

<https://helda.helsinki.fi>

aMMP-8-entsyymitesti ja implanttihampaat

Lähteenmäki, Hanna

2021

Lähteenmäki , H , Räisänen , I T , Pärnänen , P , Tervahartiala , T & Sorsa , T 2021 , ' aMMP-8-entsyymitesti ja implanttihampaat ' , Suomen hammaslääkärilehti , Vuosikerta. 28 , Nro 11 , Sivut 32-39 . <

https://www.lehtiluukku.fi/lehti/hammaslaakarilehti/_read/11-2021/295488.html >

<http://hdl.handle.net/10138/352476>

acceptedVersion

Downloaded from Helda, University of Helsinki institutional repository.

This is an electronic reprint of the original article.

This reprint may differ from the original in pagination and typographic detail.

Please cite the original version.

Aktiivinen MMP-8 -entsyymitesti peri-implantiitin varhaisen diagnosoinnin työkaluna

aMMP-8 -entsyymitesti ja implanttihampaat

Kirjoittajat

Hanna Lähteenmäki, SHG (YAMK), kliininen asiantuntija

Suu- ja leukasairauksien yksikkö, Helsingin Yliopisto

Hammasklinikka Kruunu, Tampere

Ismo T. Räisänen, DI, HLK

Suu- ja leukasairauksien yksikkö, Helsingin Yliopisto

Pirjo Pärnänen, FT, HLT, Post-doc tutkija

Suu- ja leukasairauksien yksikkö, Helsingin Yliopisto/ HUS

Taina Tervahartiala, HLT, dosentti, post-doc tutkija

Suu- ja leukasairauksien yksikkö, Helsingin Yliopisto/ HUS

Timo Sorsa, professori, ylihammaslääkäri, parodontologia

Suu- ja leukasairauksien yksikkö, Helsingin Yliopisto/ HUS

Department of Dental Medicine, Karolinska Institutet (SWE)

Kirjoitus on saanut taloudellista tukea Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin (HUS)

tutkimusmäärärahoilla: TYH2016251, TYH2017251, TYH2018229, TYH2019319,

Y1014SL017, Y1014SL018, Y1014SULE1, Suomen hammaslääkäriseura Apollonia sekä

Karolinska Institutet, Stockholm, SWE.

Prof Timo Sorsalla keksijänä on US-patentit 5652223, 5736341, 5866432, 6143476, 20170023571A1 (myönnetty 6.6.2019), WO 2018/060553 A1 (myönnetty 31.5.2018), 10 488 415 B2, Japanin patentti 2016 - 554676. FT, HLT Pirjo Pärnäsellä on patentti EP 2585087B1, Minervasäätiön Selma ja Maja-Lisa Selanderin apuraha. 2017, Suomen Hammaslääkäriseuran väitöskirja-apuraha, Biotieteellinen tiedekunta, väitöskirjan loppuunsaattamisapuraha. DI, HLK Ismo T. Räisänen on saanut apurahan seuraavilta säätiöiltä: Yrjö Jahnssonin Säätiö sr, Paulon Säätiö sr, Emil Aaltosen Säätiö sr, Juhani Ahon Lääketieteen Tutkimussäätiö sr, Orionin Tutkimussäätiö sr, Suomen Hammaslääkäriseura Apollonia and Helsingin Seudun Hammaslääkärit r.y. Muilla kirjoittajilla ei ole sidonnaisuuksia.

Tutkimuksella ovat eettiset luvat: dnro HUS/1271/2019 sekä Regionala etikprövningsnämnden i Stockholm, (EPN) 2016/1:8

Aktiivinen MMP-8 -entsyymitestillä peri-implantiitin varhaisen diagnosoinnin työkaluna

Tiivistelmä

Lähtökohdat

aMMP-8 Point-of-Care/ tuolinvierustestillä voidaan arvioida hammasimplantin kiinnityskudoksen terveydentilaa. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää aMMP-8-entsyymitestin käytettävyys hammasimplanttien terveydentilan pika-diagnosoinnin ja riskiarvioinnin työkaluna.

Menetelmät

Tutkimukseen valittiin satunnaisesti 44 yksityisen klinikan implanttipotilasta 26 naista ja 18 miestä iältään 44–97 vuotta. He saapuivat hammaslääkärin läheteellä parodontologiseen ylläpitohoitoon suuhygienistille. Potilailla oli yksi tai useampi implantti, joista satunnaisesti valittiin yksi implantti, jonka bukkaaliseen ientaskuun tehtiin aMMP-8 -entsyymitesti (ImplantSafe®/ORALyzer®). Samalla potilailta rekisteröitiin uuden tautiluokituksen mukaisesti, ienverenvuoto mitattaessa (BOP), ientaskun syvyys (PPD) ja otettiin periapikaalinen röntgenkuva (RBL).

Tulokset

aMMP-8 -entsyymitestituloksen ja kliinisen tautiluokittelun välillä oli tilastollisesti merkitsevä yhteys ($p = 0.005$). Röntgenlöydösten, BOP:n ja ientaskujen syvyys ($\geq 3\text{mm}$) olivat merkitsevästi yleisempiä mitä selkeämpi positiivinen aMMP-8 -entsyymitestituloks oli ($p = 0.014$, $p = 0.002$, $p = 0.014$). aMMP-8-entsyymitestillä oli hyvä terveen ja peri-implantiitin luokittelukyky: ImplantSafe®:n AUC = 0.841, sensitiivisyys = 0.714 ja spesifisyys = 0.889 ja ORALyzer®:n AUC = 0.831, sensitiivisyys = 0.786 ja spesifisyys = 0.889.

Johtopäätökset

aMMP-8 -entsyymitestitulokset oli merkittävästi yhteydessä implanttipotilaille tehtyjen perinteisten mittaustuloksien esiintyvyyteen ja taudin vakavuuteen. aMMP-8-entsyymitesti mittaama aktiivisen kollageenin hajoamisen voimakkuus implantin ympäriltä näyttäisi tarjoavan uuden hyödyllisen diagnostisen työkalun lisättäväksi perinteisten kliinisten menetelmien joukkoon peri-implantiitin kehittymisen ja etenemisen riskin ja ylläpitohoitojen onnistumisen arviointiin.

aMMP-8 -enzyme test as a tool for early diagnosis of peri-implantitis

Background

The aim of this study was to investigate the usefulness of the aMMP-8 -enzyme test as a tool for diagnosing peri-implantitis and assessing its risk.

Methods

Twenty-six female and eighteen male dental implant patients of a private clinic, aged 44–97, were recruited to the study. They were referred to a periodontal maintenance treatment by a dentist. An oral examination was conducted; peri-implant pocket depths (PPD) and bleeding on probing (BOP) were measured and a periapical X-ray of the implant was taken. An active MMP-8 (aMMP-8) peri-implant sulcus fluid (PISF) immunotest was measured by ImplantSafe® aMMP-8 point-of-care/chair-side technology quantitatively (ORALyzer®). The test was compared with the traditional clinical measurement techniques, i.e., pocket depth, bleeding on probing, and X-ray findings in detection of peri-implant mucositis/ pre-peri-implantitis/ peri-implantitis in adults.

Results

There was a statistically significant association between the aMMP-8 -enzyme test and clinical examination and diagnosis ($p = 0.005$). X-ray findings, BOP and peri-implant pockets

depths ($\geq 3\text{mm}$) were significantly more prevalent among test positive dental implants ($p=0.014$, $p=0.002$, $p=0.014$, respectively). The aMMP-8 -enzyme test had a good discrimination ability to classify healthy and peri-implantitis patients (ImplantSafe® AUC = 0.841 and ORALyzer® AUC = 0.831).

