



# Γενετικοί Πολυμορφισμοί και Ενεργή MMP-8: Ένα Νέο Διαγνωστικό Εργαλείο για την Περιεμφυτευματίτιδα

Διερεύνηση της σχέσης γενετικών πολυμορφισμών και βιοδεικτών στη διάγνωση και πρόγνωση της περιεμφυτευματίτιδας

Ιωάννης Φραγκιουδάκης<sup>1</sup>  
Γεώργιος Κωνσταντόπουλος<sup>2</sup>  
Χριστίνα Κοτταρίδη<sup>3</sup>  
Λεωνίδα Μπάτας<sup>4</sup>  
Δήμητρα Σακελλαρή<sup>5</sup>

<sup>1</sup>DDS, MSc, PhD Τμήμα Περιοδοντολογίας και Βιολογίας Εμφυτευμάτων, Σχολή Οδοντιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
Email: ifragkio@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-2156-0686

<sup>2</sup>PhD, Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Σχολή Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
Email: konstanto@bio.auth.gr

<sup>3</sup>PhD, Εργαστήριο Γενικής Μικροβιολογίας, Τμήμα Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Σχολή Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
Email: ckottaridi@bio.auth.gr

<sup>4</sup>DDS, MSc Τμήμα Περιοδοντολογίας και Βιολογίας Εμφυτευμάτων, Σχολή Οδοντιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
Email: lbatas76@gmail.com

<sup>5</sup>DDS, MSc, PhD Τμήμα Περιοδοντολογίας και Βιολογίας Εμφυτευμάτων, Σχολή Οδοντιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα  
Email: dimisak@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-4365-8406

## Περίληψη

Η παρούσα μελέτη διερευνά τη συσχέτιση του πολυμορφισμού -799C/T του γονιδίου της MMP-8 με την περιεμφυτευματίτιδα, καθώς και τη διαγνωστική αξία της ενεργής MMP-8 (aMMP-8) ως βιοδείκτη. Συλλέχθηκαν δείγματα περιεμφυτευματικού υγρού (PISF) και σάλιου από ασθενείς με και χωρίς περιεμφυτευματίτιδα. Η γενετική ανάλυση ανέδειξε αυξημένο κίνδυνο νόσου στους φορείς του αλληλόμορφου T (OR: 3.04,  $p = 0.010$ ), ενώ τα επίπεδα της aMMP-8 ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με περιεμφυτευματίτιδα ( $53.39 \pm 49.70$  ng/mL) σε σύγκριση με τους υγιείς ( $22.03 \pm 32.87$  ng/mL,  $p < 0.001$ ). Το τεστ *Implantsafe*® παρουσίασε ευαισθησία 81.25% και ειδικότητα 74.07% στη διάγνωση. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η μέτρηση της aMMP-8 σε συνδυασμό με τη γενετική ανάλυση μπορεί να συμβάλει στην πρόληψη, έγκαιρη διάγνωση και εξατομικευμένη διαχείριση της περιεμφυτευματίτιδας.

**Λέξεις-κλειδιά:** περιεμφυτευματίτιδα, MMP-8, πολυμορφισμός -799C/T, βιοδείκτης, ενεργή MMP-8, διάγνωση

## Abstract

This study investigates the association of the -799C/T polymorphism of the MMP-8 gene with peri-implantitis, as well as the diagnostic value of active MMP-8 (aMMP-8) as a biomarker. Peri-implant sulcular fluid (PISF) and saliva samples were collected from patients with and without peri-implantitis. Genetic analysis revealed an increased risk of the disease in carriers of the T allele (OR: 3.04,  $p = 0.010$ ), while aMMP-8 levels were significantly higher in patients with peri-implantitis ( $53.39 \pm 49.70$  ng/mL) compared to healthy individuals ( $22.03 \pm 32.87$  ng/mL,  $p < 0.001$ ). The *Implantsafe*® test demonstrated a sensitivity of 81.25% and specificity of 74.07% in diagnosis. These findings suggest that measuring aMMP-8 levels in combination with genetic analysis can aid in the prevention, early diagnosis, and personalized management of peri-implantitis.

