthy male blood donors when greater periodontal tissue destruction is present. If a large number of bleeding periodontal pockets (active infected periodontal wound) is additionally present, the levels of IL-2 and sIL-2R in the serum are even higher.

UVOD

Parodontalna bolezen je kroničen infekcijski vnetni proces, ki prizadane trda in mehka obzobna tkiva. Lokalno vnetno dogajanje v obzobnih tkivih vodi tudi v spremenjeno vrednost vnetnih kazalcev v serumu (1). Vnetni mediatorji, ki se sproščajo v krvni obtok, lahko sami ali skupaj s patogenimi bakterijami povzročajo spremembe na različnih organskih sistemih. Znanе so povezave med parodontalno boleznijo in aterosklerozo ter srčno koronarno boleznijo (2–7), s sladkorno boleznijo (8–11), z osteoporozo (12–15) in s prezgodnjim porodom ter zmanjšano porodno težo novorojenčkov (16–19). Omenjeni avtorji so povezanost parodontalne bolezni s sistemskimi boleznimi opazovali z epidemiološkimi metodami. Novejše raziskave so osredotočene na vnetne mediatorje in molekule, ki bi lahko bili vezni člen med parodontalno boleznijo in sistemskimi boleznimi (20–26). Med možne vezne člene spadajo C-reaktivni protein, fibrinogen, holesterol, HDL, LDL, PGE₂, IL-1 in IL-6 ter njuni topni receptorji, TBX2, TNF- α , NO, peroksinitrit, HSP 60, HSP 65, lipidni peroksinitrit, katepsin B, katepsin L in α -2-makroglobulin.

V raziskavo smo vključili naslednje vnetne mediatorje in citokine: C-reaktivni protein, fibrinogen, prokalcitonin, IL-2, sIL-2R, IL-6, IL-8 in TNF- α .

C-reaktivni protein

C-reaktivni protein spada med mediatorje akutne faze vnetja. Med njegove glavne funkcije spadajo aktivacija sistema komplementa, spodbujanje fagocitoze in okrepitev imunskega odgovora.

Koncentracija CRP-ja v plazmi je neposredni pokazatelj vnetja, za razliko od ESR, ki je posredni pokazatelj. Njegovo sintezo spodbujajo jetra pod vplivom IL-1 in IL-6. Normalna koncentracija CRP-ja v serumu je do 5 mg/l, ki pa po vnetnem dražljaju hitro naraste (tudi do 1000-krat), vendar tudi izredno hitro pade (v enem tednu). Povečana koncentracija je nad 5 mg/l, do katere pride pri infekcijskih boleznih (mednje spada tudi parodontalna bolezen), vnetju, poškodbah, rakavih obolenjih in med nosečnostjo.

Loos in sodelavci (27) so pri 53 bolnikih z lokaliziranim parodontitisom in 54 bolnikih z generaliziranim parodontitisom ugotovili značilno večjo koncentracijo (1,45 in 1,30 mg/l) CRP v serumu v primerjavi z bolniki brez parodontalne bolezni (0,90 mg/l). Noack in sodelavci (28) so pri 174 osebah z veliko povprečno izgubo kliničnega prirastišča (N = 50, IKP = 3,79 mm), z zmerno povprečno izgubo kliničnega prirastišča (N = 59, IKP = 2,39 mm) in pri osebah z zdravimi obzobnimi tkivi (N = 65, IKP = 1,74 mm) ugotavljali koncentracijo CRP v serumu. Bolniki z veliko izgubo kliničnega prirastišča so imeli značilno večjo koncentracijo CRP v serumu (4,06 mg/l) v primerjavi z bolniki brez izgube prirastišča (1,70 mg/l). Slade in sodelavci (29) so pri 12949 ljudeh, starejših od 18 let ugotavljali vpliv vnetja obzobnih tkiv na koncentracijo CRP v serumu. Bolniki, ki so imeli več kot 10% mest z obzobnimi žepi globljimi od 4 mm, so imeli povprečno dvakrat večjo koncentracijo CRP v serumu, kot tisti z zdravimi obzobnimi tkivi. Statistično značilno večja koncentracija CRP v serumu je ostala tudi po multivariatni analizi, ki je upoštevala prisotnost sladkorne bolezni, artritisa, emfizema, kajenja, uporabe protivnetnih zdravil in socialno-demografskih dejavnikov.

Fibrinogen

Fibrinogen je plazemski protein, ki se nakopiči na mestu poškodbe. Ob prisotnosti encimov, ki jih sproščajo polimorfonuklearni levkociti in trombociti, iz fibrinogena nastane fibrin, ki igra pomembno vlogo pri celjenju ran, saj stimulira rast in proliferacijo fibroblastov. Fibrinogen se tvori v jetrih, normalna koncentracija v serumu znaša 1,8–3,5 g/l, ob prisotnosti okužb in vnetij pa se poveča za 2–4-krat.

Kweider in sodelavci (30) so pri 50 bolnikih s parodontalno boleznijo pokazali značilno večjo koncentracijo fibrinogena v plazmi v primerjavi s 50 bolniki z relativno zdravimi obzobnimi tkivi. Wu in sodelavci (31) so vključili 4461 oseb, ki so jim ugotavljali parodontalno bolezen z meritvami krvavitve iz dlesne, prisotnosti zobnega kamna, globine sondiranja in izgube kliničnega prirastišča. Koncentracija fibrinogena je bila povečana v plazmi tistih preiskovancev, ki so imeli

slabše klinične parametre obzobnih tkiv. Na Japonskem so Takahashi in sodelavci (32) pri 1044 bolnikih (975 moških in 69 ženskah) ugotovili povprečno koncentracijo 2,36 g/l fibrinogena v plazmi. Povečano koncentracijo so našli pri starejših in težjih pacientih z višjim številom levkocitov in povečanimi potrebami po parodontalnem zdravljenju, ocenjeno s CPITN-indeksom.

Prokalcitonin

Prokalcitonin je mediator akutne faze vnetja. Je protein z molekulsko maso 14 kDa, ki skupaj s kalcitoninom in katakalcinom kodira isti gen. Funkcija in regulacija prokalcitonina pa se zelo razlikuje od slednje omenjenih proteinov. Normalna koncentracija v krvi znaša do 0,5 µg/l, ki se poveča zlasti ob vnetju, ki ga povzročijo bakterije. Študije pri bolnikih z bakterijsko sepsjo so pokazale, da bi bil ta protein lahko pomemben kazalec sistemskih bakterijskih okužb, saj ima večjo specifičnost in občutljivost kot nekateri drugi akutni mediatorji (33).