Conclusions

The aMMP-8 -enzyme tests was significantly associated with the prevalence of clinical findings. The test can be used for detecting and alarming of the active collagenolysis in peri-implant tissues. This makes aMMP-8 -enzyme test a beneficial adjunctive diagnostic tool for early identification of the risk of peri-implant diseases and their progression, as well as, monitoring the maintenance treatments and their success and failure.

1. Lähtökohdat

Hammasimplanttien yleistyminen on tuonut suun terveydentilan tutkimiseen ja diagnosointiin uudenlaisia haasteita. Implanttien erilaiset muodot, materiaalit sekä erilainen kiinnityskudoksen rakenne luonnonhampaisiin verrattuna vaativat tarkkuutta suun terveyden ja implantin terveydentilan diagnosointiin, hoitoon ja seurantaan. Perinteisesti käytetyt kliiniset menetelmät hampaan ja hammasimplantin terveydentilan tutkimiseen ovat ientaskujen syvyyden mittaaminen, ienverenvuodon (BOP) ja plakin määrän arviointi (VPI) ja röntgenkuvien käyttäminen (1–3). Niiden hyvä puoli on se, että ne ovat olleet kaikkien suun terveydenhoidon ammattilaisten yleisesti käyttämiä jo vuosikymmenien ajan ja niiden tulkinta on helppoa. Kuitenkin plakin määrän tai verenvuodon arvioimiseen vaikuttaa jokaisen yksilön subjektiivinen kokemus ja näkemys asioista, jolloin tuloksen tai diagnoosin luotettavuus saattaa vaihdella.

1.1 Inflammatoriset sairaudet hampaiden ja implanttien ympärillä

Peri-implanttikumosiitti ja peri-implantiitti ovat infektion indusoimia, inflammatorisia sairauksia implantin ympärillä (1–3). Infektioon johtavia tekijöitä ovat usein pääosin anaerobiset bakteerit, jotka kerääntyvät ientaskuihin. Infektion aiheuttamat palautumattomat muutokset tukikudoksissa johtuvat isännän vasteesta läsnä oleviin patogeeneihin (1,4,5). Isännän solut tuottavat ja vapauttavat tulehdusalueella paikallisesti proinflammatorisia ja proteolyttisiä välittäjäaineita sekä reaktiivisia happituotteita, joiden seurauksena leukosyyttejä ja makrofageja kerääntyy paikalle voimistamaan peri-implanttikudoksen inflammaatiota ja aiheuttamaan palautumatonta kudostuhoa. Useiden proinflammatoristen välittäjäaineiden ja viestien yhteisvaikutuksena parodontiumin ja peri-implanttikudoksen solut aktivoituvat ja erittävät tulehdusta edistäviä sytokiinejä, kysteiini-proteinaaseja ja matriksin metalloproteinaaseja (MMP). Näistä MMP-II:lla on keskeinen rooli parodontiumin ja

peri-implanttikudosten tuhoutumisessa (6). Implantin terveydentilaa määritellään kolmella eri tasolla, jotka ovat terve peri-implanttikudos, peri-implanttimukosiitti ja peri-implantiitti. Terve implanttikudos suojaa implanttia ilman tulehduksen merkkejä. Peri-implanttimukosiitissa tulehdustila ja alkava kollageenin katkeaminen on alkanut ja tunnusomaista on, että kudoksesta on punainen, verenvuotoa on mitattaessa, mutta alveoliharjanteen luutuhhoa ei ole vielä havaittavissa röntgenkuivissa (7). Peri-implantiitin tunnuspiirteisiin liittyy laaja kollageenisäikeiden katkeaminen, joka näkyy implanttitaskun verenvuotona, mahdollisena märkävuotona ja lisääntyneenä taskunsyvyyttenä >3mm ja implanttia ympäröivän luukudoksen resorptiota >2mm (8,9). Peri-implanttimukosiitti on mahdollista pysäyttää sen varhaisessa vaiheessa ja hoitaa terveeksi, mutta peri-implantiitin pysäyttäminen on usein hyvin haasteellista.

1.2 Matriksin metalloproteinaasi-8

Parodontaali- ja peri-implanttisidekudos koostuu pääsääntöisesti tyypin I kollageenista. MMP-8 on yksi MMP-perheeseen kuuluvista proteinaaseista, joiden tehtävänä on mm. kollageeni tyyppi I:n ja bioaktiivisten tulehdusvälittäjäaineiden hajottaminen ja aktivoiminen, haavan parantaminen ja kudosten uudelleen muokkaaminen (6,10,11). MMP-8 tunnetaan myös nimillä neutrofiilikollageenaasi ja kollageenaasi-2, joka vastaa pääosin aktiivisen parodontaali- ja peri-implanttikudosten tuhoutumisesta (6,10,11). Aktiivinen MMP-8 pystyy rikkomaan lähes kaikkia sidekudoksen soluväliaineen sekä tyvikalvon valkuaisaineiden rakenneosia ja aktivoimaan immunologisia bioaktiivisia tulehduksen välittäjäaineita sekä hajottamaan mm. insuliinireseptoreita (12).

Aikaisemmista tutkimuksista saadut tulokset puoltavat aktiivisen MMP-8-proteinaasin tarkastelemisen ja analysoinnin hyötyä, kun etsitään ja pyritään tunnistamaan mahdollista

alkavaa kiinnityskudostuhoa (6,10–16). Terveessä parodontiumissa ja peri-implanttikudoksessa aMMP-8 -konsentraatio on merkitsevästi matalampi verrattuna näiden kudosten vaikeampiasteisiin tulehdustiloihin. Nimenomaan aktiivisen MMP-8 (aMMP-8), ei sen kokonais- tai latenttimuodon konsentraatiolla (totaali-MMP-8 & latentti-/pro-MMP-8), voidaan erottaa terve kudos gingiviitistä, parodontiitista sekä peri-implanttimukosiitti pre-peri-implantiitista ja peri-implantiitista (10–28). aMMP-8 -entsyymi ja sen pitoisuuden patologinen kohoaminen voidaan tunnistaa ientasku-/peri-implanttitaskunesteestä ja suuhuuhteesta aMMP-8 -entsyymitestillä (10,16–28). aMMP-8-entsyymitestituloksen perusteella pystytään arvioimaan kudoksen nykyistä terveydentilaa ja käynnissä olevan kollageenin hajoamisen riskiä ja siten ennustamaan mahdollisesti tulevaa kiinnityskudoksen menetystä (10,15–28).

Tämän tutkimuksen hypoteesina on, että aMMP-8-Point-of-Care/-tuolinvierustestiä voidaan käyttää luotettavasti peri-implanttikudoksen terveydentilan analysoimiseen. Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää aMMP-8 -entsyymitestin käytettävyyttä peri-implantiitin diagnosoinnin ja riskiarvioinnin työkaluna ja hammasimplanttien terveyttä mittaavien perinteisten kliinisten menetelmien ja aMMP-8 -entsyymitestin (ImplantSafe®) välistä yhteyttä. Lisäksi tavoitteena on arvioida suositeltavia aMMP-8 -riskirajoja peri-implanttisairauden etenemisriskille.