**Key-words:** peri-implantitis, MMP-8, -799C/T polymorphism, biomarker, active MMP-8, diagnosis



## Εισαγωγή

Η περιεμφυτευματίτιδα αποτελεί μια πολυπαραγοντική φλεγμονώδη νόσο που οδηγεί σε προοδευτική απώλεια οστού γύρω από εμφυτεύματα. Παρόλο που η μικροβιακή αποίκιση αποτελεί βασικό παράγοντα για την εμφάνιση της νόσου, οι παράγοντες που σχετίζονται με τον ξενιστή, όπως η γενετική προδιάθεση και η δραστηριότητα βιοδεικτών, παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη της (Schwarz et al., 2018).

Η μεταλλοπρωτεϊνάση της θεμέλιας ουσίας-8 (matrix metalloproteinase-8, MMP-8), γνωστή και ως κολλαγενάση των ουδετερόφιλων, είναι ένα ένζυμο-κλειδί που συμμετέχει στην αναδόμηση των ιστών και στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Το ένζυμο αυτό διασπά τον τύπο I κολλαγόνου, ένα σημαντικό συστατικό των περιεμφυτευματικών ιστών, καθιστώντας το βασικό παράγοντα στην παθογένεια της περιεμφυτευματίτιδας (Arakawa et al., 2012). Αυξημένα επίπεδα της ενεργής μορφής της MMP-8 (active MMP-8, aMMP-8) στο περιεμφυτευματικό υγρό (PISF) έχουν συσχετιστεί με ενεργή περιεμφυτευματίτιδα. Η aMMP-8 έχει καθιερωθεί ως αξιόπιστος βιοδείκτης για την παρακολούθηση της νόσου, με δοκιμές άμεσης ανίχνευσης (PoC) να παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα στη διάγνωση και την έγκαιρη ανίχνευση της περιεμφυτευματικής νόσου (Lähteenmäki et al., 2022; Sorsa et al., 2017).

Σε γενετικό επίπεδο, οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο της MMP-8, ιδιαίτερα ο πολυμορφισμός -799C/T, έχουν συνδεθεί με αυξημένη ευαισθησία σε φλεγμονώδεις βλάβες ιστών (Chou et al., 2011). Έρευνες δείχνουν ότι τα άτομα που φέρουν το αλληλόμορφο T αυτού του πολυμορφισμού έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης περιοδοντίτιδας, λόγω αυξημένης έκφρασης της MMP-8 (Emingil et al., 2014). Η συνδυαστική μελέτη γενετικών και κλινικών δεδομένων υπογραμμίζει τη σημασία της αξιολόγησης τόσο της γενετικής προδιάθεσης όσο και της δραστηριότητας των βιοδεικτών για μια ολοκληρωμένη κατανόηση του κινδύνου και της εξέλιξης της νόσου.

Η ενσωμάτωση της γενετικής ανάλυσης και των διαγνωστικών με βάση τους βιοδείκτες προσφέρει μια εξατομικευμένη προσέγγιση στη φροντίδα των εμφυτευμάτων, επιτρέποντας στοχευμένη πρόληψη και έγκαιρες παρεμβάσεις.

## Μέθοδος

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε κλινική αξιολόγηση και συλλογή δειγμάτων από τους συμμετέχοντες. Περιεμφυτευματικό υγρό (PISF) συλλέχθηκε με χάρτινες ταινίες που εισήχθησαν υποουλικά (1-2 mm) για 30 δευτερόλεπτα, αφού αφαιρέθηκε η προσθετική αποκατάσταση και καθαρίστηκε η περιοχή. Τα δείγματα που επιμολύνθηκαν απορρίφθηκαν, ενώ τα υπόλοιπα αποθηκεύτηκαν στους -80°C για ανάλυση. Παράλληλα, λήφθηκαν δείγματα σάλιου για την απομόνωση DNA.

Η γενετική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με εξαγωγή DNA από τα δείγματα σάλιου και ανίχνευση των πολυμορφισμών -799C/T, -381A/G και +17C/G του γονιδίου MMP-8 μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και αλληλούχισης Sanger. Τα προϊόντα PCR αξιολογήθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αгарόζης και αναλύθηκαν μέσω του λογισμικού SnapGene® για την επαλήθευση της παρουσίας των πολυμορφισμών.

Η μέτρηση της ενεργής MMP-8 στο PISF έγινε με το διαγνωστικό τεστ Implantsafe® και τον ψηφιακό αναλυτή ORALyzer®. Η συγκέντρωση της aMMP-8 εκφράστηκε σε ng/mL και συσχετίστηκε με τις κλινικές παραμέτρους αιμορραγίας κατά την ανίχνευση (BOP), βάθους θυλάκου (PD) και επιπέδου πρόσφυσης (CAL), οι οποίες μετρήθηκαν σε έξι σημεία ανά εμφύτευμα.