Rintala in sodelavci (34) so ugotavljali koncentracijo prokalcitonina, CRP in fosfolipaze A2 pri 29 bolnikih z bakteriemijo, brez bakteriemije in z virusnimi okužbami. Koncentracija prokalcitonina in fosfolipaze A2 je bil večja pri pacientih z bakteriemijo kot pri ostalih dveh skupinah. Koncentracija prokalcitonina v krvi je bila najvišja na začetku, koncentracija ostalih dveh pa je narasla kasneje. V prvih 24 urah je bila koncentracija prokalcitonina in fosfolipaze A2 znatno večja od koncentracije CRP, po 24 urah pa je bilo ravno obratno. Chirouze in sodelavci (35) so pri bolnikih v bolnišnicah pokazali, da koncentracija prokalcitonina v serumu pod 0,4 µg/l z gotovostjo izključuje bakteriemijo. Aouifi in sodelavci (36) so proučevali koncentracijo prokalcitonina kot označevalca pooperacijske okužbe po srčnih operacijah. Pri bolnikih s septičnim šokom so našli koncentracijo 96,98 µg/l, pri bolnikih s pljučnico 4,85 µg/l, pri bolnikih z bakteriemijo 3,57 µg/l in pri bolnikih z mediastinitisom 0,80 µg/l. Avtorji zaključujejo, da koncentracija nad 10 µg/l z visoko verjetnostjo kaže na prisotnost septičnega šoka. Giamarellos-Bourboulis in sodelavci (37) so pri bolnikih s povišano temperaturo in bakteriemijo ugotovili koncen-

tracijo 8,23 µg/l, pri bolnikih z lokaliziranimi bakterijskimi okužbami pa 0,86 µg/l. V literaturi ni podatkov o koncentraciji prokalcitonina v serumu bolnikov s parodontalno boleznijo.

IL-2 in sIL-2R

Pod fiziološkimi pogoji IL-2 proizvajajo v glavnem T-limfociti, in sicer po celični aktivaciji z mitogeni ali alogeni. Mirujoče celice ga ne proizvajajo. V *in vitro* pogojih njegovo sintezo zavremo z deksametazonom ali ciklosporinom. Poleg transformiranih T-limfocitov izločajo IL-2 tudi B limfociti. Koncentracija IL-2 v serumu normalno znaša od 0 do 1,16 kU/l (v povprečju 0,08 kU/l).

Biološka aktivnost IL-2 poteka preko membranskih receptorjev, ki se skoraj izključno izražajo na aktiviranih T-limfocitih. Aktivirani B-limfociti in mirujoči monociti redko izražajo te receptorje. Ekspresijo receptorjev IL-2 spreminja prisotnost IL-5 in IL-6. Aktivirani T-limfociti stalno izločajo 42 kDa velik fragment, ki kroži po serumu in plazmi ter deluje kot topni receptor IL-2 (sIL-2R), katerega koncentracija v serumu znaša 223–710 kU/l. Pri različnih patoloških stanjih, kot so okužbe, avtoimune bolezni, levkemije, in po transplanciji organov, se njegova koncentracija lahko poveča do stokrat.

McFarlane in Meikle (38) sta proučevala prisotnost IL-2 in sIL-2R v serumu 26 bolnikov s parodontitisom in 20 oseb z zdravimi obzobnimi tkivi. Ugotovila sta prisotnost IL-2 samo pri dveh bolnikih z zdravimi obzobnimi tkivi (10%) in pri 23 od 26 bolnikov s parodontitisom (88,5%). Koncentracija IL-2 v serumu pri bolnikih je znašala od 0,21 do 173,33 ng/ml. Ugotovila sta tudi prisotnost sIL-2R v serumu vseh oseb z zdravimi obzobnimi tkivi in pri vseh bolnikih s parodontitisom. Povprečna koncentracija sIL-2R v serumu bolnikov s parodontitisom je bila statistično značilno večja od tiste v serumu oseb z zdravimi obzobnimi tkivi. Povprečna koncentracija sIL-2R je znašala $217,95 \pm 1177,27$ kU/l in ni bila povezana z globino sondiranja in stopnjo izgube čeljustne kosti.

IL-6

IL-6 spada v skupino citokinov. Večinoma ga tvorijo monociti, fibroblasti in endotelijske

celice. Najpomembnejši stimulant za sintezo IL-6 so IL-1, bakterijski endotoksini, TNF in onkostatini. IL-6 lahko tudi sam stimulira ali inhibira svojo sintezo. Proizvaja ga tudi sprednji reženj hipofize, katerega spodbujajo vse snovi, ki večajo znotrajcelično koncentracijo cAMP. IL-4 in TGF β zmanjšujeta sintezo IL-6, glukokortikoidi pa jo inhibirajo. V serumu je IL-6 vezan na α -2-makroglobulin, kar ga ščiti pred proteazami in transportnimi funkcijami. Normalna koncentracija IL-6 v serumu znaša do 9,7 ng/l, pri mielomih, revmatoidnem artritisu, jetrni cirozi, Crohnovi bolezni in ulcerativnem kolitisu pa se poveča.

Yamamoto in sodelavci (39) so v visokem odstotku našli več kot 10 ng/l IL-6 v serumu pri bolnikih, ki so imeli ponavljajoče se afte, psevdomembranozno oralno kandidiazo in akutne odontogene bakterijske okužbe. Loos in sodelavci (27) so pri bolnikih s parodontitisom našli povečano koncentracijo IL-6 v serumu v primerjavi z osebami, ki so imele zdrava obzobna tkiva. Chen in sodelavci (40) ter Takahashi in sodelavci (41) pa niso našli razlik v serumski koncentraciji IL-6 med bolniki s parodontitisom in tistimi, ki so imeli zdrava obzobna tkiva. Pietruska in sodelavci (42) so pri 15 bolnikih z različnimi oblikami parodontalne bolezni izmerili koncentracijo IL-6 v serumu. Pri bolnikih s slabšimi parodontalnimi parametri so našli neznačilno zmanjšano koncentracijo IL-6 v serumu.

IL-8

IL-8 je proinflammatory citokin, katerega glavna vloga pri infekcijah in vnetju je kemo-taktično privabljanje in aktivacija nevtrofilcev na mestu tkivne poškodbe. Tvorijo ga endotelijske celice, monociti, eozinofili, astrociti, fibroblasti in keratinociti. Normalna koncentracija IL-8 v serumu znaša do 62 ng/l, ki pa se poveča pri psoriazi, revmatoidnem artritisu in številnih drugih vnetnih procesih.

Gainet in sodelavci (43) so pri bolnikih s hitro napredujočim parodontitisom našli povečano koncentracijo IL-8 v plazmi v primerjavi z bolniki, ki so imeli lokalizirani juvenilni parodontitis ali parodontitis odraslih. Fredriksson in sodelavci (44) pa so ugotovili, da so nevtrofilci iz periferne krvi bolnikov s parodontitisom po stimulaciji izločali

nekoliko večjo koncentracijo IL-8 kot nevtrofilci zdravih oseb.

TNF- α

TNF- α izločajo makrofagi, monociti, nevtrofilci in limfociti T po stimulaciji z bakterijskimi lipopolisaharidi. Sintezo TNF- α induciramo z različnimi dražljaji, kot so interferoni, IL-2, snov P, bradikinin in imunski kompleksi, zavremo pa jo lahko z IL-6, TGF β , VITD2, deksametazonom in ciklosporinom. Normalna koncentracija TNF- α v serumu znaša do 8,1 ng/l.

TNF- α ima širok spekter bioloških aktivnosti. V pikomolarnih koncentracijah je citotoksičen za tumorske celice. Je močan kemoatraktant za nevtrofilce, okrepi proces fagocitoze in citotoksičnega delovanja teh celic. Je tudi rastni dejavnik za fibroblaste in pospešuje proliferacijo limfocitov T in B. Podobno kot IL-1 tudi TNF- α , čeprav v manjši meri, sodeluje pri razgradnji kosti (45).

Čeprav je TNF- α potreben za normalni imunološki odgovor, preveliko izločanje pripelje do patoloških posledic. Odgovoren je za hude učinke pri sepsi, povzročeni z gramnegativnimi bakterijami, obenem pa je glavni mediator kaheksije, ki jo opažamo pri bolnikih z rakastimi boleznimi.