2. Aineisto ja menetelmät

Tutkimukseen valittiin satunnaisesti 44 yksityisen klinikan potilasta (taulukko 1) Hammaslääkäri oli suorittanut diagnosoinnin ja implanttihoidon sekä lähetteen suuhygienistille ylläpitohoitoon. Potilaille määrätty ylläpitokäynnit vaihtelivat 6 kk ja 12 kk välillä. Tutkimuksen sisäänottokriteeriksi määriteltiin implanttien ylläpitohoito ja yksi tai useampi implantti suussa. Potilaiden implantit olivat Nobel Biocare® -implantteja

implanttirakenteiden vaihdellessa yksittäisistä kruunuista siltarakenteisiin. Potilaille tehtiin ImplantSafe® aMMP-8 -entsyymitesti hoitokäynnin yhteydessä ennen ylläpitohoidon aloittamista. Implantit valittiin täysin satunnaisesti ja testi otettiin implanttien bukkaalisesta implanttitaskusta. Samalla Hammasimplanttipotilaille tehdyssä tutkimuksessa rekisteröitiin ientaskun syvyys (PPD) (implanttitasku oli syventynyt, jos se oli $\geq 3\text{mm}$) ja BOP (kyllä/ei). ~~ja otettiin~~ implanttialueelta otettiin peri-apikaalinen röntgenkuva alveoliluutuhon arvioimiseksi sekä kliininen valokuva kyseisestä alueesta. Röntgenkuvat analysoitiin yhdessä hammaslääkäreiden kanssa analysoi klinikan hammaslääkäri. Peri-implantiitin luutuhon rajaksi asetettiin $\geq 2\text{mm}$ arvioidusta luutasosta. aMMP-8 -entsyymitesti tehtiin asettamalla testiliuska hammasimplantin ientaskuun 30 sekunnin ajaksi, jonka jälkeen se asetettiin näyteastiaan. Viiden minuutin jälkeen tuloksen analysointiin tarkoitettu näytetikku kastettiin näyteastiaan ja viiden minuutin odotuksen jälkeen tulos oli luettavissa. aMMP-8 -entsyymitestin tulokset eroteltiin negatiivisiin tuloksiin (-) ($\leq 20\text{ ng/ml}$) ja testiposiitivisiin (+,++) ($\geq 20\text{ ng/ml}$), joissa testitulokset lukuikkunassa näytti joko heikon sinisen viivan (heikko positiivinen, +) tai selkeän sinisen viivan (selkeä positiivinen, ++). Tuloksen analysoiminen tapahtui katsomalla lukuikkunaa ja käyttämällä kvantitatiivista lukijaa (ORALyzer®). Lisäksi aMMP-8 -entsyymitestin tulos dokumentoitiin valokuvalla testituloksen valmistuttua. Tämän kliinisen tutkimuksen ovat hyväksyneet HUS (dnro HUS/1271/2019) ja Regionala etikprövningsnämnden i Stockholm (EPN) (2016-08-24/2016/1:8 ja 24.1.2016). Osallistujat antoivat kirjallisen informoidun suostumuksen tähän tutkimukseen.

Aineiston analysointiin ja kuvaajien tekoon käytettiin Microsoft Excel-ohjelmaa, R tilastotieteen ohjelmistoa (versio 3.6.3) ja SPSS-tilasto-ohjelmaa (versio 25). Potilaat luokiteltiin kolmeen ryhmään löydettyjen peri-implanttisairauden kliinisten merkkien perusteella (n = 44). Terve hammasimplantti (n = 18) määriteltiin siten, että siitä puuttuivat

kaikki kolme kliinistä löydöstä (röntgenlöydös ≥ 2 mm, BOP ja ientaskut (≥ 3 mm)). Peri-implanttimukosiitissa (n = 12) havaittiin vähintään yksi näistä kolmesta kliinisestä löydöksestä muttei kaikkia. Peri-implantiitissa (n = 14) kaikki kliiniset löydökset olivat havaittavissa. Tutkimusaineiston perustietojen yhteyttä näihin kolmeen ryhmään analysoitiin Fisherin exact – (diskreetit muuttujat) ja t-testillä (jatkuva muuttuja ikä) (taulukko 1). Kliinisten mittausten eli röntgenlöydösten (≥ 2 mm), BOP:n ja ientaskujen (≥ 3 mm) yhteyttä aMMP-8 -entsyymitestituloksen kanssa tutkittiin ristiintaulukoinnilla yksitellen kliininen mittaus kerrallaan käyttämällä Fisherin Exact -testiä. Vertailtaessa kolmen eri hammasimplanttiryhmien (ORALyzer®) aMMP-8-konsentraatioita käytettiin yksisuuntaista varianssianalyysiä ja parittaisiin Post hoc -vertailuihin Bonferroni-testiä. ROC-käyräanalyysiä (receiver operating characteristic) ja AUC-arvoa (area under the ROC curve) käytettiin arvioimaan, kuinka hyvin aMMP-8 -entsyymitestit (ImplantSafe® ja ORALyzer®) erottelevat terveen hammasimplantin (n = 18) ja peri-implantiitin (n = 14) toisistaan. Youden indeksillä määriteltiin aMMP-8-entsyymitestien optimaalinen viiteraja testien sensitiivisyyden ja spesifisyyden laskemiseksi peri-implantiittiriskin tunnistamisessa. Tilastollisissa menetelmissä käytettiin kaksisuuntaista hypoteesin testausta ja p-arvo alle 0.05 katsottiin tilastollisesti merkitseväksi.

3. Tulokset

3.1. Tutkimusaineisto

Tutkimusaineiston perustiedot ovat taulukossa 1. Tutkimukseen osallistui yhteensä 26 naista ja 18 miestä iältään 44–97 vuotta (keskiarvo \pm keskihajonta = 70.5 \pm 10.6 vuotta). Potilaiden joukossa oli seuraavia yleissairauksia: sydänsairaudet (n = 18; 40.9 %), diabetes (n = 3; 6.8 %), astma (n = 4; 9.1 %) ja reuma (n = 6; 13.6 %). Tupakoitsijoita oli yhteensä 8 potilasta (18.2 %). 18 potilaalla oli terve hammasimplantti, 12:lla peri-implanttimukosiitti ja

14:lla peri-implantiitti. Potilaiden sukupuoli, ikä, yleissairaudet ja tupakointi eivät eronneet merkitsevästi näiden kolmen ryhmän välillä.

3.2. Kliinisten mittausten yhteys aMMP-8 -testitulokseen

Tutkimuksessa havaittiin 16 potilaan (36.4 %) hammasimplantissa röntgenlöydös, 24 implantissa (54.5 %) BOP ja 16 implantissa (36.4 %) ientaskuja (≥ 3 mm). Seitsemän potilaan (15.9 %) aMMP-8 -entsyymitestitulokseksi oli negatiivinen (–), 22 potilasta (50.0 %) saivat heikosti positiivisen aMMP-8 -entsyymitestituloksen (+) ja 15 potilasta (34.1 %) saivat selkeästi positiivisen aMMP-8 -entsyymitestituloksen (++). Näiden kolmen kliinisen löydöksen ja aMMP-8 -entsyymitestituloksen (–, + ja ++) välillä oli tilastollisesti merkitsevä positiivinen assosiaatio ($p = 0.014$, $p = 0.002$ ja $p = 0.014$) (kuvio 1A). Implanttipotilaat, joiden aMMP-8 -entsyymitestitulokseksi oli negatiivinen, olivat terveimpiä näiden perinteisten kliinisten mittausmenetelmien valossa (kuvio 1A). Heidän joukossaan röntgenlöydösten, BOP:n ja ientaskujen (≥ 3 mm) suhteellinen osuus oli pienin. Kyseisten löydösten osuus kasvoi heikon positiivisen testituloksen saaneilla implanttipotilailla verrattuna negatiivisen testituloksen saaneisiin. Selkeästi positiivisen testituloksen saaneilla peri-implanttisairauden tunnusmerkkien osuudet olivat kaikkein suurimmat (kuvio 1A).