## Αποτελέσματα

### Γενετική Ανάλυση του Πολυμορφισμού MMP-8 -799C/T

Η μελέτη της συσχέτισης του πολυμορφισμού -799C/T του γονιδίου MMP-8 με την περιεμφυτευματίτιδα αποκάλυψε σημαντική αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης της νόσου σε φορείς του αλληλόμορφου T (OR: 3.04,  $p = 0.010$ ). Οι συμμετέχοντες με τον γονότυπο TT ή C/T παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά διάγνωσης της νόσου σε σύγκριση με τον γονότυπο CC.

**Πίνακας 1.** Κατανομή γονότυπων του πολυμορφισμού -799C/T του γονιδίου MMP-8 σε ασθενείς με περιεμφυτευματίτιδα και σε υγιείς

Γονότυπος	Συχνότητα	Περιεμφυτευματίτιδα (n/%)	Υγιείς (n/%)
CC	42	14 (33.3%)	28 (66.7%)
C/T	28	16 (57.1%)	12 (42.9%)
TT	25	16 (64.0%)	9 (36.0%)

Οι τιμές των κλινικών παραμέτρων (PD, CAL και BOP) ήταν υψηλότερες στους φορείς του αλληλόμορφου T, αλλά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους γονότυπους.

### Αξιολόγηση Ενεργής MMP-8 ως Βιοδείκτη

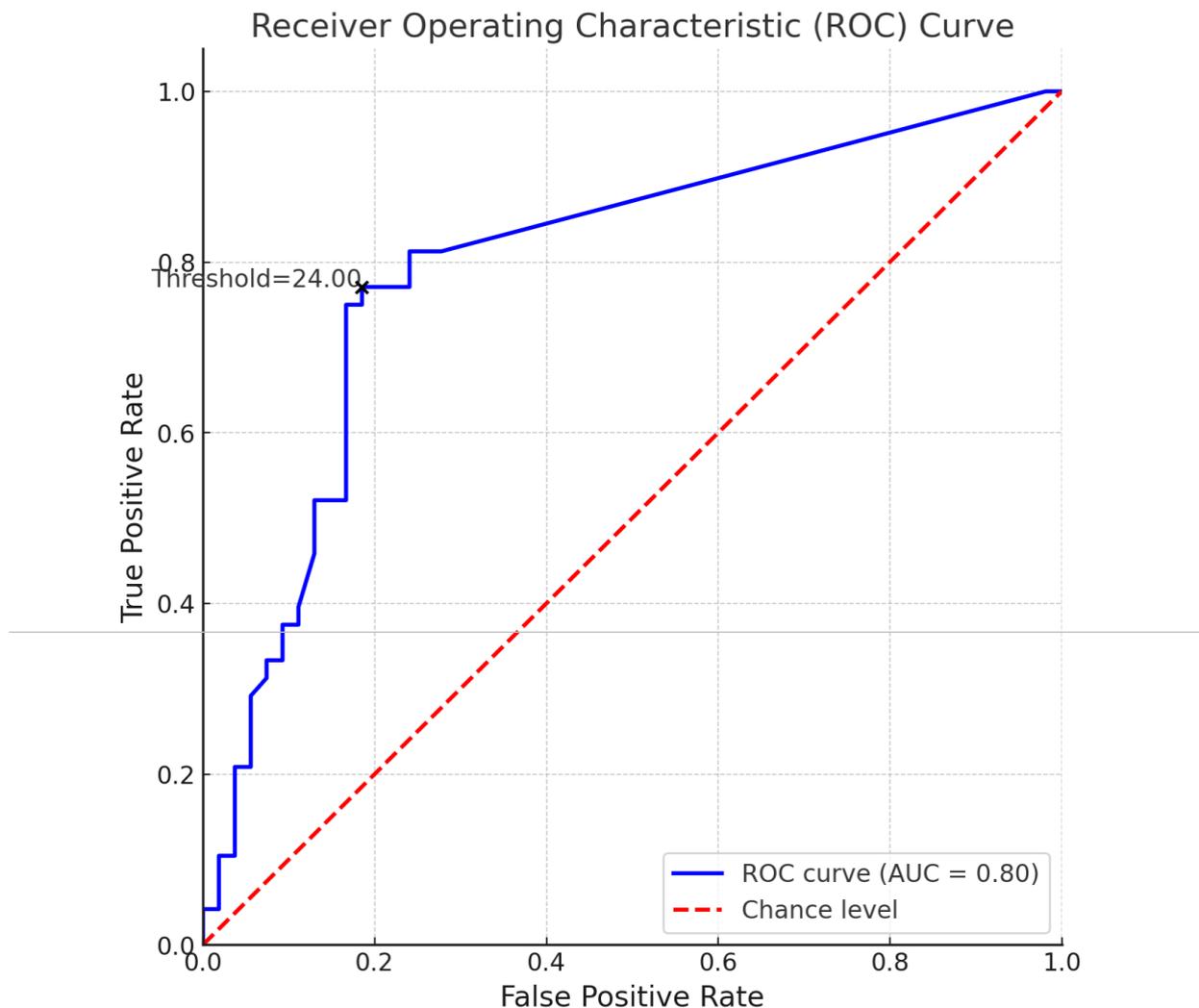
Η μελέτη των επιπέδων της ενεργής MMP-8 (aMMP-8) έδειξε ότι τα επίπεδα στο περιεμφυτευματικό υγρό (PISF) ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με περιεμφυτευματίτιδα ( $53.39 \pm 49.70$  ng/mL) σε σχέση με υγιείς ( $22.03 \pm 32.87$  ng/mL). Οι κλινικές παράμετροι αιμορραγίας κατά την ανίχνευση (BOP), βάθους θυλάκου (PD) και επιπέδου πρόσφυσης (CAL) παρουσίασαν επίσης σημαντικές διαφορές.