Takahashi in sodelavci (46) so pri 18 bolnikih z lokaliziranim agresivnim parodontitisom ugotovili zmanjšano serumsko koncentracijo TNF- α v primerjavi s 36 osebami z zdravimi obzobnimi tkivi. Kjeldsen in sodelavci (47) so pokazali, da monociti iz periferne krvi bolnikov z juvenilnim parodontitisom, hitro napredujočim parodontitisom in kroničnim parodontitisom v stiku z bakterijama *Porphyromonas gingivalis* in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* izločajo podobno količino TNF- α . Zaključili so, da se na osnovi take meritve ne da diagnostično razločevati med posameznimi oblikami parodontalne bolezni.

Za našo raziskavo smo se odločili, ker smo želeli ugotoviti, kakšna je koncentracija omenjenih vnetnih mediatorjev in citokinov pri naključno izbrani populaciji sistemske zdravih krvodajalcev, ki imajo različno stopnjo prizadetosti obzobnih tkiv. Stopnjo prizadetosti obzobnih tkiv smo želeli ovrednotiti na nov način, to je z izračunom velikosti okužene

parodontalne rane oz. velikosti krvaveče okužene parodontalne rane.

NAMEN IN HIPOTEZA

Namen naše raziskave je bil preveriti hipotezo, da bo velikost aktivne okužene parodontalne rane, preko katere prihaja do prehodne bakteriemijske pri sistemsko zdravih krvodajalcih, vplivala na koncentracijo vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu. Velikost rane smo izračunali iz obsegov zob ob zobnih vratovih in iz vrednosti globine obzobnih žepov, aktivni del rane so predstavljali žepi, ki so krvaveli ob sondiranju.

METODE

Meritve obsega zobnih vratov

Na Kliničnem oddelku za oralno in maksilofacialno kirurgijo Kirurške klinike smo v časovnem obdobju od januarja do maja 2002 zbirali ekstrahirane zobe zgornje in spodnje čeljusti pri moških in ženskah. Na koncu smo zbrali 515 zob, od katerih je bilo 244 zob ekstrahiranih moškim in 271 ženskam. Najprej smo z modelirnim nožkom z vseh zob odstranili ostanke mehkih tkiv in zobnega kamna ter tako očistili področje zobnega vratu. Za merjenje obsega zobnega vratu smo uporabljali zobno nitko, ki smo jo ovili okoli zoba po poteku skleninsko cementne meje. Ko je bila nitka napeljana okoli celega zobnega vratu, smo jo odrezali ter jo nalepili na list papirja. Na koncu merjenja smo imeli 32 listov, na katerih so bile nalepljene nitke, izmerjene na posameznih moških zobeh, in 32 listov, na katerih so bile nalepljene nitke, izmerjene na posameznih ženskih zobeh. Vseh 64 listov s prilepljenimi nitkami smo z optičnim čitalcem (ScanJet 6300C, Hewlett Packard, ZDA) zajeli pri ločljivosti 600 pik na palec. Dolžine nitk na zajetih slikah smo izmerili s programom za analizo slik (UTHSCSA ImageTool for Windows Version 2.00, University of Texas Health Science Center, San Antonio, ZDA). Iz dobljenih vrednosti za posamezni zob smo izračunali povprečno vrednost velikosti njegovega vratu. Vrednosti obsegov zobnega vratu enakih zob na levi in desni strani čeljusti smo združevali in tako dobili 16 vrednosti za posamezne zobe

pri moških in 16 vrednosti za posamezne zobe pri ženskah.

Meritve prizadetosti obzobnih tkiv pri preiskovancih

Meritve prizadetosti obzobnih tkiv smo opravili na Zavodu RS za transfuzijo krvi. V raziskavo smo vključili samo sistemsko zdrave moške krvodajalce. Preiskovancu smo najprej razložili namen raziskave, sledila je pisna privolitev in na koncu še klinični oralni in parodontalni pregled. Po pregledu ustne sluznice smo pri vsakem preiskovancu zapisali število in vrsto prisotnih zob. Preiskovanci so imeli od 16 do 32 prisotnih zob (v povprečju 25,1 zoba). Nato smo s pomočjo zobozdravniškega ogledalca in kalibrirane Williamsove parodontalne sonde na šestih mestih (distobukalno, bukalno, meziobukalno, meziolingvalno, lingvalno in distolingvalno) izmerili globino obzobnih žepov in prisotnost krvavitve na sondiranje. Globino sondiranja, zaokroženo do najbližjega milimetra, in prisotnost morebitne krvavitve smo zabeležili v pripravljene protokole za posameznega bolnika.

O številu zob in meritev, ki so bile globlje od 3 mm, in o prisotnih krvavitvah smo na koncu obvestili vsakega preiskovanca ter ga motivirali in poučili o pravilni in zadostni ustni higieni. V primeru prisotnosti gingivitisa in začetnega parodontitisa smo preiskovancem svetovali obisk pri njegovem osebnem zobozdravniku, v primeru prisotnosti napredovanega parodontitisa pa obisk pri specialistu za ustne bolezni in parodontologijo na Stomatološki kliniki v Ljubljani.

Meritve velikosti okužene parodontalne rane pri preiskovancih

Iz zmnožka povprečne vrednosti vseh šestih meritev globine sondiranja posameznega zoba in obsega zobnega vratu posameznega zoba ter seštevka vseh prisotnih zob, smo dobili velikost celotne subgingivalne površine, ki smo jo imenovali »okužena parodontalna rana«. To okuženo parodontalno rano smo na podlagi prisotne ali odsotne krvavitve na sondiranje v posameznih obzobnih žepih razdelili na »aktivno okuženo parodontalno rano« in na »neaktivno okuženo parodontalno rano«. Aktivno okuženo parodontalno rano

smo razdelili še na plitvo, kadar je bila prisotna krvavitev na sondiranje pri obzobnih sulkusih, globokih do 2mm, in na globoko, kadar je bila prisotna krvavitev na sondiranje pri obzobnih žepih, globljih od 2 mm.

Meritve koncentracije vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu preiskovancev

Za meritve koncentracije CRP, sIL-2R, IL-6, IL-8 in TNF- α smo uporabili imunološko metodo, ki deluje na osnovi analize kemiluminiscence (IMMULITE). Za meritve koncentracije fibrinogena smo uporabili modificirano Claussovo metodo (Multifibren U) z uporabo analizatorja BCT Dade Behring. Za meritve koncentracije prokalcitonina smo uporabili dvostransko imunoluminometrično metodo z uporabo Liason analizatorja (LIASON BRAHMS PCT). Koncentracijo IL-2 smo ovrednotili z metodo EASIA (Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay tovarne BioSource Europe S. A.). Meritve koncentracije vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu preiskovancev smo opravili na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo.

Statistične metode

Statistično analizo smo naredili s programom SPSS 9.0 za Windows (SPSS Inc., Chichago, Illinois, ZDA). Za preverjanje povezanosti med površino aktivne rane in koncentracijo vnetnih mediatorjev ter citokinov smo izračunali korelacijske koeficiente po Pearsonu. Za statistično značilne smo vzeli P-vrednosti, manjše od 0,05.

Dovoljenje za našo raziskavo je dne 16. 4. 2002 dala Komisija za medicinsko etiko pri Ministrstvu za zdravje v Ljubljani.