3.3. Peri-implanttisairauden ja aMMP-8-testituloksen välinen yhteys

Kolmen hammasimplanttiryhmän (terve, peri-implanttikumosiitti ja peri-implantiitti) ja aMMP-8 -entsyymitestituloksen (negatiivinen, heikosti positiivinen ja selkeästi positiivinen) välillä oli tilastollisesti merkitsevä yhteys ($p = 0.005$). Selkeästi positiivinen aMMP-8-testitulokseksi oli yleisin peri-implantiittiryhmässä, kun taas negatiiviset testitulokset olivat yleisin terveiden joukossa ja puuttuivat peri-implantiittiryhmän implanteista (kuvio 1B). Myös vertailtaessa eri implanttiryhmien välisiä (ORALyzer®) aMMP-8-konsentraatioita ryhmien välillä oli

tilastollisesti merkitsevä ero ($p = 0.004$) (kuvio 2A). Parittaisissa vertailutesteissä erot terveiden ja peri-implantiittiryhmän ($p < 0.001$) ja peri-implanttimukosiitti- ja peri-implanttiryhmän välillä ($p = 0.012$) olivat tilastollisesti merkitseviä (kuvio 2A).

3.4. aMMP-8 -entsyymitestin tarkkuus peri-implantiitin havaitsemisessa

Peri-implantiittiryhmässä kaikki hammasimplantit saivat positiivisen aMMP-8-testituloksen eikä vääriä negatiivisia aMMP-8-entsyymitestituloksia tullut. ROC-analyysin perusteella aMMP-8 -entsyymitestillä oli hyvä luokittelukyky peri-implantiitin ja terveiden erottamisessa toisistaan (kuvio 3): ImplantSafe®:n AUC = 0.841 (95 % luottamusväli = 0.701–0.982, $p = 0.001$) ja ORALyzer®:n AUC = 0.831 (0.681–0.982, $p = 0.002$). ImplantSafe®:n sensitiivisyys oli 0.714 ja spesifisyys 0.889 ja optimaalinen viiteraja (Youden indeksi) oli selkeästi positiivinen (++) testitulos. ORALyzer®:n sensitiivisyys oli 0.786 ja spesifisyys 0.889 ja optimaalinen viiteraja (Youden indeksi) oli 59.9 ng/ml.

3.5. Peri-implantiitti ja kvalitatiivinen/kvantitatiivinen aMMP-8 -entsyymitestaus

Hyödyntämällä edellisiä tuloksia (kuvio 1, 2 ja 3) voidaan potilaat ryhmitellä peri-implantiitin etenemisriskin mukaisiin luokkiin (kuvio 2B). Kvantitatiivisella ja kvalitatiivisella aMMP-8-entsyymitestillä mitattuna aMMP-8-konsentraatiot olivat selkeästi suurimmat peri-implantiittiryhmässä (kuvio 1B ja kuvio 2A&B). Lisäksi kaikki peri-implantiittiryhmän hammasimplantit saivat positiivisen kvalitatiivisen (+ ja ++) ja kvantitatiivisen (≥ 20 ng/ml) aMMP-8-testituloksen (kuvio 1B ja kuvio 2A). Tällä perusteella hammasimplantit, joiden aMMP-8-konsentraatio oli alle 20 ng/ml, voidaan määritellä kuuluvan ei riskiä / matalan riskin ryhmään peri-implantiitin suhteen (kuvio 2B). Kohonneen ja korkean riskin ryhmien määrittelyssä hyödynnettiin sitä, että peri-implantiitin todennäköisyys lisääntyi aMMP-8-konsentraatioiden kasvaessa (kuvio 1B ja kuvio 2A&B). ROC-analyysissä käytetyn Youden

indeksin perusteella optimaalinen aMMP-8-konsentraation viiteraja peri-implantiitin suhteen oli selkeä positiivinen (++) ja 60 ng/ml. Siten kyseinen viiteraja (++) ja 60 ng/ml oli optimaalisin kohonneen ja korkean riskin hammasimplantin ryhmittelyyn. Tällä perusteella negatiivinen aMMP-8-entsyymitestin tulos (< 20 ng/ml) luokiteltiin "Ei riskiä/matala riski" -ryhmään, heikosti positiivinen testitulokset (+, ≥ 20 ng/ml) "Kohonnut riski" -ryhmään ja selkeästi positiivinen (++, ≥ 60 ng/ml) "Korkea riski" -ryhmään (kuviot 4A&B). aMMP-8 -entsyymitestin (ImplantSafe® ja ORALyzer®) negatiivisen ja positiivisen testituloksen raja on 20 ng/ml. (kuviot 4A&B).

3.6. Hammasimplantin ja aMMP-8 -entsyymitestausesimerkki

Kuviossa 4 nähdään esimerkkinä alaleuan implanttisilta, jonka kliininen näkymä oli siisti, mutta d.36 hammasimplantin aMMP-8 -entsyymitesti oli selkeästi positiivinen (++) . Röntgenkuvassa voidaan havaita edennyttä horisontaalista alveoliluutuhhoa (kuviot 4), minkä lisäksi hammasimplantin kliinisessä tutkimuksessa havaittiin syventynyt ientasku ja BOP.

4. Pohdinta ja johtopäätökset

Teknologia ja innovaatiot luovat uutta pohjaa nykyaikaiselle diagnosoinnille. Niiden yhdistäminen perinteisesti käytettyihin kliinisiin tutkimusmenetelmiin tarjoaa suun terveydenhoidon ammattilaiselle ja myös potilaalle mahdollisuuden saada uutta ja entistä tarkempaa lisätietoa suun ja hammasimplanttikudoksen terveydentilasta (17,19,23,26–29). aMMP-8 -entsyymitestien/-teknologioiden hyödyllisyys perustuu kudoksessa käynnissä olevan kollageenin hajoamisen (aktiivinen kollagenolyysi) riskin tunnistamiseen, mitä voidaan hyödyntää parodontaali- ja peri-implanttisairausten kohonneen etenemisriskin arvioimisessa. Kun alkava kollagenolyysi havaitaan ajoissa, pystytään hoito kohdentamaan myös näihin riskipotilaisiin sairautten etenemisen ennaltaehkäisemiseksi.

Tässä tutkimuksessa aMMP-8 -entsyymitestituloksen ja kliinisten mittausten/diagnoosin välillä oli selkeä yhteys. Peri-implanttikudoksen vauriot olivat merkitsevästi yleisemmät positiivisen aMMP-8-entsyymitestituloksen saaneilla potilailla (aktiivinen kollagenolyysi), kun taas negatiivisen testituloksen saaneet olivat terveimpiä. Tutkimusaineistossa aMMP-8-entsyymitestin ilmaisemat suuret aMMP-8-konsentraatiot olivat yhteydessä peri-implanttikudoksen vaurioiden ja peri-implantiitin esiintymiseen. Siten suuret aMMP-8-konsentraatiot näyttäisivät antavan syyn epäillä ongelmia hammasimplantissa ja tarvetta jatkotoimien järjestämiselle.

