

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΟΛΟΓΙΑ**

**Διερεύνηση δραστηριότητας εκκριτικής φωσφολιπάσης A2**

**(sPLA2) και της συνδεδεμένης με λιποπρωτεΐνες**

**φωσφολιπάσης A2 (Lp-PLA2) στο ουλικό υγρό και τον ορό**

**περιοδοντικών ασθενών πριν και μετά τη μη χειρουργική**

**περιοδοντική θεραπεία**

**ΜΤΠΧ Φοιτήτρια: Ελένη Πεπονή**

**ΑΘΗΝΑ 2015**

Επιβλέπουσα για την εκπόνηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας, η  
Επίκουρη Καθηγήτρια Περιοδοντολογίας ΕΚΠΑ κυρία Ξανθίππη Δερέκα.

Τριμελής Επιτροπή για την αξιολόγηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας:

1. Ξανθίππη Δερέκα, Επίκουρη Καθηγήτρια Περιοδοντολογίας ΕΚΠΑ
2. Ιωάννης Βρότσος, Καθηγητής Περιοδοντολογίας ΕΚΠΑ
3. Κλεοπάτρα Μαρκοπούλου, Αναπλ. Καθηγήτρια Περιοδοντολογίας ΕΚΠΑ

## **Ευχαριστίες**

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου σε όλους όσους βοήθησαν στην εκπόνηση της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας.

Στους Καθηγητές Περιοδοντολογίας, κύριο Ιωάννη Βρότσο και κύριο Φοίβο Μαδιανό για την ευκαιρία να συμμετέχω στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα αλλά και για την βοήθεια και καθοδήγηση σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Στον Επίκουρο Καθηγητή και υπεύθυνο της Μεταπτυχιακής Κλινικής κύριο Ιωάννη Καρούση για τις γνώσεις που μας έχει δώσει και για τη συμπαράσταση και ενθάρρυνση του όλα αυτά τα χρόνια.

Στην Επίκουρη Καθηγήτρια Περιοδοντολογίας και Επιβλέπουσα της παρούσας διπλωματικής εργασίας κυρία Ξανθίπη Δερέκα για την καθοδήγηση και συμπαράσταση της καθόλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας έρευνας αλλά και την σχολαστική ενασχόληση της κατά τη διάρκεια της συγγραφής για τη συνεχή βελτίωση του κειμένου.

Στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φυσιολογίας κυρία Ελένη Κοτσιφάκη για τη συνεχή καθοδήγηση, την εγκάρδια φιλοξενία στο χώρο του εργαστηρίου της και την ουσιαστική της βοήθεια κατά τη διάρκεια της εργαστηριακής επεξεργασίας των δειγμάτων αλλά και για τις συμβουλές της κατά τη διόρθωση του κειμένου.

Στην Καθηγήτρια Πειραματικής Χειρουργικής κυρία Δέσποινα Περραία και σε όλο το προσωπικό του τμήματος της Πειραματικής Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για τη βοήθεια που παρείχαν στη διακπεραίωση του εργαστηριακού μέρους της μελέτης.

Σε όλα τα μέλη του Διδακτικού και Ερευνητικού Προσωπικού του Εργαστηρίου Περιοδοντολογίας καθώς και στους Συνεργάτες της Μεταπτυχιακής Κλινικής της

Περιοδοντολογίας και της Κλινικής των Εμφυτευμάτων για τη συμβολή τους στη κλινική και επιστημονική μου κατάρτιση.

Σε όλους τους συναδέλφους και συμφοιτητές για την άριστη συνεργασία μας αυτά τα χρόνια. Στην γραμματέα της Μεταπτυχιακής Κλινικής της Περιοδοντολογίας, κυρία Κατερίνα Τσέπα και στη γραμματέα του Εργαστηρίου Περιοδοντολογίας κυρία Λιάνα Κώτσιρα για την άριστη συνεργασία μας και την εγκάρδια αντιμετώπιση.

Στους συμφοιτητές μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα της Περιοδοντολογίας για την άριστη συνεργασία μας και την αλληλεγγύη που αναπτύξαμε μεταξύ μας ώστε να γίνουν τα χρόνια των μεταπτυχιακών σπουδών δημιουργικά αλλά και αξέχαστα! Τέλος, στην οικογένεια μου για τη βοήθεια και τη συμπαράσταση τους ώστε να επιτύχω τους στόχους και τα όνειρά μου.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Γενικό μέρος.....	6
Χρόνια Περιοδοντίτιδα.....	7
Φωσφολιπάσες A2 (PLA2).....	38
Εκκριτικές φωσφολιπάσες A2 (sPLA2) .....	39
Συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) .....	60
Ουλικό υγρό.....	66
Ειδικό μέρος.....	68
Σκοπός.....	69
Υλικά και μεθοδολογία.....	70
Αποτελέσματα.....	84
Συζήτηση.....	97
Συμπεράσματα.....	104
Περίληψη.....	105
Abstract.....	107
Βιβλιογραφία.....	109

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **A. ΧΡΟΝΙΑ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΙΤΙΔΑ**

Η χρόνια περιοδοντίτιδα είναι φλεγμονώδης νόσος μικροβιακής κυρίως αιτιολογίας. Προσβάλλει το σύνολο των ιστών του περιοδοντίου και προκαλεί απρόβλεπτη, ανισομερή και ανισοβαρή καταστροφή των στηρικτικών ιστών και κυρίως του φατνιακού οστού (Page και Schroeder 1976, Μαντζαβίνος και Βρότσος 2002).

### **Αιτιοπαθογένεια**

Κύριος αιτιολογικός παράγοντας της περιοδοντίτιδας, όπως αναφέρθηκε, είναι η μικροβιακή προσβολή των περιοδοντικών ιστών. Η οδοντική μικροβιακή πλάκα είναι ο αναγκαίος παράγοντας για την έναρξη της περιοδοντικής νόσου. Ωστόσο, δεν έχουν όλα τα μικρόβια της οδοντικής πλάκας την ίδια παθογόνο δράση. Οι κύριοι περιοδοντοπαθογόνοι μικροοργανισμοί οι οποίοι αναφέρονται ως αιτιολογικοί παράγοντες της περιοδοντικής καταστροφής στη χρόνια περιοδοντίτιδα είναι οι *Actinobacillus actinomitcomitans*, *Bacteroides forsythus* και *Porphyromonas gingivalis* (Nunn 2003).

Παθογόνα στοιχεία των μικροβίων επιφέρουν, άμεσα ή έμμεσα, βλάβη στον ξενιστή. Η άμεση βλάβη προκαλείται όταν ένζυμα ή ενδοτοξίνες των μικροβίων δρουν σε ιστούς ή κύτταρα του ξενιστή και τους καταστρέφουν, ενώ η έμμεση βλάβη αφορά στην ενεργοποίηση της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή έναντι των μικρόβιων και των παθογόνων στοιχείων τους οπότε μαζί με αυτά καταστρέφονται και οι περιοδοντικοί ιστοί. Μέσω της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή προκαλείται η πιο εκτεταμένη βλάβη των περιοδοντικών ιστών (Gemmel και συν. 1997, Madianos και συν. 2005, Van Dyke και Van Winkelhoff 2013).