REZULTATI

Meritve obsega zobnih vratov

Obseg zobnega vratu smo merili na 515 ekstrahiranih zobeh, od tega je 244 zob pripadalo moškim, 271 zob pa ženskam. V vsaki skupini posameznih zob smo imeli vsaj 10 levih oz. desnih zob. Rezultati povprečnih obsegov posameznih zob so prikazani v tabeli 1.

Iz tabele 1 je razvidno, da imajo največji obseg pri moških v zgornji in spodnji čeljusti prvi kočniki, najmanjšega v zgornji

Tabela 1. Število in povprečni obsegi zobnega vratu pri posameznih izdrtih zobeh.

ZOBJE	MOŠKI		ŽENSKE	
	ŠTEVILO (N)	OBSEG v mm $\bar{X} \pm S. D.$	ŠTEVILO (N)	OBSEG v mm $\bar{X} \pm S. D.$
11, 21	15	22,94 $\pm$ 0,88	23	22,56 $\pm$ 1,26
12, 22	11	20,58 $\pm$ 2,07	23	19,69 $\pm$ 1,85
13, 23	20	23,91 $\pm$ 1,38	12	23,14 $\pm$ 1,47
14, 24	34	24,74 $\pm$ 1,81	39	23,95 $\pm$ 2,02
15, 25	15	23,98 $\pm$ 1,59	10	22,44 $\pm$ 1,65
16, 26	10	32,67 $\pm$ 3,32	10	30,20 $\pm$ 2,19
17, 27	15	31,86 $\pm$ 2,36	18	30,95 $\pm$ 2,71
18, 28	25	30,02 $\pm$ 2,67	30	27,68 $\pm$ 2,41
31, 41	10	17,53 $\pm$ 1,10	18	16,07 $\pm$ 1,30
32, 42	12	18,03 $\pm$ 1,06	15	16,34 $\pm$ 1,71
33, 43	10	21,12 $\pm$ 1,62	10	20,30 $\pm$ 1,17
34, 44	11	21,46 $\pm$ 2,08	12	21,28 $\pm$ 2,04
35, 45	17	21,85 $\pm$ 1,35	19	21,15 $\pm$ 2,16
36, 46	10	32,19 $\pm$ 2,47	10	30,21 $\pm$ 2,27
37, 47	19	31,80 $\pm$ 2,33	10	30,48 $\pm$ 2,31
38, 48	10	29,70 $\pm$ 2,26	12	28,56 $\pm$ 1,27

čeljusti stranski sekalci, v spodnji čeljusti pa centralni sekalci. Pri ženskah imajo največji obseg zobnega vratu v zgornji in spodnji čeljusti drugi kočniki, najmanjši obseg v zgornji čeljusti stranski sekalci, v spodnji čeljusti pa centralni sekalci. Razvidno je tudi, da so bili obsegi pri vseh posameznih zobeh pri moških večji od ženskih v razponu od 0,18 do 2,47 mm. Celokupni povprečni obsegi zobnih

vratov pri vseh zobeh pri moških znašajo 808,72 mm, pri ženskah pa 770,00 mm.

Meritve prizadetosti obzobnih tkiv in izračun velikosti okužene parodontalne rane pri preiskovancih

V tabeli 2 so prikazani rezultati velikosti okužene parodontalne rane pri 31 preiskovancih.

Tabela 2. Velikosti skupne, aktivne in neaktivne rane pri preiskovancih.

Preiskovanec	Skupna v cm ²	Rana					
		Aktivna v cm ²		Neaktivna v cm ²			
		Skupna	Plitva	Globoka	Skupna	Plitva	Globoka
1	12,35	0,86	0,72	0,14	11,49	4,99	6,49
2	16,98	9,20	4,30	4,90	7,79	3,93	3,86
3	14,86	6,35	2,83	3,52	8,51	3,37	5,14
4	20,51	4,53	1,52	3,01	15,98	5,80	10,18
5	22,22	9,26	2,05	7,21	12,97	2,84	10,13
6	4,13	2,83	0,53	2,30	1,30	0,20	1,10
7	18,77	9,94	2,92	7,02	8,83	1,34	7,49
8	21,97	4,34	0,18	4,16	17,63	1,60	16,03
9	12,88	5,35	2,28	3,07	7,53	4,18	3,35
10	13,49	3,97	1,61	2,36	9,52	6,12	3,40
11	18,31	9,49	5,14	4,35	8,82	4,24	4,58
12	13,05	5,31	1,99	3,32	7,74	2,89	4,86
13	17,02	7,04	2,57	4,47	9,98	5,10	4,88
14	16,91	8,27	3,08	5,18	8,65	3,52	5,12
15	20,25	16,88	2,18	14,70	3,37	0,75	2,61
16	22,82	15,59	2,03	13,56	7,23	2,60	4,63
17	6,68	6,61	2,08	4,53	0,07	0,07	0,00
18	14,82	7,93	1,38	6,54	6,90	1,41	5,49
19	24,09	16,23	2,31	13,92	7,86	2,63	5,23
20	23,97	15,75	1,90	13,84	8,22	3,14	5,09
21	18,51	11,82	0,93	10,89	6,69	2,05	4,65
22	17,07	17,07	3,28	14,26	0,00	0,00	0,00
23	18,64	13,55	2,12	11,43	5,09	5,46	0,36
24	19,82	7,11	0,42	6,68	12,71	5,15	7,56
25	22,27	4,67	1,52	3,15	17,60	14,01	3,59
26	27,59	25,40	4,74	20,66	2,19	0,92	1,27
27	23,50	18,16	3,36	14,80	5,34	3,10	2,24
28	13,22	3,62	1,35	2,27	9,60	8,80	0,81
29	15,31	11,60	3,20	8,40	4,70	2,70	2,00
30	23,67	19,01	2,07	16,94	4,66	1,87	2,79
31	20,66	16,75	4,72	12,03	3,91	1,22	2,68

Koncentracije vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu preiskovancev

V tabeli 3 so prikazane koncentracije vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu 31 preiskovancev.

Koncentracije CRP so bile v mejah normale in so se gibale v razponu od 0,20 do 2,40 mg/l. Koncentracije fibrinogena so bile od 1,59 do 5,63 g/l. Serum sedmih preiskovancev je pokazal koncentracijo nad zgornjo

mejo normale, to je 3,5 g/l. Koncentracije prokalcitonina so se gibale od 0,07 do 2,13 µg/l in so bile samo v dveh primerih nad zgornjo mejo normale (0,5 µg/l). Koncentracije IL-2 so se gibale med 0,17 in 0,48 kU/l in so bile vse v mejah normale. Koncentracije sIL-2R so bile v razponu od 207 do 698 kU/l in so bile vse v okviru normalnih koncentracij. Koncentracije IL-6 so bile v razponu od 0,36 do 1,60 ng/l in so bile vse v okviru normalnih koncentracij. Koncentracije IL-8 so bile med

Tabela 3. Koncentracije vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu preiskovancev.