Viimeaikaisten tutkimusten perusteella aMMP-8 -entsyymitesti on luokitellut terveet ja sairaat hammasimplanttipotilaat tarkemmin kuin ienverenvuoto (26–28). Tässä tutkimuksessa aMMP-8 -entsyymitestillä oli hyvä erottelukyky tunnistamaan kolmen kliinisen mittauksen yhdistelmän (röntgenlöydökset, BOP ja ientaskut (≥ 3 mm)) ja niiden puuttumisen. Kaiken kaikkiaan negatiivisten aMMP-8 -entsyymitestitulosten (ei aktiivista kollagenolyysiä) osuus oli suhteellisen pieni. Näiden potilaiden peri-implanttikudos oli terve tai parantunut aiemmasta aktiivisesta peri-implanttisairaudesta (peri-implanttikumosiitti/pre-peri-implantiitti/peri-implantiitti). Toisaalta osalla positiivisen aMMP-8 -entsyymitestituloksen saaneilla puuttui osa tai kaikki kolme kliinistä löydöstä (röntgenlöydökset, BOP ja ientaskut ≥ 3 mm). Heillä aMMP-8 -entsyymitestituloksesta ilmaisee aktiivisen kollageenin hajoamisen peri-implanttikudoksessa ja suurentuneen riskin taudin etenemiselle, joka mahdollisesti on vielä pysäytettävissä. Aiemmin on havaittu, että peri-implantiitti etenee nopeammin kuin parodontiitti (5). Siten implanttihampaiden kiinnityskudosten terveyden ylläpitäminen näyttäisi vaativan enemmän hoitoa kuin luonnonhampaiden (30).

aMMP-8 -entsyymitestiä on mahdollista käyttää potilaiden tautiaktiivisuuden seuraamisen lisäksi arvioimaan hoidon onnistumista kuin myös epäonnistumista (17,26). Viimeaikainen tutkimus analysoi aMMP-8 -entsyymitestin käyttämistä osana Tonetti et al. (2018)

parodontiitin ja peri-implantiitin uudistettua luokittelujärjestelmää (3,18). Parodontiitin etenemisen riskirajaksi suositeltiin suuhuuhteen aMMP-8 -konsentraatiota 20 ng/ml ja taudin nopeammalle etenemiselle 30 ng/ml (18). Tutkimuksemme osoitti, että aMMP-8 näyttäisi toimivan samalla tavalla biomarkkerina hammasimplanttien uudessa tautiluokituksessa (2,9). Peri-implantiitin etenemisen riskirajaksi peri-implanttitaskunesteessä muodostuivat alle 20 ng/ml (ei riskiä/matala riski), 20 ng/ml (kohonnut riski) ja 60 ng/ml (korkea riski). Tämä tulos tukee ja laajentaa viimeaikaista case-control -tutkimusta, jossa visuaalinen aMMP-8-entsyymitestin (viiteraja 20 ng/ml) luokitteli terveet hammasimplantit ja peri-implantiitit täysin oikein (26). Jatkotutkimusten avulla voidaan edelleen validoida aMMP-8-entsyymitestin toimintaa tämän tutkimuksen ja aiempien tutkimuksien osalta.

Vertailtaessa eri tutkimuksien tuloksia keskenään olisi syytä kiinnittää huomiota myös siihen, kuinka peri-implanttisairaus on niissä määritelty. Kirjallisuudessa on havaittavissa pientä vaihtelua mm. peri-implantiitin kliinisen määritelmän suhteen (8,9). Pääasiassa se kuitenkin perustuu röntgenkuviin, implanttitaskun syvyyteen ja BOP:iin (8,9). Yleisimmin peri-implantiitin määrittelyssä on käytetty implanttia ympäröivän luukudoksen resorption raja-arvona vähintään 2 mm ja implanttitaskun syvyyden raja-arvona vähintään 3 mm (8). Myös suurempia raja-arvoja on suositeltu käytettäväksi luutuhon määrälle ja implanttitaskun syvyydelle (8,9,31). Tässä tutkimuksessa oli tarkoituksena luokitella terveet implantit mahdollisimman selkeästi terveiksi aMMP-8-riskirajojen (ei riskiä/matala, kohonnut ja korkea riski) laskentaa varten, minkä vuoksi käytettiin tiukempia mutta kirjallisuuden yleislinjan kanssa mahdollisimman yhdenmukaisia raja-arvoja (8,9,31). Tutkimuksemme voidaan todeta olevan vertailukelpoinen olemassa olevan kirjallisuuden kanssa samalla, kun implanttien terveiksi väärin luokittelemisen mahdollisuus pyrittiin minimoimaan (8,9,31).

Laadukkaan hammashoidon edellytyksenä on saada peri-implanttikudoksen ja parodontiumin tilasta ja tautiaktiivisuudesta nopeasti ja helposti mittausarvo, jonka luotettavuuteen voidaan perustaa parodontologinen hoito pelkäämättä ali- tai ylihoitoa. aMMP-8-entsyymitestit tekee alkavan kollageenin hajoamisen näkyväksi ja siten antaa parodontaali- ja peri-implanttisairauksien diagnostiikkaan ja hoidon suunnitteluun ja toteuttamiseen lisätietoa liittyen näiden kahden sairauden aktiivisuuteen perinteisten kliinisten menetelmien tueksi. Näiden sairauksien lisäksi kohonneella aMMP-8 -konsentraatiolla suunesteissä on havaittu olevan yhteys (esi)diabetekseen ja raskausdiabetekseen, jolloin aMMP-8 -entsyymitestillä voidaan tunnistaa myös diabetesriski hammaslääkärin vastaanotolla (32,33).

aMMP-8 -entsyymitestin toimintaperiaate on ei-invasiivinen eikä se siis aiheuta bakteremiaa kuten mm. BOP-mittaus. Tämä hyödyttää erityisesti niitä potilaita, jotka tarvitsevat profylaksiaa hammashoidossaan. aMMP-8 -entsyymitestien tekeminen on yksinkertaista, siihen menee aikaa alle kymmenen minuuttia ja se voidaan suorittaa kenen tahansa terveydenhoidon ammattilaisen toimesta mm. lääkärin vastaanotolla, hoitolaitoksissa ja vanhainkodeissa (34). Siten aMMP-8 -entsyymitesti voisi auttaa potilaiden suunterveyden ongelmien tunnistamista ja ohjaamista jatkohoitotarpeen määrittämistä varten (34). Näin teknologia ja innovaatiot voisivat parantaa terveydenhoidon ammattilaisten yhteistyötä suun ja yleisterveyden hoitamiseksi.

Taulukko- ja kuvatekstit:

Taulukko 1: Tiedot potilasaineistosta.

Kuvio 1: A) Röntgenlöydösten ($\geq 2\text{mm}$), ienverenvuodon (BOP) ja ientaskujen ($\geq 3\text{ mm}$) ja B) terveiden, peri-implanttimukosiitin ja peri-implantiitin osuudet negatiivisen (-), heikosti positiivisen (+), selkeästi positiivisen (++) aMMP-8-entsyymitestituloksen saaneilla implanttipotilailla (n = 44).

Kuvio 2: A) Terveiden (n=18), peri-implanttimukosiitti- (n=12) ja peri-implantiittiryhmien (n=14) aMMP-8-konsentraatiot (ng/ml) ORALyzer®-laitteella peri-implanttitaskunesteestä mitattuna. Kuvaan merkitty yksisuuntaisen varianssianalyysin (ANOVA) testitulos ja parittaisten Post hoc- vertailujen (Bonferroni) merkitsevät tulokset (* p < 0.05 ja *** p < 0.001). B) ImplantSafe®-testin visuaalisen näkymän (negatiivinen –, n=7; heikko positiivinen +, n=22; ja selkeästi positiivinen ++, n=15) ja ORALyzer®-laitteen kvantitatiivisten aMMP-8-konsentraatioiden yhteys peri-implanttitaskunesteessä sekä peri-implanttisairauden etenemisen riskirajat (aMMP-8-konsentraatiot [ng/ml]) (n = 44).