Η εκδήλωση και η εξέλιξη της νόσου καθορίζεται από διάφορους παράγοντες οι οποίοι αφορούν στα χαρακτηριστικά του ατόμου, το κοινωνικό του επίπεδο, το γενετικό του υπόβαθρο, την γενική του υγεία αλλά και στην μορφολογία και τη θέση των δοντιών (Nunn 2003).

Παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, και η φυλή του ατόμου επηρεάζουν την περιοδοντική του κατάσταση. Σύμφωνα με τις επιδημιολογικές μελέτες, η περιοδοντική νόσος φαίνεται να είναι πιο συχνή σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας (Grossi και συν. 1994, 1995, Streckfus και συν. 1999), σε άνδρες (Grossi και συν. 1994, 1995) καθώς και σε άτομα που ανήκουν στη μαύρη φυλή (Beck και συν. 1990). Επίσης, το κάπνισμα (Barbour και συν. 1997, Palmer και συν. 2005), η κοινωνικοοικονομική κατάσταση (Russell 1962, Ramfjord και συν. 1968,) καθώς και ψυχολογικοί παράγοντες (Genco και συν. 1998) εμπλέκονται ως παράγοντες κινδύνου στην εμφάνιση της νόσου. Τα περισσότερα ερευνητικά και κλινικά δεδομένα τεκμηριώνουν την συσχέτιση του καπνίσματος με την εκδήλωση και εξέλιξη της περιοδοντίτιδας (Barbour και συν. 1997, Palmer και συν. 2005). Επίσης, το stress φαίνεται να επιδρά επιβαρυντικά στη διατήρηση της υγείας των περιοδοντικών ιστών (Genco και συν. 1998, Parwani και Parwani 2014).

Από τα συστηματικά νοσήματα, η αμφίδρομη συσχέτιση σακχαρώδους διαβήτη και περιοδοντίτιδας είναι η πλέον βιβλιογραφικά τεκμηριωμένη. Οι διαβητικοί ασθενείς εμφανίζουν σημαντικά επιβαρυνμένη περιοδοντική κατάσταση σε σχέση με τα μη διαβητικά άτομα (Chavarry και συν. 2009, Borgnakke και συν. 2013), ενώ η χρόνια συστηματική φλεγμονή ως αποτέλεσμα της περιοδοντικής νόσου δυσχεραίνει τον γλυκαιμικό έλεγχο των διαβητικών ασθενών (Mealey και Oates 2006).



Επιπλέον, γενετικοί παράγοντες όπως κάποιοι πολυμορφισμοί για την IL-1 (McGuire και Nunn 1999), τον TNF-α (Shapira και συν. 2001, Craandijk και συν. 2002), τον υποδοχέα της βιταμίνης D (Inagaki και συν. 2003) και τους υποδοχείς της IgG (Kobayashi και συν. 2001, Meisel και συν. 2001) έχουν συσχετιστεί με αυξημένη περιοδοντική καταστροφή (Michalowicz και συν. 2000).

Τέλος, στη βιβλιογραφία, στους επιβαρυντικούς παράγοντες περιλαμβάνονται και μορφολογικά χαρακτηριστικά των δοντιών (π.χ. ανωμαλίες της οδοντικής επιφάνειας που ευνοούν την κατακράτηση μικροβιακής πλάκας), αλλά και η θέση των δοντιών στο φραγμό (π.χ. συνωστισμός, κλίσεις δοντιών) (Nunn 2003).

### **Φλεγμονώδεις διαδικασίες στην περιοδοντική νόσο**

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που αποικίζουν τις οδοντικές επιφάνειες και τους περιοδοντικούς ιστούς πυροδοτούν την ανοσιακή απάντηση του ξενιστή. Οι περισσότεροι από αυτούς “ανιχνεύονται” και καταστρέφονται, μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα, από τους μηχανισμούς της φυσικής ανοσίας. Η φυσική ή μη ειδική ή εγγενής ανοσιακή απόκριση δεν είναι αντιγονο-ειδική και ενεργοποιείται άμεσα χωρίς όμως τη δημιουργία μακροχρόνιας ανοσολογικής προστασίας (Madianos και συν. 2005).

Η αναγνώριση των καλά διατηρημένων προτύπων των παθογόνων από τους Toll-like υποδοχείς των ιστικών μακροφάγων δίνει το έναυσμα για την επαγωγή των προφλεγμονωδών μορίων όπως είναι οι κυτοκίνες, προσταγλανδίνες, τα λευκοτριένια, ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, τα επιφανειακά μόρια προσκόλλησης δραστικών μορφών

οξυγόνου, τα μόρια που επάγουν την πρώιμη μη ειδική απόκριση του οργανισμού, γνωστή ως απάντηση οξείας φάσης. Η παραγωγή των μορίων αυτών ενισχύεται πολύ περισσότερο σε επόμενο στάδιο με τη στρατολόγηση και ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων, των μονοκυττάρων και των μαστοκυττάρων (Madianos και συν. 2005).

Τα ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα είναι τα πρώτα μεταξύ των λευκοκυττάρων που εξαγγειώνονται στη φλεγμαίνουσα περιοχή και μέσω της φαγοκυτταρικής τους ικανότητας καθώς και της μικροβιοκτόνου δράσης τους συμβάλλουν στην καταστροφή και απομάκρυνση του μικροβιακού παράγοντα (Madianos και συν. 2005). Επιπλέον, τα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα/μακροφάγα που βρίσκονται στη φλεγμαίνουσα περιοχή στοχεύουν στην απομάκρυνση των κυτταρικών υπολειμμάτων και των πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων που αποπίπτουν με αποτέλεσμα την αποδρομή της φλεγμονής από τους προσβεβλημένους ιστούς (Van Dyke 2007). Στις περιπτώσεις όπου η διαδικασία αυτή δεν είναι επαρκής, τα κυτταρικά στοιχεία που παραμένουν στην περιοχή και τα φλεγμονώδη μόρια που παράγονται έχουν ως αποτέλεσμα την παράταση των φλεγμονωδών διεργασιών, τη μετάπτωση της φλεγμονής σε χρόνια και την καταστροφή του συνδετικού ιστού και του φατνιακού οστού (Van Dyke και Serhan 2003, Van Dyke 2008).

Η μη ειδική ανοσιακή απάντηση, η οποία όπως προαναφέρθηκε έχει ως στόχο τον έλεγχο και την εξάλειψη του μικροβιακού παράγοντα, συμβάλλει επίσης, με τη συμμετοχή των μακροφάγων και των κυτοκινών, στην ενεργοποίηση αντιγονο-ειδικών λεμφοκυττάρων της ειδικής ανοσολογικής απάντησης. Τα αντισώματα και τα ανοσοσυμπλέγματα που δημιουργούνται μέσω της ειδικής ανοσιακής απάντησης ενισχύουν ακόμη περισσότερο τις φλεγμονώδεις διεργασίες

στην περιοχή της φλεγμονής (Madianos και συν. 2005, Van Dyke και Van Winkelhoff 2013).

#### Βασικά στοιχεία της φλεγμονώδους διαδικασίας

- Πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα

Τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα βρίσκονται στους περιοδοντικούς ιστούς και μέσα στην ουλοδοντική σχισμή τόσο σε κατάσταση περιοδοντικής υγείας όσο και νόσου. Σε συνθήκες κλινικής υγείας των ιστών, ανευρίσκονται σε ποσοστό  $\geq 90\%$  των κυττάρων του ουλικού υγρού. Αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας εναντίον των μικροοργανισμών που προσβάλλουν τους περιοδοντικούς ιστούς και είναι τα φλεγμονώδη κύτταρα που πρώτα μεταναστεύουν στο σημείο της μικροβιακής προσβολής ενώ έπεται η μετανάστευση των μονοκυττάρων (Delima and Van Dyke 2003).