Preiskovanec	Mediatorji in citokini							
	CRP mg/L	fibrinogen g/L	prokalcitonin mg/L	IL-2 kU/L	sIL-2R kU/L	IL-6 ng/L	IL-8 ng/L	TNF-α ng/L
1	0,22	3,17	0,07	0,23	503	0,36	9,30	8,40
2	1,27	2,88	0,08	0,23	435	0,49	5,60	7,90
3	0,43	2,46	0,09	0,29	348	0,44	12,00	3,40
4	0,49	2,55	0,09	0,23	219	0,53	4,40	1,40
5	1,45	2,85	0,39	0,34	293	0,40	6,60	6,50
6	2,38	5,63	0,09	0,29	304	0,46	8,50	2,50
7	1,91	2,77	0,16	0,39	360	0,37	2,80	6,80
8	1,04	3,23	0,08	0,23	304	0,41	10,00	6,30
9	0,15	3,11	0,10	0,17	416	0,41	11,70	7,40
10	0,84	3,50	0,09	0,23	345	0,42	9,90	4,40
11	0,52	3,35	0,10	0,39	302	0,44	8,60	5,20
12	1,49	3,78	2,13	0,23	282	0,52	6,10	4,80
13	0,85	2,52	0,09	0,39	223	0,41	3,80	2,10
14	1,77	3,46	0,09	0,29	207	0,43	5,40	6,70
15	1,40	3,84	0,10	0,48	495	0,47	8,30	0,30
16	0,80	3,25	0,08	0,23	537	0,41	9,20	2,90
17	0,20	2,48	0,09	0,34	496	0,37	9,70	8,10
18	0,72	4,07	0,09	0,34	459	0,42	8,70	8,00
19	1,13	3,42	0,21	0,48	698	0,48	3,80	4,80
20	0,13	2,19	1,22	0,39	372	0,42	5,80	4,00
21	0,39	2,57	0,09	0,44	381	0,37	20,80	6,00
22	0,60	3,27	0,08	0,29	396	0,43	40,90	8,80
23	0,70	3,35	0,08	0,39	558	0,43	2,20	3,70
24	0,85	3,17	0,09	0,44	389	0,36	10,50	5,40
25	0,96	3,23	0,10	0,34	352	0,47	1,50	3,20
26	0,31		0,07	0,48	505	0,44	7,60	2,40
27	1,79	3,78	0,13	0,39	303	0,43	7,10	3,10
28	1,42	2,58	0,07	0,48	327	0,46	6,10	3,90
29	2,05	3,88	0,08	0,39	344	0,39	5,30	3,10
30	0,81	3,17	0,07	0,39	623	0,49	18,40	3,60
31	2,40	3,15	0,08	0,44	403	0,46	10,60	4,80

2,2 in 40,9 ng/l in so bile v normalnih mejah. Koncentracije TNF- α so bile od 0,3 do 8,8 ng/l in so bile v treh primerih nad zgornjo mejno koncentracijo, ki je 8,1 ng/l.

Povezanost velikosti okužene parodontalne rane in koncentracije vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu

Naši rezultati so pokazali, da med površino globoke aktivne rane in koncentracijo CRP, fibrinogena ter prokalcitonina ni povezanosti. Prisotna pa je statistično značilna korelacija med površino globoke aktivne rane ter koncentracijo IL-2 in sIL-2R. Od ostalih mediatorjev in citokinov sta IL-6 in IL-8 v statistično neznačilni pozitivni korelaciji, TNF- α in površina globoke aktivne rane pa v statistično neznačilni negativni korelaciji.

Slika 1 prikazuje korelacijo med površino globoke aktivne rane in koncentracijo IL-2 v serumu preiskovancev. Pearsonov korelacijski koeficient $r = 0,55$ je statistično značilen ($p < 0,001$).

Slika 2 prikazuje korelacijo med površino globoke aktivne rane in koncentracijo sIL-2R v serumu preiskovancev. Pearsonov korelacijski koeficient $r = 0,53$ je statistično značilen ($p < 0,002$).

Slika 3 prikazuje koncentracijo sIL-2R v serumu glede na velikost skupne aktivne rane (vsa krvaveča mesta) in razdelitev na plitvo aktivno rano (vsa krvaveča mesta, ki niso

bila globlja od 2 mm) in na globoko aktivno rano (vsa krvaveča mesta, kjer so bili obzobni žepi globlji od 2 mm). Iz slike 6 je razvidno, da je predvsem globoka aktivna rana odgovorna za porast koncentracije sIL-2R v serumu.

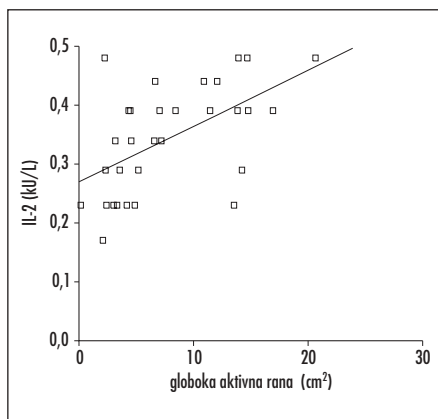
Iz slike 3 je razvidno, da je korelacija med koncentracijo sIL-2R in skupno aktivno parodontalno rano, globoko aktivno in plitvo aktivno parodontalno rano pozitivna. Pearsonov korelacijski koeficient za skupno aktivno parodontalno rano je $r = 0,48$ ($p < 0,006$), za globoko aktivno rano je $r = 0,53$ in je statistično značilen na nivoju tveganja 0,002. Plitva aktivna parodontalna rana je prav tako v pozitivni korelaciji s koncentracijo sIL-2R v serumu ($r = 0,06$) in ni statistično značilna.

Rezultati teh meritev kažejo, da na dvig koncentracije sIL-2R v serumu vpliva predvsem prisotnost parodontitisa (obzobnih žepov, ki so globoki 3 in več mm in ki krvavijo na sondiranje) in ne prisotnost gingivitisa, ko so prisotni obzobni sulkusi, ki krvavijo.

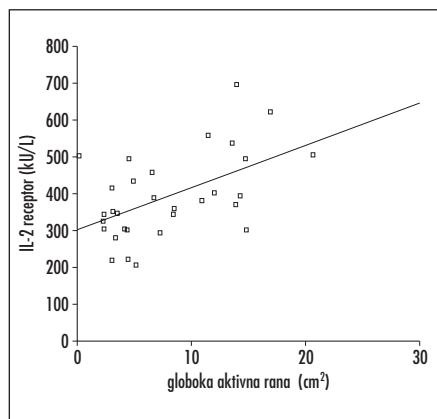
Slika 4 prikazuje korelacijo med površino globoke aktivne rane in koncentracijo IL-6 v serumu preiskovancev. Pearsonov korelacijski koeficient $r = 0,06$ ni statistično značilen.

Slika 5 prikazuje korelacijo med površino globoke aktivne rane in koncentracijo IL-8 v serumu preiskovancev. Pearsonov korelacijski koeficient $r = 0,26$ ni statistično značilen.

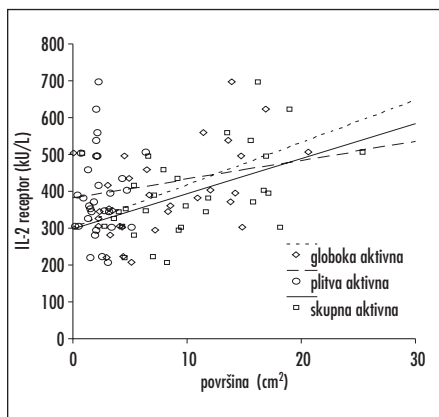
Slika 6 prikazuje korelacijo med površino globoke aktivne rane in koncentracijo TNF- α v serumu preiskovancev. Pearsonov korelacijski koeficient $r = -0,26$ ni statistično značilen.