Kuvio 3: ROC-käyräanalyysi (receiver operating characteristic) kahden aMMP-8-entsyymitestin (ImplantSafe® ja ORALyzer®) hammasimplanttien terve/sairas-erottelukyvystä. Hammasimplantti määriteltiin terveeksi (n = 18), jos siinä ei ollut röntgenlöydöksiä, BOP:ia eikä ientaskua ≥ 3 mm, ja sairaaksi (peri-implantiitti), jos siinä oli röntgenlöydöksiä, BOP:ia ja ientasku ≥ 3 mm (n = 14).

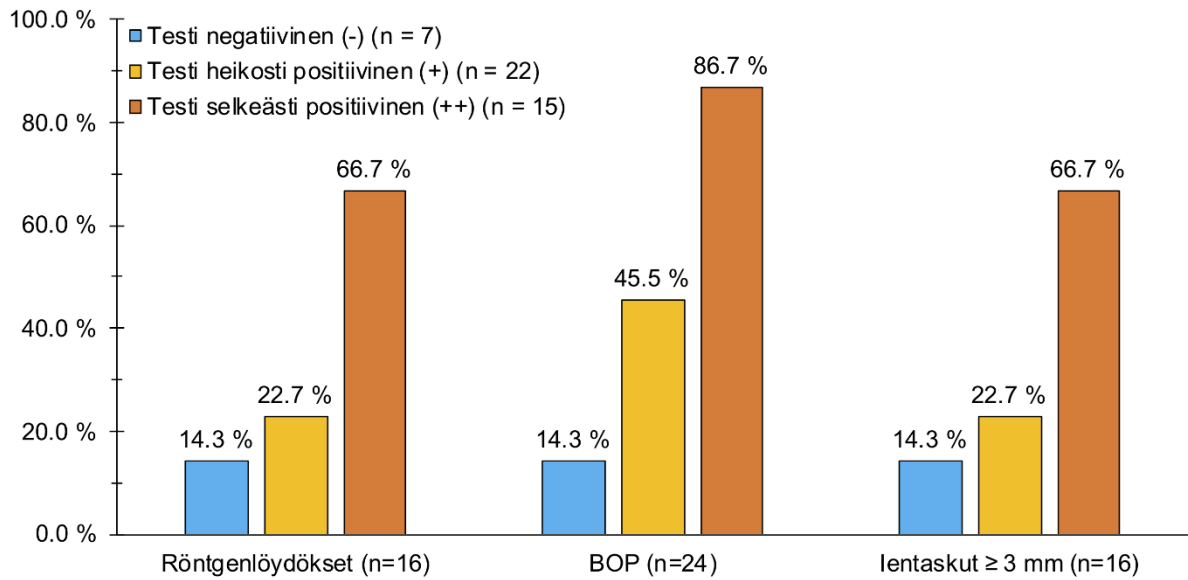
Kuvio 4: Esimerkki alaleuan implanttisillasta, jossa kliininen näkymä siisti, mutta aMMP-8-entsyymitestistä huomattavasti koholla. Röntgenkuvassa voidaan havaita horisontaalista alveoliluutuhhoa.

Talulukko 1

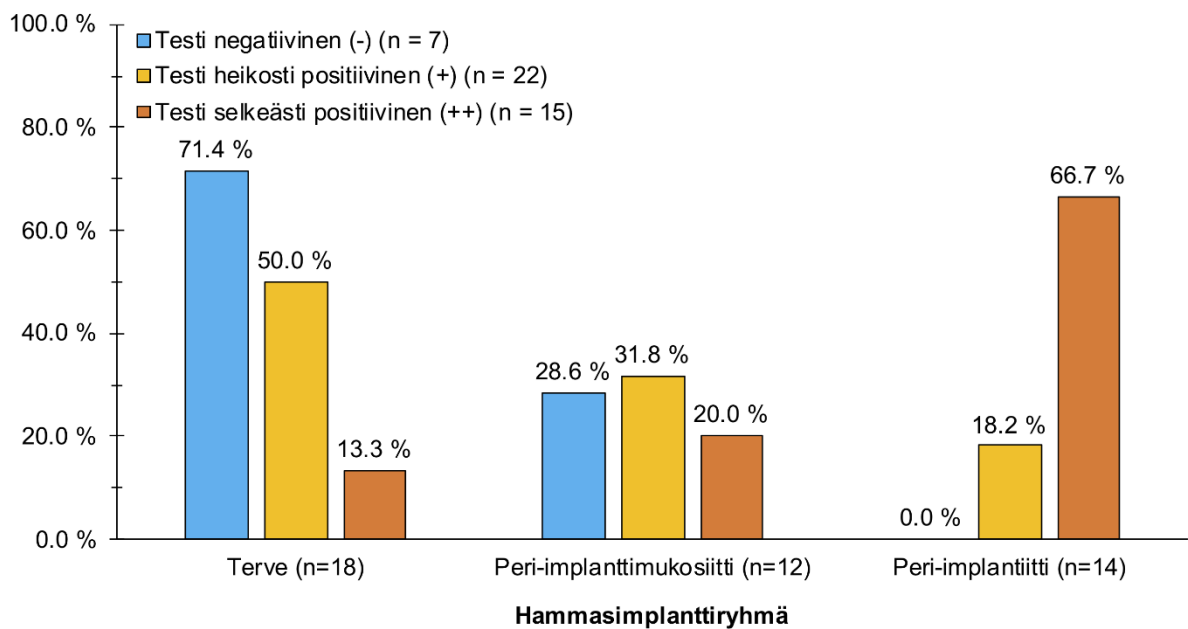
	Terve (n=18)	Peri- implanttimukosiitti (n=12)	Peri-implantiitti (n=14)	p- arvo*
Sukupuoli (n)				
Mies	6	6	6	0.686
Nainen	12	6	8	
Ikä (keskiarvo [keskihajonta])	71.83 [7.45]	72.17 [15.47]	67.43 [9.03]	0.340
Tupakointi (n)				
Kyllä	3	1	4	0.492
Ei	15	11	10	
Diabetes (n)				
Kyllä	1	2	0	0.348
Ei	17	10	14	
Astma (n)				
Kyllä	3	1	0	0.282
Ei	15	11	14	
Reuma (n)				
Kyllä	4	1	1	0.542
Ei	14	11	13	
Sydänsairaus (n)				
Kyllä	10	3	5	0.213
Ei	8	9	9	

Kuvio 1

A)