**Πίνακας 2.** Σύγκριση των κλινικών παραμέτρων και των επιπέδων της ενεργής MMP-8 (aMMP-8) στο περιεμφυτευματικό υγρό (PISF) μεταξύ ασθενών με περιεμφυτευματίτιδα και υγιών ατόμων. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπική απόκλιση (SD).

Παράμετρος	Υγιείς (Mean $\pm$ SD)	Περιεμφυτευματίτιδα (Mean $\pm$ SD)	p-value
Αιμορραγία (BOP, %)	18.79 $\pm$ 24.17	57.58 $\pm$ 31.73	<0.001
Βάθος θυλάκου (PD, mm)	2.94 $\pm$ 0.78	4.59 $\pm$ 1.22	<0.001
Επίπεδο πρόσφυσης (CAL)	3.05 $\pm$ 0.81	5.21 $\pm$ 1.72	<0.001
Ενεργή MMP-8 (ng/mL)	22.03 $\pm$ 32.87	53.39 $\pm$ 49.70	<0.001



Η διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα του τεστ ενεργής MMP-8 (Implantsafe®) ήταν 81.25% και 74.07% αντίστοιχα, με το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (Area Under the Curve, AUC) να είναι 0.796, δείχνοντας καλή συνολική ακρίβεια της διάγνωσης. Η βέλτιστη ευαισθησία και ειδικότητα επιτεύχθηκε με κατώφλι στα 24 ng/mL, όπου η ευαισθησία ήταν 77.08% και η ειδικότητα 81.48%.



**Εικόνα 1:** Area Under the Curve (AUC): Το AUC (εμβαδόν κάτω από την καμπύλη) ήταν 0.796, δείχνοντας καλή διαγνωστική ακρίβεια του τεστ Implantsafe® για την ανίχνευση της περιεμφυτευματίτιδας.



## Συζήτηση

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης επιβεβαιώνουν ότι ο πολυμορφισμός -799C/T του γονιδίου MMP-8 σχετίζεται σημαντικά με την ανάπτυξη της περιεμφυτευματίτιδας, καθώς οι φορείς του αλληλόμορφου T παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου.

Αυτό συμφωνεί με παλαιότερες μελέτες που έχουν δείξει ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα έκφρασης του ενζύμου MMP-8 και αυξημένη φλεγμονώδη αντίδραση στους ιστούς, όπως παρατηρήθηκε στην περιοδοντίτιδα (Chou et al., 2011; Emingil et al., 2014). Η συσχέτιση αυτή ενισχύει την αντίληψη ότι η MMP-8 παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αποδόμησης του κολλαγόνου και της εξέλιξης φλεγμονωδών παθήσεων των ιστών που περιβάλλουν τα οδοντικά εμφυτεύματα.