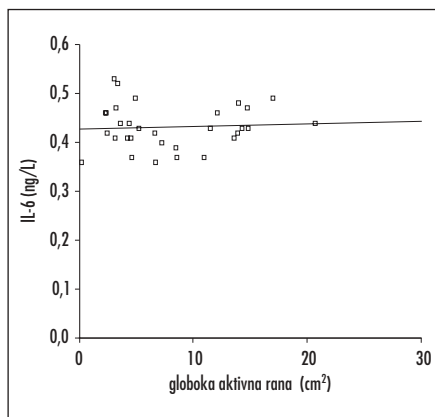
Slika 1. Odnos med površino globoke aktivne rane in koncentracijo IL-2 v serumu.



Slika 2. Odnos med velikostjo globoke aktivne rane in koncentracijo sIL-2R v serumu.



Slika 3. Odnos med skupno, globoko in plitvo aktivno rano in koncentracijo sIL-2R v serumu.



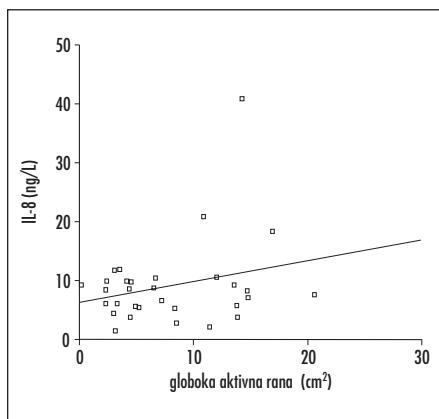
Slika 4. Odnos med velikostjo globoke aktivne rane in koncentracijo IL-6 v serumu.

RAZPRAVA

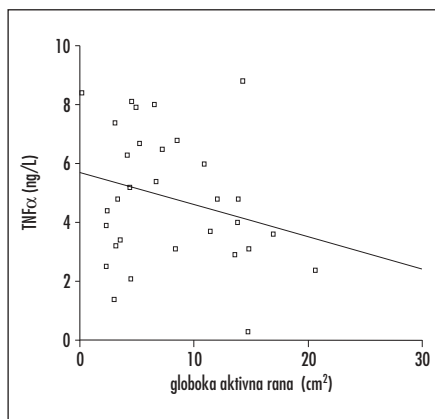
V naši raziskavi smo prvi poskusili oceniti velikost parodontalne rane, ki nastane med razvojem parodontalne bolezni. Uporabili smo originalno metodo, s katero smo iz povprečnih vrednosti obsegov zobnih vratov za posamezni zob in povprečne vrednosti klinično izmerjene globine obzobnih žepov izračunali velikost parodontalne rane. Zavedamo se tudi pomankljivosti te metode. V primerih, ko je na posamezni zobni ploskvi obstajal umik dlesne, je bil obseg zoba ob robu dlesne lahko nekoliko večji ali manjši, kot je obseg zoba ob skleninsko cementni meji

na zobnem vratu. Glede na izračun, da je bil umik dlesne prisoten samo pri 13 % vseh zob preiskovancev, in še to v povprečju samo na enem ali dveh mernih mestih od šestih, menimo, da morebitna prisotnost gingivalnih retrakcij ni pomembno vplivala na izračun velikosti parodontalne rane.

V naši raziskavi so bile koncentracije vnetnih mediatorjev CRP, fibrinogena in prokalcitonina v serumu krvodajalcev z vnetjem obzobnih tkiv v mejah normale. Povprečna koncentracija CRP v serumu naših preiskovancev 1,01 mg/l je v skladu z ugotovitvami Loosa in sodelavcev (27), ki so pri preiskovancih brez parodontalne bolezni našli



Slika 5. Odnos med velikostjo globoke aktivne rane in koncentracijo IL-8 v serumu.



Slika 6. Odnos med velikostjo globoke aktivne rane in koncentracijo TNF-α v serumu.

koncentracijo 0,90 mg/l in mnogo večje pri bolnikih z lokaliziranim parodontitisom (1,45 mg/l) in pri bolnikih z generaliziranim parodontitisom (1,30 mg/l). Naše ugotovljene nižje koncentracije lahko pripišemo dejstvu, da med našimi preiskovanci ni bilo tako homogenih populacij z lokaliziranim ali generaliziranim parodontitisom. Povprečna koncentracija fibrinogena v serumu naših preiskovancev je bila 3,17 g/l, kar je precej večja kot povprečna koncentracija pri Takahashiju in sodelavcih (32), ki so pri 1044 pacientih izmerili povprečno koncentracijo 2,36 g/l fibrinogena v plazmi. Takahashi in sodelavci (32), Wu in sodelavci (31) ter Kweider in sodelavci (30) so izmerili večjo koncentracijo fibrinogena v plazmi glede na slabše klinično stanje obzobnih tkiv in večje potrebe po parodontalnem zdravljenju. V naši raziskavi nismo potrdili značilne povezanosti med globino aktivne okužene rane in koncentracijo fibrinogena v serumu. Podobno nismo mogli take povezanosti potrditi za prokalcitonin. Glede na dejstvo, da v literaturi ni podatkov o serumski koncentraciji prokalcitonina pri bolnikih s parodontalno boleznijo in da je bilo število naših preiskovancev omejeno, zaenkrat ne moremo trditi, da je ta občutljiv mediator akutne faze vnetja primeren za ugotavljanje sistemske vnetne reakcije na izjave občasne tranzitorne bakteriemije iz okužene parodontalne rane.

Koncentracija IL-2 in sIL-2R v serumu naših preiskovancev je pokazala, da obstaja med njo in velikostjo globoke okužene parodontalne rane pozitivna korelacija. To je v skladu s študijo, ki sta jo naredila McFarlane in Meikle (38) in ugotovila prisotnost IL-2 le pri 2 od 20 oseb z zdravimi obzobnimi tkivi in pri 23 od 26 bolnikov s parodontitisom. Prisotnost sIL-2R sta ista avtorja našla pri vseh osebah z zdravimi obzobnimi tkivi in vseh bolnikih s parodontitisom, povprečna koncentracija sIL-2R v serumu bolnikov s parodontitisom pa je bila statistično značilno večja od tiste v serumu oseb z zdravimi obzobnimi tkivi. Tudi mi smo našli večjo koncentracijo pri preiskovanih, ki so imeli večjo površino globoke okužene rane, to pomeni večje število globokih žepov, ki so krvaveli na sondiranje.

Zvečana koncentracija IL-2 v serumu lahko pospeši nastanek koronarne srčne

bolezni, sladkorne bolezni tipa 1 in pri bolnikih, ki hodijo na hemodializo, nastanek smrtnih zapletov. IL-2 povzroči indukcijo sinteze dušikovega oksida, kar lahko preko negativnega inotropnega učinka vodi v srčno odpoved (48), sodeluje tudi v patogenezi avtoimune razgradnje β -celic Langerhansovih otočkov trebušne slinavke in je na ta način udeležen pri patogenezi sladkorne bolezni tipa I (49). Umrljivost bolnikov, ki hodijo na hemodializo, je povezana z zvečano serumsko koncentracijo proinflammatoryh citokinov, med njimi tudi IL-2 (50).

Čeprav smo v našo raziskavo vključili le sistemsko zdrave moške krvodajalce, bi bilo v bodoče smiselno narediti podobno raziskavo, v katero bi bile vključene ženske oz. nosečnice. Povečana koncentracija IL-2 v serumu nosečnic bi bila lahko možen vzrok za preeklampsijo oz. prezgodnji porod (51). Taka raziskava bi lahko dodatno osvetlila povezanost med parodontalno boleznijo in prezgodnjim porodom, ki so jo ugotavljali Offenbacher in sodelavci (16, 17, 19).