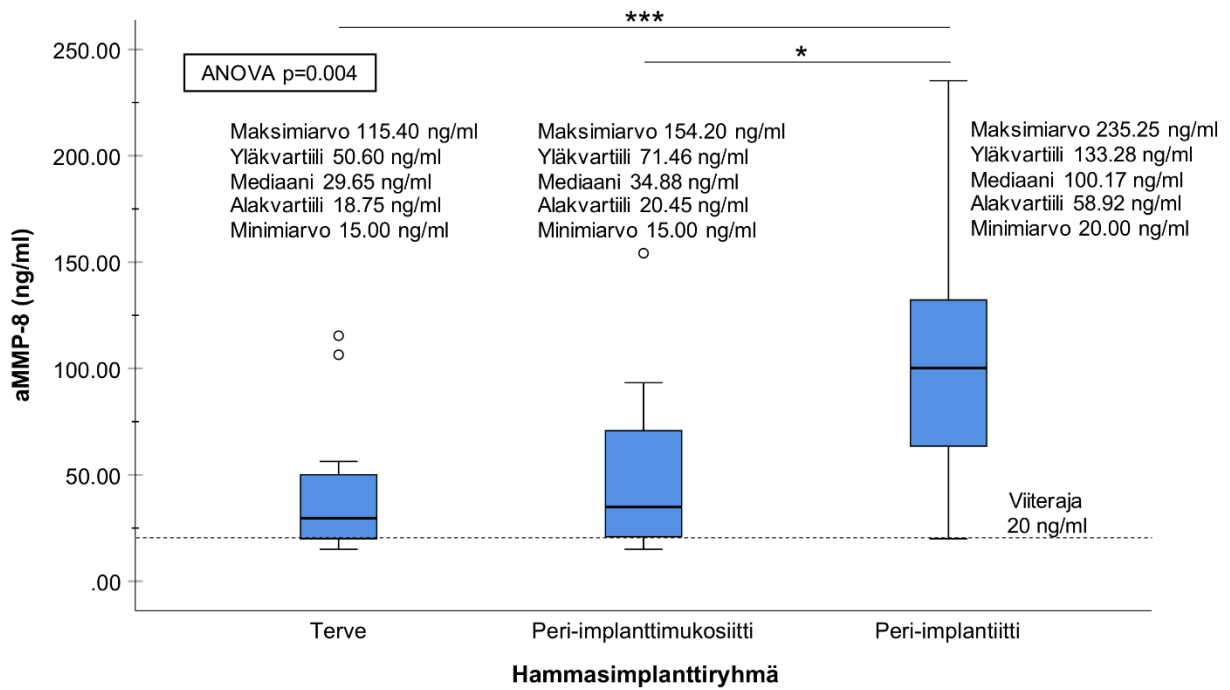


B)

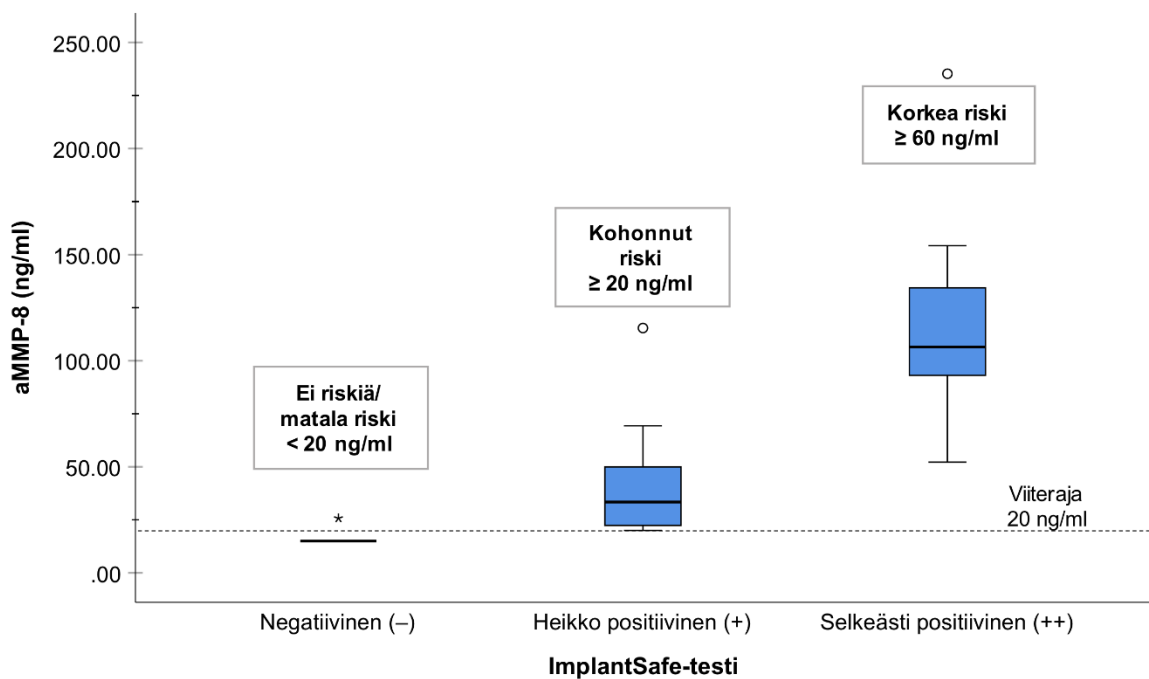


Kuvio 2

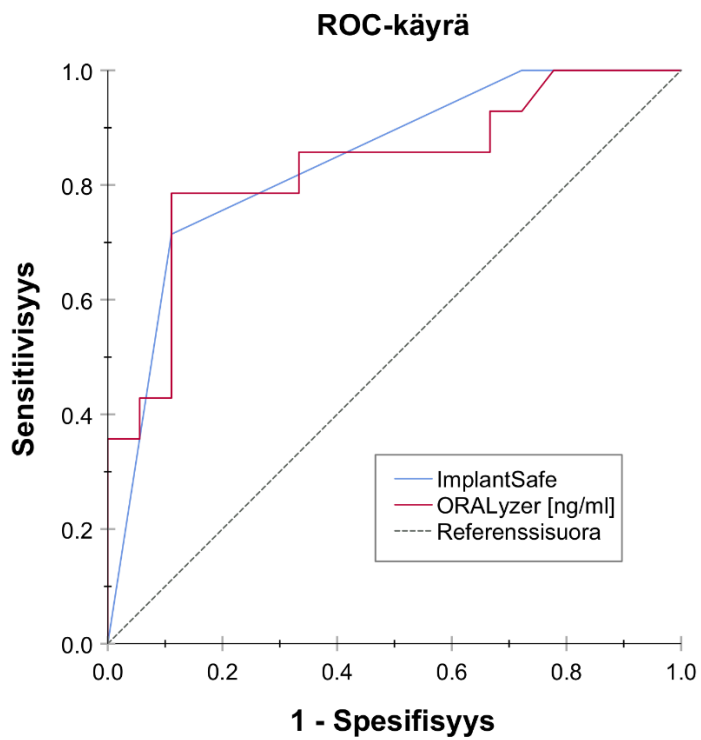
A)




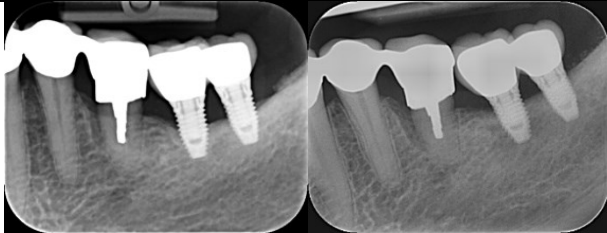
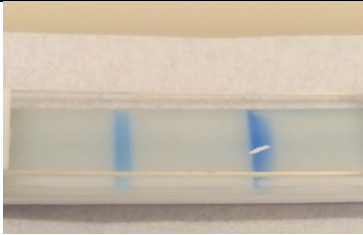
B)



Kuvio 3



Kuvio 4

<p>Kliininen näkymä: 66-vuotias nainen. Implantit leikattu 2011 astma, reuma, ei tupakoi</p>	
<p>Rtg-kuva: Alveoliharjanteen luutuho oikealla kuva vuodelta 2012 (1. vuoden kontrollikuva) vasemmalla kuva 2020</p>	 <p style="text-align: center;">2020/ 2012</p>
<p>ORALyzer®: 178.75 ng/ml Testin tulos positiivinen (≥ 20 ng/ml)</p>	