Η αμυντική τους δράση εκδηλώνεται είτε με φαγοκυττάρωση των μικροβίων είτε με θανάτωσή τους μέσω οξειδωτικών ή μη οξειδωτικών μηχανισμών (Van Dyke και Hoop 1990). Η στρατολόγηση και ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων στη φλεγμαίνουσα περιοχή έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου όπως είναι η υπεροξειδική ρίζα ( $O_2^-$ ), η ρίζα υδροξυλίου ( $OH^-$ ), το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το υποχλωριώδες  $HClO$ . Οι ενώσεις αυτές δρουν τοξικά τόσο στους μικροβιακούς παράγοντες όσο και στους περιοδοντικούς ιστούς (Thomas και συν. 1979, Matheson και συν. 1981, Babior και συν. 1983, Tauber και συν. 1983).

Επίσης, στα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα παρατηρείται εξωκυττάρωση των αζουρόφιλων κοκκίων τους και απελευθέρωση

του πρωτεϊνικού περιεχομένου τους στον εξωκυττάριο χώρο. Η αυξημένη παραγωγή των πρωτεϊνών των κοκκίων στις οποίες περιλαμβάνονται πρωτεϊνάσες (όπως η ελαστάση και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες), δεοξυριβονουκλεάσες, λιπάσες, κατιονικές πρωτεΐνες, προκαλεί καταστροφή των μικροβίων και των περιοδοντικών ιστών. Η δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνών ρυθμίζεται από αναστολείς (ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών) που προέρχονται είτε από το πλάσμα (όπως α1- αντιπρωτεϊνάση, α2-μακρογλινβουλίνη, σφαιρίνη) είτε από κύτταρα του συνδετικού ιστού των ούλων, επιθηλιακά κύτταρα ή ενδοθηλιακά κύτταρα (Bodet και συν. 2007). Η ρύθμιση της έκκρισής τους είναι καθοριστικής σημασίας για τη χημειοταξία των λευκοκυττάρων, τη καταστροφή των ιστών και την επούλωση (Goldstein και συν. 1979, Van Dyke and Hoop 1990).

- Κυτοκίνες

Οι κυτοκίνες είναι διαλυτές πρωτεΐνες οι οποίες προσδέονται σε ειδικούς υποδοχείς στα κύτταρα-στόχους. Με τη σύνδεσή τους ξεκινά ένας ενδοκυτταρικός “καταρράκτης” αντιδράσεων ο οποίος έχει σαν αποτέλεσμα μεταβολές στο φαινότυπο των κυττάρων. Οι κυτοκίνες λειτουργούν σαν «αγγελιοφόρα» μόρια μεταξύ των κυττάρων. Στην οικογένεια των κυτοκινών ανήκουν οι ιντερλευκίνες (IL-1α, -1β, -6, -10, -12, -17, -18, -33), ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF-α, TNF-β), οι χημοκίνες, οι ιντερφερόνες, οι αυξητικοί παράγοντες (Gemmell και συν. 1997) και τα μόρια receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) και οστεοπροτεγερίνη (OPG) (Preshaw και συν. 2011). Έχει δειχθεί ότι τα περιοδοντοπαθογόνα μικρόβια προκαλούν την παραγωγή κυτοκινών μεταξύ αυτών των IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12 και TNF-α (Sandros και συν. 2000, Kusumoto και συν. 2004).

Οι κυτοκίνες παίζουν ουσιαστικό ρόλο στις φλεγμονώδεις διαδικασίες που διαδραματίζονται στις διάφορες νόσους συμπεριλαμβανομένης και της περιοδοντικής και εμπλέκονται στη μη ειδική και την ειδική ανοσία (Hughes 1995, Preshaw και συν. 2011) (Πίνακας 1). Επίσης, εκκρίνουν αρκετούς μεσολαβητές φλεγμονής οι οποίοι στους περιοδοντικούς ιστούς είναι οι προσταγλανδίνες, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, οι χημοκίνες καθώς και διάφορες άλλες κυτοκίνες. Αυτά τα μόρια των μεσολαβητών φλεγμονής επάγουν και πάλι την παραγωγή κυτοκινών. Για παράδειγμα, οι κυτοκίνες ενεργοποιούν την παραγωγή προσταγλανδινών και αντίστοιχα η αυξημένη συγκέντρωση προσταγλανδινών προκαλεί περαιτέρω έκκριση κυτοκινών (Noguchi και συν. 2007). Ακόμη οι κυτοκίνες είναι δυνατόν να επάγουν την έκφρασή τους με αυτοκρινή τρόπο, όπως συμβαίνει με την IL-1β (Agarwal και συν. 1995).

Επίσης, οι ερευνητικές μελέτες έχουν αναδείξει την επίδραση των κυτοκινών σε διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς. Έτσι, η επίδρασή τους στις ινοβλάστες έχει σαν αποτέλεσμα την περαιτέρω παραγωγή κυτοκινών, ενώ στα T- και B-λεμφοκύτταρα οδηγεί σε ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων και ακολούθως στην καταστροφή των ιστών (Preshaw και Taylor 2011).

Σημαντικός είναι ο ρόλος των κυτοκινών στις διεργασίες της οστικής απορρόφησης. Κατά την απόκριση του ξενιστή στον μικροβιακό ερεθισμό, τα φλεγμονώδη κύτταρα που διηθούν τους ιστούς, οι ενεργοποιημένες ινοβλάστες και τα μακροφάγα εκκρίνουν κυτοκίνες και μεσολαβητές της φλεγμονής (όπως IL-1β, TNF-α, IL-6, IL-11, IL-17 και προσταγλανδίνες) που παρεμβαίνουν στην οστεοκλαστική δραστηριότητα (Preshaw και συν. 2011). Ο άξονας RANK/RANKL/OPG ελέγχει τον οστικό μεταβολισμό και ο λόγος των RANKL και OPG

(RANKL:OPG ratio) καθορίζει την οστική απορρόφηση (Teng 2006, Koide και συν. 2010). Αρκετές κυτοκίνες αυξάνουν την έκφραση του RANKL και συνεπώς προάγουν την οστική απορρόφηση μέσω των οστεοκλαστών (Hofbauer και συν. 1999, Nakashima και συν. 2000), ενώ οι IL-1β και TNF-α έχουν τη δυνατότητα να ενεργοποιούν τους οστεοκλάστες ανεξάρτητα από το RANKL (Zhang και συν. 2001).