Koncentracija IL-6 v serumu naših preiskovancev je bila v mejah normale, kar je v skladu z raziskavama, ki sta ju naredila Chen in sodelavci (40) in Takahashi in sodelavci (41) ter ugotovila, da ni razlik v serumski koncentraciji IL-6 pri bolnikih s parodontitisom in pri osebah z zdravimi obzobnimi tkivi. V nasprotju z našimi ugotovitvami pa so rezultati študije Yamamota in sodelavcev (39), ki so v visokem odstotku našli povečano koncentracijo (IL-6 > 10 ng/l) pri bolnikih z različnimi bolezenskimi stanji v ustni votlini, kot so ponavljajoče se afte, oralna kandidiaza in akutni odontogeni bakterijski infekti. Prav tako so v nasprotju z našimi ugotovitvami rezultati študij Loosa in sodelavcev (27), ki so tudi ugotovili povečano koncentracijo IL-6 pri bolnikih s parodontitisom glede na osebe z zdravimi obzobnimi tkivi, in Pietruske in sodelavcev (42), ki so pri bolnikih s slabšimi parodontalnimi parametri našli neznačilno zmanjšano koncentracijo IL-6 v serumu. Glede na dejstvo, da so med rezultati naše študije in med rezultati v literaturi zelo različni podatki o koncentraciji IL-6 v serumu bolnikov s parodontalno boleznijo, ne moremo trditi, da je IL-6 primeren za ugotavljanje sistemske vnetne reakcije, ki se

pojavi kot odgovor na prehodno bakteriemi-
jo, ki jo povzroči okužena parodontalna rana.

Tudi koncentracija IL-8 v serumu naših preiskovancev ni odstopala od normalnih. Čeprav je bila korelacija pozitivna (0,26), je bil Pearsonov korelacijski koeficient statistično neznačilen. To ni v skladu s študijo Gaineta in sodelavcev (43), ki so našli povečano koncentracijo IL-8 v serumu 26 bolnikov s parodontitisom. Razlike lahko razložimo z dejstvom, da so bili v njihovo študijo vključeni bolniki s parodontitisom odraslih, lokaliziranim juvenilnim parodontitisom in hitro napredujočim agresivnim parodontitisom, medtem ko je naših 31 krvodajalcev imelo prisoten samo gingivitis ali kronični parodontitis odraslih.

Koncentracija TNF- α v serumu naših preiskovancev je bila pri 29 od 31 preiskovancev v mejah normale (do 8,1 ng/l). Čeprav se je pokazala negativna korelacija ($r = -0,26$), Pearsonov korelacijski koeficient ni bil statistično značilen. Podobno negativno korelacijo so našli tudi Takahashi in sodelavci (46), ki pa so izmerili značilno zmanjšano koncentracijo TNF- α pri 18 bolnikih z lokaliziranim agresivnim parodontitisom glede na osebe z zdravimi obzobnimi tkivi. Razliko med rezultati obeh študij si lahko razlagamo s tem, da je bilo njihovih 18 preiskovancev bolnikov z lokaliziranim agresivnim parodontitisom za razliko od naših 31 preiskovancev, ki so imeli samo gingivitis ali kronični parodontitis odraslih.

ZAKLJUČKI

- Na izdrtih zobeh smo izmerili obsege zobnih vratov in dobili povprečne vrednosti obsegov zobnih vratov za vsak posamezen zob pri moških in ženskah. Nato smo z novo metodo izračunali velikost skupne okužene parodontalne rane tako, da smo sešteli zmnoške vrednosti obsega zobnega vratu posameznih zob in povprečne vrednosti globine sondiranja, ki smo jih klinično izmerili na šestih mestih okrog posameznega zoba. Z vsoto zmnožkov vrednosti obsega zobnega vratu posameznih zob in klinično izmerjenih povprečnih vrednosti globine sondiranja na šestih mestih okrog posameznega zoba smo izračunali velikost skupne okužene parodontalne rane. Z vsoto zmnožkov obsegov

zobnega vratu posameznih zob in povprečne vrednosti meritev obzobnih žepov, ki so krvaveli, pa smo izračunali velikost aktivne parodontalne rane. To smo dodatno razdelili na globoko aktivno rano, pri kateri smo ugotovili krvavitev pri obzobnih žepih, in na plitvo aktivno rano, pri kateri smo ugotovili krvavitev iz obzobnih sulkusov, plitvejših od 2 mm.

- Ugotovili smo, da je skupna parodontalna rana pri 31 preiskovancih znašala od 4,13 do 27,59 cm², skupna aktivna parodontalna rana od 1,86 do 25,40 cm², globoka aktivna rana od 0,14 do 20,66 cm² in plitva aktivna rana od 0,18 do 5,14 cm².

- V serumu 31 sistemsko zdravih moških krvodajalcev smo izmerili koncentracije mediatorjev vnetja (CRP, fibrinogena in prokalcitonina) ter inflamatornih citokinov (IL-2, sIL-2R, IL-6, IL-8 in TNF- α). Od navedenih mediatorjev in citokinov smo našo hipotezo potrdili le pri IL-2 in sIL-2R, katerih koncentracije so bile statistično večje v serumu preiskovancev z večjo prizadetostjo obzobnih tkiv, ocenjeno s pomočjo globoke aktivne parodontalne rane.

ZAHVALA

Za idejo, vodenje in pomoč pri raziskovalni nalogi se zahvaljujem mentorju prof. dr. Franju Piklju, dr. med., in somentorju asist. mag. Borisu Gašpircu, dr. dent. med.

Asist. mag. Alešu Fidlerju, dr. dent. med., gre moja zahvala za pomoč pri računalniško podprtih meritvah obsega zobnih vratov zob in računalniški analizi rezultatov, prof. dr. Jošku Osredkarju, univ. dipl. ing. farm., in njegovim sodelavcem s Kliničnega inštituta za klinično kemijo in biokemijo KC pa zahvala za opravljene meritve koncentracij posameznih vnetnih mediatorjev in citokinov v serumu preiskovancev.

Za naklonjenost in pomoč pri vključevanju krvodajalcev v raziskavo gre zahvala dr. Ljubiši Lukiću z Zavoda RS za transfuzijo, za neposredno sodelovanje pri zapisu oralnih in parodontalnih parametrov pa medicinski sestri ga. Mojci Sušnik s Centra za ustne bolezni in parodontologijo.

Posebno zahvalo dolgujem vsem krvodajalcem, ki so z naklonjenostjo sodelovali v raziskavi.