Kirjallisuusluettelo

1. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer C, Stein JM. Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis--a review. *Head Face Med* 2014; 10: 34.
2. Araujo MG, Lindhe J. Peri-implant health. *J Clin Periodontol* 2018; 45 Suppl 20: S230-S236.
3. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol* 2018; 45 Suppl 20: S149-S161.
4. Sahrman P, Gilli F, Wiedemeier DB, Attin T, Schmidlin PR, Karygianni L. The Microbiome of Peri-Implantitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms* 2020; 8(5): 661.
5. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Clin Periodontol* 2018; 45 Suppl 20: S246-S266.
6. Buduneli N. Biomarkers in Periodontal Health and Disease. 1. painos; Cham, Sveitsi: Springer Nature Switzerland AG, 2020.
7. Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE. Peri-implant mucositis. *J Clin Periodontol* 2018; 45 Suppl 20: S237-S245.
8. Natto ZS, Almeganni N, Alnakeeb E, Bukhari Z, Jan R, Iacono VJ. Peri-Implantitis and Peri-Implant Mucositis Case Definitions in Dental Research: A Systematic Assessment. *J Oral Implantol* 2019; 45(2): 127-131.
9. Renvert S, Persson GR, Pirih FQ, Camargo PM. Peri-implant health, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: Case definitions and diagnostic considerations. *J Periodontol* 2018; 89 Suppl 1: S304-S312.
10. Al-Majid A, Alassiri S, Rathnayake N, Tervahartiala T, Gieselmann DR, Sorsa T. Matrix Metalloproteinase-8 as an Inflammatory and Prevention Biomarker in Periodontal and Peri-Implant Diseases. *Int J Dent* 2018; 2018: 7891323.
11. Sorsa T, Tervahartiala T, Leppilahti J, Hernandez M, Gamonal J, Tuomainen AM. ym. Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines. *Pharmacol Res* 2011; 63(2): 108-113.
12. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis* 2004; 10(6): 311-318.
13. Lee W, Aitken S, Sodek J, McCulloch CA. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodontal Res.* 1995;30(1):23-33.

14. Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect Immun* 1999; 67(5): 2319-2326.
15. Alassy H, Parachuru P, Wolff L. Peri-Implantitis Diagnosis and Prognosis Using Biomarkers in Peri-Implant Crevicular Fluid: A Narrative Review. *Diagnostics (Basel)* 2019; 9(4): 214.
16. Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilahti J. ym. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2016; 70(1): 142-163.
17. Alassiri S, Parnanen P, Rathnayake N, Johannsen G, Heikkinen AM, Lazzara R. ym. The Ability of Quantitative, Specific, and Sensitive Point-of-Care/Chair-Side Oral Fluid Immunotests for aMMP-8 to Detect Periodontal and Peri-Implant Diseases. *Dis Markers* 2018; 2018: 1306396.
18. Sorsa T, Alassiri S, Grigoriadis A, Räisänen IT, Pärnänen P, Nwhator SO. ym. Active MMP-8 (aMMP-8) as a Grading and Staging Biomarker in the Periodontitis Classification. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10(2): 61.
19. Lorenz K, Keller T, Noack B, Freitag A, Netuschil L, Hoffmann T. Evaluation of a novel point-of-care test for active matrix metalloproteinase-8: agreement between qualitative and quantitative measurements and relation to periodontal inflammation. *J Periodontol* 2017; 52(2): 277-284.
20. Sorsa T, Grigoriadis A, Räisänen IT, Pärnänen P, Heikkinen AM, Nwhator SO. ym. Parodontitiin ja peri-implantiitin uudistettu luokittelujärjestelmä. *Suuhygienisti-lehti* 2020; 29(2): 46-48.
21. Räisänen IT, Sorsa T, van der Schoor G, Tervahartiala T, van der Schoor P, Gieselmann DR. ym. Active Matrix Metalloproteinase-8 Point-of-Care (PoC)/Chairside Mouthrinse Test vs. Bleeding on Probing in Diagnosing Subclinical Periodontitis in Adolescents. *Diagnostics (Basel)* 2019; 9(1): 34.
22. Räisänen IT, Heikkinen AM, Siren E, Tervahartiala T, Gieselmann DR, van der Schoor G. ym. Point-of-Care/Chairside aMMP-8 Analytics of Periodontal Diseases' Activity and Episodic Progression. *Diagnostics (Basel)* 2018; 8(4): 74.
23. Izadi Borujeni S, Mayer M, Eickholz P. Activated matrix metalloproteinase-8 in saliva as diagnostic test for periodontal disease? A case-control study. *Med Microbiol Immunol* 2015; 204(6): 665-672.
24. Johnson N, Ebersole J, Kryscio R, Danaher R, Dawson D, Al-Sabbagh M. ym. Rapid assessment of salivary MMP-8 and periodontal disease using lateral flow immunoassay. *Oral Dis* 2016; 22(7): 681-687.
25. Schmalz G, Hübscher AE, Angermann H, Schmidt J, Schmickler J, Legler TJ, ym. Associations of chairside salivary aMMP-8 findings with periodontal parameters, potentially

periodontal pathogenic bacteria and selected blood parameters in systemically healthy adults. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2019; 95(2): 179-184.

26. Lähteenmäki H, Umezudike KA, Heikkinen AM, Räisänen IT, Rathnayake N, Johannsen G. ym. aMMP-8 Point-of-Care/Chairside Oral Fluid Technology as a Rapid, Non-Invasive Tool for Periodontitis and Peri-Implantitis Screening in a Medical Care Setting. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10(8): 562.

27. Golub LM, Räisänen IT, Sorsa T, Preshaw PM. An Unexplored Pharmacologic/Diagnostic Strategy for Peri-Implantitis: A Protocol Proposal. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10(12): 1050.

28. Sorsa T, Bacigalupo J, Könönen M, Pärnänen P, Räisänen IT. Host-Modulation Therapy and Chair-Side Diagnostics in the Treatment of Peri-Implantitis. *Biosensors (Basel)* 2020; 10(5): 44.

29. Alassiri S. Utility of active MMP-8 as a test biomarker in periodontal and peri-implant diseases: diagnosis, prevention and treatment outcomes. Väitöskirja. Helsinki: Helsingin yliopisto; 2021.

30. Monje A, Insua A, Wang HL. Understanding Peri-Implantitis as a Plaque-Associated and Site-Specific Entity: On the Local Predisposing Factors. *J Clin Med* 2019; 8(2): 279.

31. Hentenaar DFM, De Waal YCM, Vissink A, et al. Biomarker levels in peri-implant crevicular fluid of healthy implants, untreated and non-surgically treated implants with peri-implantitis. *J Clin Periodontol* 2021; 48(4): 590-601.

32. Grigoriadis A, Sorsa T, Räisänen I, Pärnänen P, Tervahartiala T, Sakellari D. Prediabetes/Diabetes Can Be Screened at the Dental Office by a Low-Cost and Fast Chair-Side/Point-of-Care aMMP-8 Immunotest. *Diagnostics (Basel)* 2019; 9(4): 151.

33. Chaparro A, Realini O, Hernández M, Albers D, Weber L, Ramírez V. ym. Early pregnancy levels of gingival crevicular fluid matrix metalloproteinases-8 and -9 are associated with the severity of periodontitis and the development of gestational diabetes mellitus. *J Periodontol* 2021; 92(2): 205-215.

34. Räisänen IT, Umezudike KA, Pärnänen P, Heikkilä P, Tervahartiala T, Nwhator SO. ym. Periodontal disease and targeted prevention using aMMP-8 point-of-care oral fluid analytics in the COVID-19 era. *Med Hypotheses* 2020; 144: 110276.