**Πίνακας 1.** Έκφραση και δράση των κυτοκινών (Τροποποιημένος από Preshaw και συν. 2011)

	<b>Παραγωγή</b>	<b>Δράση</b>	<b>Βιβλιογραφία</b>
IL-1a	Μονοκύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα, κερατινοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες	Προφλεγμονώδης δράση, ενδοκυττάριος ρυθμιστής της μεταγραφής	Akira και συν. 2006 Arend και συν. 2008 Barksby και συν. 2007
IL-1β		Εμπλέκεται στη μη ειδική ανοσία και τη φλεγμονή, ρυθμιστικός ρόλος στην ειδική ανοσία, ενεργοποιεί την αποδόμηση του συνδετικού ιστού	Dinarello 1997 Dinarello 2009
IL-6	T- λεμφοκύτταρα, B- λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, οστεοβλάστες, δενδριτικά κύτταρα, κερατινοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα	Έχει προφλεγμονώδεις ιδιότητες, εμπλέκεται στην οξεία φλεγμονή και την οστική απορρόφηση Ενεργοποιεί την αγγειογένεση και την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης Ενεργοποιεί την διαφοροποίηση των T-λεμφοκυττάρων και εμπλέκεται στην ισορροπία μεταξύ των διάφορων υποπληθυσμών των T- λεμφοκυττάρων	Blanchard και συν. 2009 Eder και συν. 2009 Fonseca και συν. 2009 Van Snick 1990 Wong και συν. 2003
IL-10	Treg, Th1, Th2, Th17, CD8 <sup>+</sup> T- λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, B-λεμφοκύτταρα	Έχει αντιφλεγμονώδεις και προφλεγμονώδεις ιδιότητες Αναστέλλει την δραστηριότητα των Th1, Th2, NK κυττάρων και των μακροφάγων Ενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό των B-	Commins και συν. 2008 Couper και συν. 2008 Maynard και Weaver 2008

		λεμφοκυττάρων και την έκκριση της Ig	
IL-12	Μονοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα	Ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα Συμβάλλει στη διαφοροποίηση των CD4+ T-λεμφοκυττάρων σε Th1 λεμφοκύτταρα	Beadling και Slifka 2006 Gee και συν. 2009 Trinchieri 2003
IL-17	T- λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, μαστοκύτταρα, NK κύτταρα και Th17 λεμφοκύτταρα	Έχει προφλεγμονώδεις ιδιότητες Ενεργοποιεί την απελευθέρωση χημοκινών Επάγει την έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών Ενεργοποιεί την κυκλοοξυγενάση-2 Επάγει την έκφραση RANKL προκαλώντας οστική απορρόφηση	Korn και συν. 2009 Onishi και Gaffen 2010 Weaver 2009
IL-33	Ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα, ινοβλάστες	Έχει προφλεγμονώδη ρόλο Επάγει την έκκριση IL-4, IL-5 και IL-13 από τα Th2 λεμφοκύτταρα Επάγει την παραγωγή μεσολαβητών της φλεγμονής όπως IL-6, IL-1β και TNF-α	Arend και συν. 2008 Barksby και συν. 2007 Dinarello 2009 Komai-Koma και συν. 2007 Nile και συν. 2010 Sims και Smith 2010
TNF-α	Μακροφάγα, λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα, B-λεμφοκύτταρα,	Ρυθμίζει τις ανοσολογικές και φλεγμονώδεις απαντήσεις Επιδρά στα ενδοθηλιακά κύτταρα, προκαλεί αυξημένη	Bradley 2008 Locksley και συν. 2001

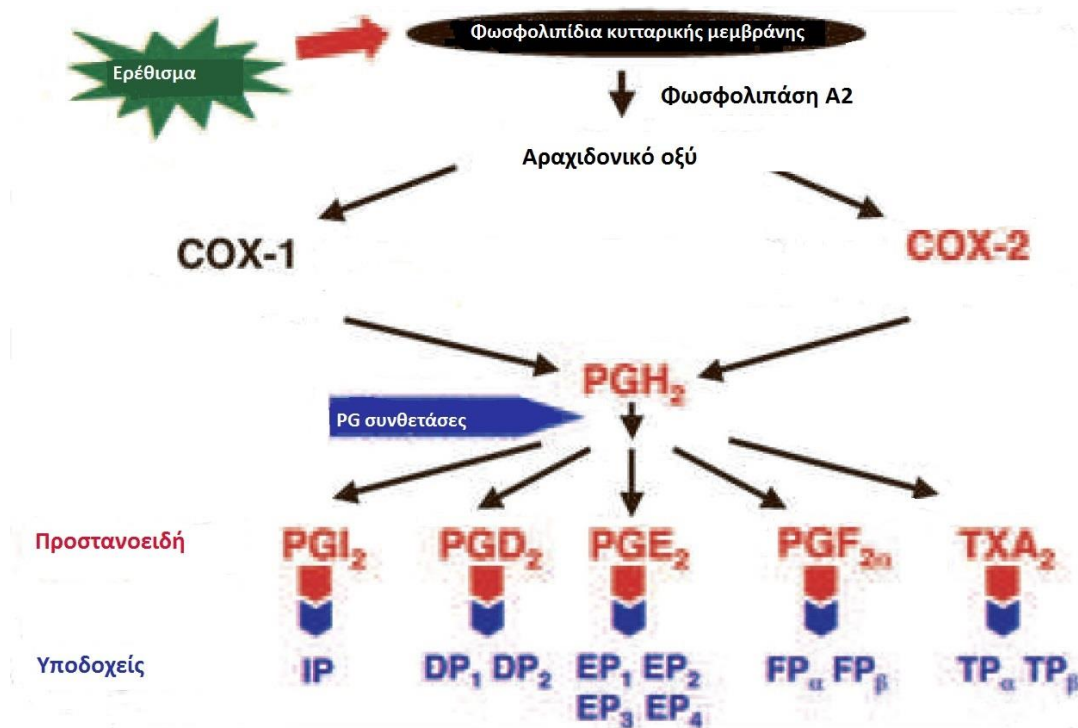


	ινοβλάστες, οστεοκλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα	έκφραση ICAM-1, VCAM-1 και E-selectin και έτσι επάγεται η συγκέντρωση λευκοκυττάρων  Επάγει την έκφραση της κυκλοοξυγενάσης-2 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα την αγγειοδιαστολή και την αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα	Mark και συν. 2001 Ware 2003 Ware 2008
TNF-β	Διάφοροι τύποι κυττάρων μπορούν να παράγουν TNF-β	Ρυθμίζει τις κυτταρικές λειτουργίες  Καταστέλλει την ανοσιακή απάντηση	Bierie και Moses 2010 Prud'homme 2007 Wan και Flavell 2007a,b
Χημοκίνες	Ινοβλάστες, οστεοβλάστες, μαστοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα	Ρυθμίζουν την κατανομή των υποπληθυσμών των λευκοκυττάρων στους ιστούς και κυτταρική μετανάστευση	Sharma 2010 Silva και συν. 2007
RANKL/OPG	Κύτταρα του μυελού των οστών, οστεοβλάστες, ινοβλάστες, T και B-λεμφοκύτταρα	Διαφοροποίηση και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και επομένως επάγει την οστική απορρόφηση	Bartold και συν. 2010 Bostanci και συν. 2007 Boyle και συν. 2003 Cochran 2008

- Προσταγλανδίνες

Οι προσταγλανδίνες ανήκουν στην οικογένεια των προστανοειδών και είναι ισχυροί μεσολοβητές της φλεγμονής. Προφλεγμονώδη ερεθίσματα επάγουν την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών μέσω της δράσης των φωσφολιπασών A2. Το αραχιδονικό οξύ μέσω της κυκλοοξυγενάσης-2 μετατρέπεται σε προσταγλανδίνη H2. Στη συνέχεια, διάφορες συνθετάσες των προστανοειδών μετατρέπουν την προσταγλανδίνη H2 σε συγκεκριμένο προστανοειδές (Σχήμα 1). Η οικογένεια των προστανοειδών περιλαμβάνει τις προσταγλανδίνη D2, προσταγλανδίνη E2, προσταγλανδίνη F2α, προσταγλανδίνη I2 και θρομβοξάνη A2 (Coleman και συν. 1994, Narumiya και συν. 1999, Noguchi και Ishikawa 2007).