LITERATURA

1. Ebersole JL, Capelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontology 2000* 2000; 23: 19–49.
2. Mattila KJ, Valle MS, Nieminen MS, Valtanen VV, Hietaniemi KL. Dental infections and coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1993; 103: 205–11.
3. DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *Br Med J* 1993; 306: 688–91.
4. Beck JD, Garcia RG, Heiss G, Vokonas P, Offenbacher S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996; 67 Suppl: 1123–37.
5. Hujoel P, Drangsholt M, Spiekerman C, DeRouen TA. Periodontal disease and coronary heart disease risk. *JAMA* 2000; 284: 1406–10.
6. Beck JD, Slade G, Offenbacher S. Oral disease, cardiovascular disease and systemic inflammation. *Periodontology 2000* 2000; 23: 110–20.
7. De Nardin E. The role of inflammatory and immunological mediators in periodontitis and cardiovascular disease. *Ann Periodontol* 2001; 6: 30–40.
8. Kinane DF, Chestnutt IG. Relationship of diabetes to periodontitis. *Curr Opin Periodontol* 1997; 4: 29–34.
9. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann Periodontol* 1998; 3: 51–61.
10. Nishimura F, Takashashi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. *Ann Periodontol* 1998; 3: 20–9.
11. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: Role of inflammation. *Ann Periodontol* 2001; 6: 125–37.
12. von Wörmann N, Klausen B, Kollerup G. Osteoporosis: A risk factor in periodontal disease. *J Periodontol* 1994; 65: 1134–8.
13. Wactawski-Wende J, Grossi SG, Trevisan M, Genco RJ. The role of osteopenia in oral bone loss and periodontal disease. *J Periodontol* 1996; 67: 1076–84.
14. Wactawski-Wende J. Periodontal diseases and osteoporosis: Association and mechanisms. *Ann Periodontol* 2001; 6: 197–208.
15. Krall EA. The periodontal-systemic connection: Implications for treatment of patients with osteoporosis and periodontal disease. *Ann Periodontol* 2001; 6: 209–13.
16. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Beck JD. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996; 67: 1103–13.
17. Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, Beck JD. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis-associated pregnancy complications. *Ann Periodontol* 1998; 3: 233–50.
18. Jeffcoat MK, Geurs NC, Reddy MS, Cliver SP, Goldenberg RL, Hauth JC. Periodontal infection and preterm birth: Results of a prospective study. *J Am Dent Assoc* 2001; 132: 875–80.
19. Offenbacher S, Lieff S, Boggess KA, Murtha AP, Madianos PN, Champagne CME, McKaig RG, Jared HL, Mauriello SM, Auten RL, Herbert WNP, Beck JD. Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. *Ann Periodontol* 2001; 6: 164–74.
20. Page RC. Host response tests for diagnosing periodontal diseases. *J Periodontol* 1992; 63 Suppl: 356–66.
21. Offenbacher S, Collins JG, Heasman PA. Diagnostic potential of host response mediators. *Adv Dent Res* 1993; 7: 175–81.
22. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000; 14: 202–15.
23. Paquette DW, Williams RC. Modulation of host inflammatory mediators as a treatment strategy for periodontal diseases. *Periodontol* 2000; 24: 239–52.
24. Tabeta K, Yamazaki K, Hotokezaka H, Yoshie H, Hara K. Elevated humoral immune response to heat shock protein 60 (hsp 60) family in periodontitis patients. *Clin Exp Immunol* 2000; 120: 285–93.
25. Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis* 2001; 7: 2–10.
26. Seguir S, Gogly B, Bodineau A, Godeau G, Brousse N. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue? *J Periodontol* 2001; 72: 1398–406.
27. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol* 2001; 71: 1528–34.
28. Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, De Nardin E. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol* 2001; 72: 1221–7.
29. Slade GD, Offenbacher S, Beck JD, Heiss G, Pankow JS. Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *J Dent Res* 2000; 79: 49–57.
30. Kweider M, Lowe GD, Murray GD, Kinane DF, McGowan DA. Dental disease, fibrinogen and white cell count; links with myocardial infarction? *Scott Med J* 1993; 38: 73–4.

31. Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Falkner KL, Dorn JP, Sempos CT. Examination of the relation between periodontal health status and cardiovascular risk factors: serum total and high density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, and plasma fibrinogen. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 273-82.
32. Takahashi S, Imaki M, Yoshida Y, Ogawa Y, Tanada S. A cross-sectional study on the relationship of plasma fibrinogen concentration and age, physical fitness, lifestyle and health examinations of healthy Japanese males. *Nippon Eiseigaku Zasshi* 2000; 55: 508-15.
33. Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Clin Biochem* 2001; 38: 483-93.
34. Rintala Em, Aittoniemi J, Laine S, Nevalainen TJ, Nikoskelainen J. Early identification of bacteriemia by biochemical markers of systemic inflammation. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61: 523-30.
35. Chirouze C, Schuhmacher H, Rabaud C, Gil H, Khayat N, Estavoyer JM, May T, Hoen B. Low serum procalcitonin level accurately predicts the absence of bacteriemia in adult patients with acute Fever. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 156-61.
36. Aouifi A, Piriou V, Bastien O, Blanc P, Bouvier H, Evans R, Celard M, Vandenesch F, Rousson R, Lehot JJ. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients. *Crit Care Med* 2000; 28: 3171-6.
37. Giamarellos-Bourboulis EJ, Grecka P, Polakou G, Anargyrou K, Katsilambros N, Giamarellou H. Assessment of procalcitonin as a diagnostic marker of underlying infection in patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1718-25.
38. McFarlane CG, Meikle MC. Interleukin-2, interleukin-2 receptor and interleukin-4 levels are elevated in the sera of patients with periodontal disease. *J Periodontol Res* 1991; 26: 402-8.
39. Yamamoto T, Yoneda K, Ueta E, Osaki T. Serum cytokines, interleukin-2 receptor, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in oral disorders. *Oral Surg Med Oral Pathol* 1994; 78: 727-35.
40. Chen CC, Chang KL, Huang JF, Huang JS, Tsai CC. Correlation of interleukin-1beta, interleukin-6, and periodontitis. *Kaohsiung J Med Sci* 1997; 13: 609-17.
41. Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, Takigawa M, Myoukai F, Kurihara H, Murayama Y. Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol* 1994; 65: 147-53.
42. Pietruska M, Pietruski JK, Stokowska W, Jablonska E. Interleukin 6 and its soluble receptor in periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp* 1998; 46: 305-9.
43. Gainet J, Dang PM, Chollet-Martin S, Brion M, Sixou M, Hakim J, Gourgerot-Pocidallo MA, Elbim C. Neutrophil dysfunctions, IL-8, and soluble L-selectin plasma levels in rapidly progressive versus adult and localized juvenile periodontitis: variations according to disease severity and microbial flora. *J Immunol* 1999; 163: 5013-9.
44. Fredriksson M, Bergstrom K, Asman B. IL-8 and TNF-alfa from peripheral neutrophils and acute-phase proteins in periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 123-8.
45. McGeachie J, Tennant M. Growth factors and their implications for clinicians: A brief review. *Aust Dent J* 1997; 42: 375-80.
46. Takahashi K, Ohyama H, Kitanaka M, Sawa T, Mineshiba J, Nishimura F, Arai H, Takashiba S, Murayama Y. Heterogeneity of host immunological risk factors in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2001; 72: 425-37.
47. Kjeldsen M, Holmstrup P, Lindemann RA, Bendtzen K. Bacterial-stimulated cytokine production of peripheral mononuclear cells from patients of various periodontitis categories. *J Periodontol* 1995; 66: 139-44.
48. Birks EJ, Yacoub MH. The role of nitric oxide and cytokines in heart failure. *Coron Artery Dis* 1997; 8: 389-402.
49. Cavallo MG, Pozilli P. Cytokines in sera from insulin-dependent diabetic patients at diagnosis. *Clin Exp Immunol* 1991; 86: 256-9.
50. Kimmel PL, Phillips TM. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 236-44.
51. Hamai Y, Fujii T, Yamashita T. Evidence for an elevation of serum interleukin-2 and tumor necrosis factor-alfa levels before the clinical manifestations of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1997; 38: 89-93.