Αντίστοιχα, η ενεργή MMP-8 (aMMP-8) αναδείχθηκε ως ένας ισχυρός διαγνωστικός βιοδείκτης, καθώς τα επίπεδά της ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με περιεμφυτευματίτιδα σε σχέση με τους υγιείς. Η υψηλή ευαισθησία (81.25%) και η ειδικότητα (74.07%) της δοκιμής *Implantsafe*<sup>®</sup> υποστηρίζουν τη χρήση της για την έγκαιρη διάγνωση και παρακολούθηση της νόσου, όπως έχει παρατηρηθεί και σε άλλες μελέτες (Lähteenmäki et al., 2022; Sorsa et al., 2017). Επιπλέον, η καμπύλη ROC με AUC 0.796 επιβεβαιώνει την καλή συνολική διαγνωστική ακρίβεια του τεστ.

Ωστόσο, οι διαφορές στις μεθόδους συλλογής δειγμάτων και στις πληθυσμιακές ομάδες ενδέχεται να επηρεάσουν τα επίπεδα της MMP-8 και την απόδοση των διαγνωστικών εργαλείων. Ορισμένες μελέτες έχουν αναφέρει ελαφρώς διαφορετικά επίπεδα ευαισθησίας και ειδικότητας, γεγονός που υπογραμμίζει την ανάγκη για τυποποίηση των πρωτοκόλλων μέτρησης (Räsänen et al., 2019). Μελλοντικές έρευνες με μεγαλύτερα και πολυπολιτισμικά δείγματα είναι απαραίτητες για την επιβεβαίωση αυτών των ευρημάτων και τη βελτίωση της κλινικής τους εφαρμογής.

Η παρούσα μελέτη προσφέρει σημαντικές προοπτικές για την κλινική και μελλοντική διαχείριση της περιεμφυτευματίτιδας, τόσο μέσω της ανάλυσης πολυμορφισμών του γονιδίου MMP-8 όσο και μέσω της μέτρησης της

ενεργής MMP-8 (aMMP-8) ως βιοδείκτη. Κλινικά, η ενεργή MMP-8 αποτελεί έναν ευαίσθητο και ειδικό βιοδείκτη για την έγκαιρη ανίχνευση της περιεμφυτευματίτιδας, επιτρέποντας την ανίχνευση της νόσου σε πρώιμα στάδια. Η εφαρμογή του *Implantsafe*<sup>®</sup> τεστ σε συνδυασμό με κλινικές παραμέτρους, όπως το βάθος θυλάκου (PD) και η αιμορραγία κατά τη διάνοιξη (BOP), μπορεί να προσφέρει άμεσες πληροφορίες για την παρουσία φλεγμονής. Αυτό δίνει τη δυνατότητα στους κλινικούς να παρέμβουν νωρίς με στοχευμένες θεραπείες, προλαμβάνοντας την περαιτέρω απώλεια οστού και την αποτυχία των εμφυτευμάτων.

Παράλληλα, η γενετική ανάλυση του πολυμορφισμού -799C/T παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για την πρόβλεψη του κινδύνου εμφάνισης περιεμφυτευματίτιδας. Οι φορείς του αλληλόμορφου T ενδέχεται να έχουν αυξημένη προδιάθεση για την ανάπτυξη φλεγμονής και απώλειας οστού γύρω από τα εμφυτεύματα. Αυτό υποδεικνύει την ανάγκη για πιο εξατομικευμένες προσεγγίσεις στη φροντίδα των ασθενών, με συχνότερους ελέγχους και ενισχυμένα πρωτόκολλα συντήρησης. Ο συνδυασμός γενετικού ελέγχου και ανάλυσης βιοδεικτών μπορεί να συμβάλει στη διαμόρφωση προσωποποιημένων θεραπευτικών στρατηγικών που θα ενισχύουν την πρόγνωση των εμφυτευμάτων.

Μελλοντικά, η έρευνα μπορεί να επικεντρωθεί στην ανάπτυξη και βελτίωση μη επεμβατικών διαγνωστικών εργαλείων, όπως τα τεστ PoC (point-of-care), που θα είναι ευκολότερα διαθέσιμα σε οδοντιατρικές κλινικές. Τα επίπεδα της aMMP-8 θα μπορούσαν να παρακολουθούνται τακτικά για την αξιολόγηση της θεραπευτικής πορείας και την προσαρμογή των θεραπευτικών παρεμβάσεων ανάλογα με την εξέλιξη της φλεγμονής. Επιπλέον, η καθιέρωση προληπτικών γενετικών ελέγχων μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό ατόμων υψηλού κινδύνου πριν από την τοποθέτηση εμφυτευμάτων, επιτρέποντας την εφαρμογή εξατομικευμένων στρατηγικών πρόληψης και συντήρησης.