Έχουν ταυτοποιηθεί 2 τύποι κυκλοοξυγενάσης, η κυκλοοξυγενάση 1 (COX-1) και η κυκλοοξυγενάση 2 (COX-2) (Kujubu και συν. 1991, Kraemer και συν. 1992). Η COX-1 εκφράζεται συνεχώς σε πολλούς ιστούς και κύτταρα ενώ η COX-2 εκφράζεται σαν απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα και φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως λιποπολυσακχαρίτες, αυξητικοί παράγοντες, IL-1 και TNF-α (Hla και συν. 1992, Lee και συν. 1992, Jones και συν. 1993, O Neil και συν. 1993). Σύμφωνα με τους Lee και συν. (1992), σε μακροφάγα αρουραίων στα οποία δεν είχε επιδράσει κάποιο φλεγμονώδες ερέθισμα, ανιχνεύθηκε η έκφραση μόνο της COX-1 και όχι της COX-2, ενώ η παρουσία λιποπολυσακχαρίτη αύξησε την έκφραση της COX-2 και δεν επηρέασε την έκφραση της COX-1.



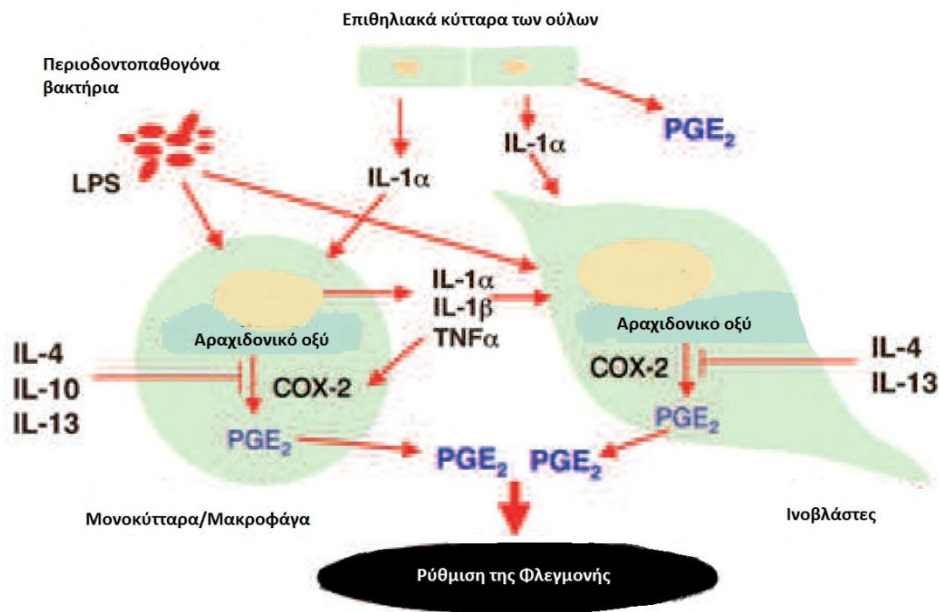
**Σχήμα 1.** Σύνθεση των προστανοειδών (Τροποποιημένο από Noguchi και Ishikawa 2007).

COX-1: κυκλοοξυγενάση 1, COX-2: κυκλοοξυγενάση 2, PG: προσταγλανδίνη, PGH<sub>2</sub>: προσταγλανδίνη H<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>: προσταγλανδίνη I<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>: προσταγλανδίνη D<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>: προσταγλανδίνη E<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>: προσταγλανδίνη F<sub>2α</sub>, TXA<sub>2</sub>: θρομβοξάνη A<sub>2</sub>.

Σε φλεγμονώδη ούλα, η COX-2 ανιχνεύτηκε σε ινοβλάστες, επιθηλιακά ουλικά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα και φλεγμονώδη κύτταρα. Αντίθετα σε υγιή ούλα, ανιχνεύτηκε σε μικρές ποσότητες μόνο σε επιθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες (Noguchi και Ishikawa 2007). Σύμφωνα με τους McDonald και συν. (1997), στο επιθήλιο των ούλων βρέθηκε έντονη έκφραση της συνθετάσης της προσταγλανδίνης H (ισομορφές 1 και 2) τόσο σε κατάσταση φλεγμονής όσο και σε

κατάσταση υγείας. Επίσης, στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι η έκφραση της ισομορφής 2 της συνθετάσης της προσταγλανδίνης Η αυξανόταν σε περιοχές με Gram+ βακτήρια. Το ερέθισμα για την παραγωγή των προσταγλανδινών μπορεί να είναι φλεγμονώδες και να οφείλεται στην παρουσία των λιποπολυσακχαριτών ή είναι δυνατόν να αφορά στην παρουσία των IL-1α, IL-1β και TNF-α (Yucel-Lindberg και συν. 1995, 1999, Noguchi και συν. 1999α, Noguchi και συν. 1999 β, Noguchi και συν. 2000α, Noguchi και συν. 2000β). Στην αναστολή της παραγωγής της COX-2 που έχει σαν αποτέλεσμα και την αναστολή της παραγωγής της προσταγλανδίνης E2 εμπλέκονται τα γλυκοκορτικοειδή, οι IL-4, IL-10, IL- 13 και η ιντερφερόνη-γ (Masferrer και συν. 1994, Niiro και συν. 1995, 1997, Endo και συν. 1996, Noguchi και συν. 1999).

Το σχήμα 2 αναπαριστά τη ρύθμιση της έκφρασης της COX-2 και της PGE2. Περιοδοντοπαθογόνα μικρόβια ενεργοποιούν τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τις ινοβλάστες προς παραγωγή COX-2 και PGE2. Επίσης, οι περιοδοντοπαθογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να ενεργοποιήσουν τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα επιθηλιακά κύτταρα των ούλων να παράγουν IL-1 και TNF-α. Οι κυτοκίνες αυτές προάγουν την παραγωγή COX-2 και PGE2 από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τις ινοβλάστες. Οι αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες IL-4, IL-10 και IL-13 αναστέλλουν την έκφραση της COX-2 και της συνεπώς και της PGE2.



**Σχήμα 2.** Ρύθμιση της έκφρασης της COX-2 και παραγωγή της PGE<sub>2</sub> (Τροποποιημένο από Noguchi και Ishikawa 2007)

Η PGE<sub>2</sub> είναι το βασικό προϊόν μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος μέσω της κυκλοοξυγενάσης. Αποτελέσματα της δράσης της είναι ο πυρετός, ο πόνος, η αγγειοδιαστολή και η οστική απορρόφηση (Feigen 1981, Morimoto και συν. 1988, Watrous και Andrews 1989, Heinricher και συν. 2004, Noguchi και Ishikawa 2007). Αυξημένα επίπεδά της έχουν βρεθεί στους ουλικούς ιστούς και το ουλικό υγρό ασθενών με περιοδοντίτιδα σε σχέση με υγιείς ασθενείς (Elattar 1976, Ohm και συν. 1984, Zhou και συν. 1994, Leibur και συν. 1999).

Η προσταγλανδίνη E<sub>2</sub> φαίνεται να εμπλέκεται στη ρύθμιση διάφορων ανοσολογικών μηχανισμών (Noguchi και Ishikawa 2007). Επιδρά στα T-λεμφοκύτταρα και καταστέλλει την παραγωγή της IL-12 και της ιντερφερόνης-γ, ενώ

σε καταστολή της IL-12 οδηγεί και η επίδρασή της στα μονοκύτταρα/μακροφάγα (Katamura και συν. 1995, Nataraj και συν. 2001, Kabashima και συν. 2003). Επιπλέον, η PGE2 ενεργοποιεί την παραγωγή IgG1 και IgE από τα ενεργοποιημένα Β λεμφοκύτταρα (Fedyk και συν. 1997). Αυξάνει την παραγωγή IL-10 (Shinomiya και συν. 2001) και μειώνει την παραγωγή των TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 (Noguchi και συν. 2001, Takayama και συν. 2002). Η PGE2 φαίνεται να έχει ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση της IL-6 (Takigawa και συν. 1994, Czuszak και συν. 1996). Σύμφωνα με τους Takigawa και συν. (1994), η προσθήκη της PGE2 σε ανθρώπινες ουλικές ινοβλάστες προκάλεσε αναστολή της έκκρισης της IL-6 από τα κύτταρα αυτά. Σε διαφορετικό συμπέρασμα κατάληξαν οι Czuszak και συν. (1996). Στη μελέτη τους παρατήρησαν ότι η έκφραση της IL-6 από ανθρώπινες ουλικές ινοβλάστες εξαρτάται από την επίδραση της IL-1 $\beta$  αλλά και της PGE2. Συγκεκριμένα ο συνδυασμός τους προκάλεσε αύξηση της παραγωγής IL-6 από τις ανθρώπινες ουλικές ινοβλάστες.

Μελέτες σε ζωικά προκλινικά μοντέλα έδειξαν ότι η PGE2 αυξάνει την παραγωγή των μεταλλοπρωτεϊνών -1, -2, -13 (Miyaura και συν. 2000, Kim και συν. 2005).

Σε ανθρώπινες ουλικές ινοβλάστες και κύτταρα του περιριζίου, η PGE2 μπορούσε είτε να αυξήσει είτε να μειώσει την παραγωγή της μεταλλοπρωτεϊνής-3. Η αύξηση παρατηρήθηκε σε ινοβλάστες από περιοδοντικά υγιή άτομα ενώ μείωση σε ινοβλάστες περιοδοντικών ασθενών. Επιπλέον, η PGE2 μείωσε την παραγωγή της μεταλλοπρωτεϊνής-13 (Nishikawa και συν. 2002, Ruwanpura και συν. 2004, Noguchi και συν. 2005, Yan και συν. 2005). Επίσης, άλλα πειράματα έδειξαν ότι η PGE2 ρυθμίζει την παραγωγή των μεταλλοπρωτεϊνών -1 και -9 (Pentland και συν. 1995, Shankavaram και συν. 1997).

Η PGE2 θεωρείται ισχυρός μεσολαβητής της οστικής απορρόφησης. Σε *in vivo* μελέτη, η προσθήκη PGE2 στην ουλοδοντική σχισμή Wistar αρουραίων αύξησε τον αριθμό των οστεοκλαστών (Miyachi και συν. 1992). Έχει δειχθεί ότι σε κύτταρα του περιριζίου σε συνθήκες μηχανικού stress (συνεχείς δυνάμεις συμπίεσης) προκαλείται αύξηση των οστεοκλαστών μέσω της σύνθεσης PGE2 (Kanzaki και συν. 2002). Επίσης, σε ανθρώπινα κύτταρα περιριζίου η παρουσία της PGE2 αύξησε την έκφραση του RANKL (nuclear factor-kB ligand) και μείωσε την έκφραση της OPG (Sakata και συν. 2002, Nukaga και συν. 2004). Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η PGE2 ενισχύει την οστική απορρόφηση.

- Μεταλλοπρωτεϊνάσες

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι ένζυμα τα οποία αποδομούν το οργανικό υπόστρωμα του συνδετικού ιστού (κολλαγόνο, ελαστίνη, γλυκοπρωτεΐνες) και ανήκουν στην οικογένεια των ενδοπεπτιδασών που εξαρτώνται από το  $Ca^{++}$  και περιέχουν  $Zn^{++}$ . Ανάλογα με την δράση τους ταξινομούνται σε κολλαγενάσες, στρομελυσίνες, ματριλυσίνες, μεμβρανικού τύπου MMPs και άλλους τύπους MMPs (Verma και Hansch 2007). Εμπλέκονται σε διάφορες φυσιολογικές διαδικασίες όπως στην εμβρυογένεση, αγγειογένεση, ανάπτυξη των ιστών, ανακατασκευή του οργανικού υποστρώματος και την επούλωση των ιστών αλλά και σε παθολογικές διαδικασίες όπως στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, την ίνωση, τον καρκίνο και άλλες φλεγμονώδεις διαταραχές (Uitto και συν. 2003, Visse και Nagase 2003, Amalinei και συν. 2010).

Οι MMPs ενεργοποιούνται κυρίως από τις πρωτεϊνάσες, ενώ η αυξημένη θερμοκρασία και το χαμηλό pH είναι δυνατόν να οδηγήσουν στο ίδιο αποτέλεσμα.

Οι MMPs είτε εκκρίνονται από τα κύτταρα στον εξωκυττάριο χώρο είτε παραμένουν προσκολλημένες στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (Visse and και Nagase 2003).

Στην περιοδοντική νόσο, οι MMPs αυξάνονται. Αντίστοιχα, αυξάνεται και η αποδόμηση των κολλαγόνων ινών του συνδετικού ιστού συντελώντας με αυτό το τρόπο στην καταστροφή των περιοδοντικών ιστών (Soell και συν. 2002, Hannas και συν. 2007). Στις φλεγμονώδεις αυτές διεργασίες εμπλέκονται κυρίως οι κολλαγενάσες MMP-8 και MMP-13, ενώ συμμετέχουν ενεργά η γελατινάση MMP-9 και η μεμβρανικού τύπου MMP-14 (Sarna και συν. 2014).

Η MMP-8 προέρχεται κυρίως από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα και παίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη και εξέλιξη της περιοδοντικής νόσου καθώς αποδομεί το κολλαγόνο τύπου I και III των περιοδοντικών ιστών (Rai και συν. 2008, Ozsaka και συν. 2011). Οι ερευνητικές μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της MMP-8 στο ουλικό υγρό και το πλάσμα των περιοδοντικών ασθενών εμφανίζονται αυξημένα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες και συσχετίζονται με αυξημένο αριθμό πολυμορφοπύρρηνων λευκοκυττάρων, στοιχείο το οποίο συνηγορεί υπέρ της εμπλοκής της MMP-8 στην περιοδοντική καταστροφή ενώ μειώνονται 3 μήνες μετά την περιοδοντική θεραπεία (Romanelli και συν. 1999, Marcaccini και συν. 2009, 2010). Αντίθετα, οι MMP-1 και MMP-13 φαίνεται ότι σχετίζονται περισσότερο με την αποκατάσταση των περιοδοντικών ιστών μετά την άρση της φλεγμονής (Romanelli και συν. 1999).