Συνολικά, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης ενισχύουν τις δυνατότητες για αποτελεσματική πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία της περιεμφυτευματίτιδας, προάγοντας μια ολοκληρωμένη και προσωποποιημένη προσέγγιση στη φροντίδα των ασθενών με οδοντικά εμφυτεύματα.

## Βιβλιογραφία - References

Chou, Y. H., Ho, Y. P., Lin, Y. C., Hu, K. F., Yang, Y. H., Ho, K. Y., et al. (2011). MMP-8 -799 C>T genetic polymorphism is associated with the susceptibility to chronic and aggressive periodontitis in Taiwanese. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(12), 1078–1084. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01781.x>

Emingil, G., Han, B., Gürkan, A., Berdeli, A., Tervahartiala, T., Salo, T., et al. (2014). Matrix Metalloproteinase (MMP)-8 and Tissue Inhibitor of MMP-1 (TIMP-1) Gene Polymorphisms in Generalized Aggressive Periodontitis: Gingival Crevicular Fluid MMP-8 and TIMP-1 Levels and Outcome of Periodontal Therapy. *Journal of Periodontology*, 85(8), 1070–1080. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.130661>

Lähteenmäki, H., Tervahartiala, T., Räisänen, I. T., Pärnänen, P., Mauramo, M., Gupta, S., et al. (2022). Active MMP-8 point-of-care (PoC)/chairside enzyme-test as an adjunctive tool for early and real-time diagnosis of peri-implantitis. *Clinical and Experimental Dental Research*, 8(2), 485–496. <https://doi.org/10.1002/cre2.537>

Sorsa, T., Gieselmann, D. R., Arweiler, N. B., & Hernández, M. (2017). A quantitative point-of-care test for periodontal and dental peri-implant diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.69>

Schwarz, F., Derks, J., Monje, A., & Wang, H. L. (2018). Peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(Suppl 20), S246–S266. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12954>

## Δεοντολογικές Αρχές και Ηθική

### 1. Συγγραφική Πατρότητα

Ο αντεπιστέλλων συγγραφέας εξασφάλισε τη συγκατάθεση συγγραφικής πατρότητας από όλους τους αναφερόμενους συγγραφείς πριν την υποβολή του χειρόγραφου. Οι συγγραφείς πληρούν τα κριτήρια που θέτει η Διεθνής Επιτροπή Εκδοτών Ιατρικών Περιοδικών Εντύπων (International Committee of Medical Journal Editors, [www.icmje.org](http://www.icmje.org)), τα οποία περιλαμβάνουν:

- Σημαντική ανάμιξη στον σχεδιασμό, την οργάνωση και την πραγματοποίηση της μελέτης.
- Κριτική ανάλυση της βιβλιογραφίας ή των δεδομένων.
- Συγγραφή ή αναθεώρηση του κειμένου.

Λιγότερο σημαντικές συνεισφορές αναφέρονται στην ενότητα των Δηλώσεων/Ευχαριστιών.

### 2. Πηγές Χρηματοδότησης και Αντιθέσεις Συμφερόντων

Οι συγγραφείς δήλωσαν ότι δεν υπάρχουν πηγές χρηματοδότησης ή αντιθέσεις συμφερόντων. Κάθε πιθανή σχέση με εταιρείες ή οργανισμούς που συνδέονται με το περιεχόμενο του χειρόγραφου αναφέρθηκε ρητά στην ενότητα των Δηλώσεων/Ευχαριστιών.

### 3. Εργασίες που Αφορούν Ανθρώπους ή Πειραματόζωα

#### 3.1 Έρευνες σε Ανθρώπους

Η έρευνα πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τους δεοντολογικούς κανόνες της Διακήρυξης του Ελσίνκι και έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας της Σχολής Οδοντιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (αριθμός έγκρισης: 115/25-05-21). Όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν γραπτή συγκατάθεση.

#### 3.2 Έρευνες σε Πειραματόζωα

Η μελέτη δεν περιελάμβανε πειραματόζωα.