Η MMP-9, εκκρίνεται από τα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα και αποδομεί το κολλαγόνο τύπου IV (Ingman και συν. 1994). Τα επίπεδα της MMP-9 στο ουλικό υγρό των περιοδοντικών ασθενών έχουν βρεθεί σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες (Rai και συν. 2008). Σε αρκετές μελέτες, η περιοδοντική



θεραπεία μείωσε τα επίπεδα των MMP-2 και MMP-9 στο σάλιο και στον ορό των ασθενών (Marcaccini και συν. 2009, 2010).

Η MMP-13 φαίνεται να εμπλέκεται στην έναρξη της οστικής απορρόφησης καθώς ενεργοποιεί *in vitro* την πρόδρομη μορφή της MMP-9 (Hernandez και συν. 2009). Στη μελέτη των Gursoy και συν. (2013) βρέθηκε ότι σε περιοδοντικούς ασθενείς τα επίπεδα της MMP-13 στο σάλιο είναι αυξημένα συγκρινόμενα με αυτά των υγιών μαρτύρων (Gursoy και συν. 2013).

Η MMP-14 ανήκει στην ομάδα των μεμβρανικού τύπου MMPs και ο ρόλος της στην περιοδοντική νόσο δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί. Πιστεύεται ότι στα αρχικά στάδια της περιοδοντικής νόσου η έκφραση της MMP-14 είναι αυξημένη και είναι πιθανόν να ενεργοποιεί άλλες MMPs. Σε εγκατεστημένη νόσο η έκφραση της είναι πιο ασθενής υποδεικνύοντας ρυθμιστικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου (Lorencini και συν. 2009, Gursoy και συν. 2010). Αντίθετα, οι Kim και συν. (2011) στη μελέτη τους βρήκαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα MMP-14 στους ουλικούς ιστούς των περιοδοντικών ασθενών σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες.

Η δράση των MMPs καθορίζεται από την παρουσία των κυτοκινών, των αυξητικών παραγόντων και των αναστολέων των MMPs (TIMPs). Σχετικά με τους TIMPs, αυτοί διακρίνονται σε 4 τύπους (TIMP 1-4) και όταν υπάρχει ισορροπία μεταξύ των MMPs και των TIMPs επικρατεί η υγεία στους ιστούς. Στην περιοδοντική νόσο, η ισορροπία αυτή διαταράσσεται με τα επίπεδα των MMPs να αυξάνονται και αυτά των TIMPs να μειώνονται οπότε το αποτέλεσμα είναι η αποδόμηση του κολλαγόνου του συνδετικού ιστού και του φατνιακού οστού (Nomura και συν. 1998, Alragot και συν. 2001, Sarpa και συν. 2014).

## Επίδραση της περιοδοντικής φλεγμονής στη συστηματική υγεία

Σε απουσία φλεγμονής το επιθήλιο αποτελεί φραγμό στην είσοδο των μικροβίων στους περιοδοντικούς ιστούς (Madianos και συν. 2005). Όμως παρουσία φλεγμονής, το επιθήλιο υφίσταται αλλαγές και τα περιοδοντοπαθογόνα μικρόβια μπορούν να διεισδύσουν μέσα σε αυτό (Genco και Williams 2010). Τα μικρόβια αυτά και οι ενδοτοξίνες τους, από τους περιοδοντικούς ιστούς μπορούν να εισέλθουν στη συστηματική κυκλοφορία και συνήθως αντιμετωπίζονται από το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα χωρίς ιδιαίτερα κλινικά συμπτώματα (Li και συν. 2000). Όταν οι μικροοργανισμοί παραμένουν στην κυκλοφορία προκαλούν, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, την ενεργοποίηση της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης οπότε παράγονται προφλεγμονώδεις παράγοντες (όπως κυτοκίνες, χημοκίνες), λευκοκύτταρα και ενεργοποιούνται ενδοθηλιακά κύτταρα και ηπατοκύτταρα. Επίσης, μεσολαβητές της φλεγμονής (IL-1β, IL-6, TNF-α και PGE2) που παράγονται τοπικά στους περιοδοντικούς ιστούς εισέρχονται στην κυκλοφορία και έχουν συστηματική επίδραση όπως η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Amar και συν. 2003, Elter και συν. 2006). Ειδικότερα, οι κυτοκίνες προκαλούν λευκοκυττάρωση και επάγουν την παραγωγή των πρωτεϊνών οξείας φάσης (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, αμυλοειδές A, ινωδογόνο, αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, πρωτεΐνες συμπληρώματος) (Van dyke και Van Winkelhoff 2013). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την εγκατάσταση μίας χρόνιας χαμηλού βαθμού συστηματικής φλεγμονής (Geerts και συν. 2002, Amar και συν. 2003, Higashi και συν. 2008, Loos και συν. 2005, Moutsopoulos και συν. 2006, Paraskevas και συν. 2008).

Επιπλέον, έχει διερευνηθεί και αποδειχθεί η συσχέτιση μέτριας και προχωρημένης περιοδοντίτιδας με δείκτες συστηματικής φλεγμονής και ανοσολογικούς δείκτες. Έτσι, βρέθηκαν στον ορό ασθενών με περιοδοντίτιδα αυξημένα επίπεδα IL-6 (Loos και συν. 2000, Ide και συν. 2004), C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) (Noack και συν. 2001, Paraskevas και συν. 2008), αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου 1(PA-1) (Montebugnoli και συν. 2005, Bizzarro και συν. 2007) και λευκών αιμοσφαιρίων (Persson και συν. 2005, Buhlin και συν. 2005, Renvert και συν. 2006). Επίσης, η ύπαρξη υποουλικά περιοδοντοπαθογόνων μικροβίων, όπως *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus* και *T. forsythia* οδήγησε σε αυξημένα επίπεδα της CRP στον ορό των ασθενών με περιοδοντίτιδα (Noack και συν. 2001). Τα επίπεδα CRP στον ορό βρέθηκαν κατά 1,7mg/l υψηλότερα στα άτομα με περιοδοντική νόσο από ότι στα άτομα με υγιές περιοδόντιο (Paraskevas και συν. 2008) και υψηλότερα κατά περίπου το 1/3 της τιμής τους σε άτομα με πολλαπλούς περιοδοντικούς θυλάκους (>30% των περιοχών με βάθος θυλάκων  $\geq 4\text{mm}$ ) από ότι σε άτομα με λιγότερους περιοδοντικούς θυλάκους (Slade και συν. 2003).

### **Συσχέτιση περιοδοντικής νόσου – συστηματικών νοσημάτων**

Πολυάριθμες επιδημιολογικές και παρεμβατικές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση περιοδοντικής νόσου και συστηματικών νοσημάτων (Borgnakke και συν. 2013, Sanz και συν. 2013, Linden και συν. 2013). Τα κυριότερα από τα νοσήματα που έχουν διερευνηθεί είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, οι επιπλοκές κύησης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η νεφρική νόσος.

Οι διαβητικοί ασθενείς εμφανίζουν σημαντικά επιβαρυσμένη περιοδοντική κατάσταση σε σχέση με τα μη διαβητικά άτομα (Chavarry και συν. 2009, Borgnakke

και συν. 2013). Η μειωμένη δράση ουδετερόφιλων, η αυξημένη λειτουργία μακροφάγων, η υπερπαραγωγή μεσολαβητών της φλεγμονής και η συσσώρευση των τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης που προκαλούνται από το σακχαρώδη διαβήτη δρουν επιβαρυντικά και στους περιοδοντικούς ιστούς (Taylor και συν. 2013). Επιπλέον, η χρόνια συστηματική φλεγμονή ως αποτέλεσμα της περιοδοντικής νόσου δυσχεραίνει τον γλυκαιμικό έλεγχο των διαβητικών ασθενών (Mealey et Oates 2006). Κλινικές μελέτες παρέμβασης έδειξαν ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία είναι δυνατόν να βελτιώσει τον γλυκαιμικό έλεγχο ο οποίος αξιολογείται με την μέτρηση των επίπεδων της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (Koromantzios και συν. 2011, Engebretson και συν. 2013).

Από την πλειοψηφία των μελετών στη βιβλιογραφία προκύπτει η ύπαρξη συσχέτισης περιοδοντικής νόσου και επιπλοκών κύησης (Sanz και συν. 2013) εφόσον όπως φαίνεται η συστηματική φλεγμονή που δημιουργείται λόγω της περιοδοντικής νόσου αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τις επιπλοκές κύησης (Madianos και συν. 2013). Ωστόσο, η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία σε εγκύους με περιοδοντίτιδα δεν φαίνεται να επηρεάζει την εμφάνιση αυτών των επιπλοκών (Michalowicz και συν. 2013).

Οι περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες που εξετάζουν τη σχέση ρευματοειδούς αρθρίτιδας και περιοδοντικής νόσου έχουν δείξει θετική συσχέτιση των δύο αυτών νοσημάτων (Linden και συν. 2013). Η φλεγμονώδης αντίδραση φαίνεται να είναι ο συνδεδετικός κρίκος μεταξύ των δύο αυτών νόσων (de Pablo και συν. 2009). Αν και τα ερευνητικά δεδομένα είναι περιορισμένα, η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία είναι δυνατό να βελτιώσει τα ρευματικά κλινικά σημεία και συμπτώματα (Ortiz και συν. 2009).

Οι επιδημιολογικές μελέτες επιπολασμού της περιοδοντίτιδας σε χρόνιους νεφροπαθείς και οι μελέτες συσχέτισμού περιοδοντικής νόσου και νεφρικών παραμέτρων δείχνουν ότι υπάρχει συσχέτιση των δύο νοσημάτων (Linden και συν. 2013). Ο υποκείμενος μηχανισμός εμπλέκει τη χρόνια φλεγμονή και τους αυξημένους μεσολαβητές της φλεγμονής που χαρακτηρίζουν και τα δύο νοσήματα (Craig 2008). Η μελέτη των Graziani και συν. (2010) έδειξε ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία είναι δυνατόν να βελτιώσει τη νεφρική λειτουργία.

### **Συσχέτιση περιοδοντικής νόσου και καρδιαγγειακών νοσημάτων**

Η παθολογία των καρδιαγγειακών νοσημάτων και ιδιαίτερα της αθηροσκλήρωσης περιλαμβάνει στοιχεία φλεγμονής που προκύπτουν από τη μη ειδική και ειδική ανοσιακή απάντηση (Libby και συν. 2009). Οι αθηρωματικές βλάβες μπορούν να ξεκινήσουν από φλεγμονώδη ερεθίσματα. Κυτοκίνες και χημοκίνες που παράγονται συστηματικά ή τοπικά προκαλούν αλλαγές στο ενδοθήλιο ευνοώντας την μετανάστευση λευκοκυττάρων στον έσω χιτώνα της αρτηρίας. Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου οδηγεί σε περαιτέρω απελευθέρωση χημειοτακτικών κυτοκινών προσελκύοντας μονοκύτταρα και άλλα κύτταρα στη βλάβη. Τα δενδριτικά κύτταρα και τα μονοκύτταρα που προσελκύνονται από τις κυτοκίνες μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα μετά την πρόσληψη των τροποποιημένων LDL (low density lipoproteins) και απελευθερώνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες και μεταλλοπρωτεϊνάσες (Schenkein και Loos 2013).

Η ωρίμανση της αθηρωματικής βλάβης χαρακτηρίζεται από σταδιακή ίνωση και ενασβεστίωση με τη μετανάστευση των λείων μυικών κυττάρων στον έσω χιτώνα του αγγείου η οποία διευκολύνεται από μεταλλοπρωτεϊνάσες και άλλες

πρωτεάσες που αποδομούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία (Raines και Ferri 2005). Η ανάπτυξη αιματικής κυκλοφορίας μέσα στην ώριμη αθηρωματική βλάβη οδηγεί σε περαιτέρω ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων, των μεσολαβητών της φλεγμονής και την δημιουργία θρομβίνης (Schenkein και Loos 2013), στοιχεία που σχετίζονται με τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (Libby και συν. 2009, Imanishi και Akasaka 2012).

Η σύνδεση μεταξύ περιοδοντίτιδας και αθηροσκλήρωσης βασίζεται σε υποκείμενους φλεγμονώδεις μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί πυροδοτούνται από περιοδοντοπαθογόνους μικροοργανισμούς τοπικά ή συστηματικά και επηρεάζουν την έναρξη ή την εξέλιξη των αθηρωματικών βλαβών (Σχήμα 3). Ειδικότερα, η περιοδοντική φλεγμονή είναι δυνατόν να επηρεάσει τη μετανάστευση των λείων μυικών κυττάρων, την ανοσολογική απάντηση, τη δημιουργία θρομβίνης, την παραγωγή και αποδόμηση του κολλαγόνου ώστε να προκληθεί ρήξη της αθηρωματικής πλάκας ή σχηματισμός θρόμβου (Schenkein και Loos 2013).

Η συστηματική ανασκόπηση των Dietrich και συν. (2013) ανέδειξε ότι η πλειοψηφία των επιδημιολογικών μελετών καταγράφει στατιστικά σημαντικά υψηλότερη επίπτωση καρδιαγγειακών νοσημάτων σε άτομα με περιοδοντίτιδα σε σχέση με τα περιοδοντικά υγιή, ενώ σε μία μόνο μελέτη, αυτή των Tuominen και συν. (2003) δε βρέθηκε τέτοια συσχέτιση. Επίσης, σύμφωνα με την ίδια συστηματική ανασκόπηση, τα άτομα με προχωρημένη περιοδοντική νόσο είχαν σημαντικά υψηλότερη επίπτωση καρδιαγγειακών νοσημάτων σε σχέση με εκείνα που δεν εμφάνιζαν προχωρημένη νόσο. Όσο αφορά στη στεφανιαία νόσο, η συσχέτιση μεταξύ αυτής και της περιοδοντικής νόσου ήταν ισχυρότερη για τα νεότερα άτομα συγκριτικά με τα άτομα άνω των 65 ετών (Dietrich και συν. 2013). Σε

μελέτες που εξέτασαν τη συσχέτιση καρδιαγγειακών νοσημάτων και περιοδοντίτιδας σε σχέση με το φύλο, βρέθηκε ότι η συσχέτιση μεταξύ των δύο νοσολογικών καταστάσεων ήταν ισχυρότερη για τους άνδρες συγκριτικά με τις γυναίκες (Grau και συν. 2004, Sim και συν. 2008, Xu και Lu 2011), ενώ στη μελέτη των Andriankaja και συν. (2007) βρέθηκε ότι η συσχέτιση στεφανιαίας νόσου και περιοδοντίτιδας ήταν ισχυρότερη για τις γυναίκες.

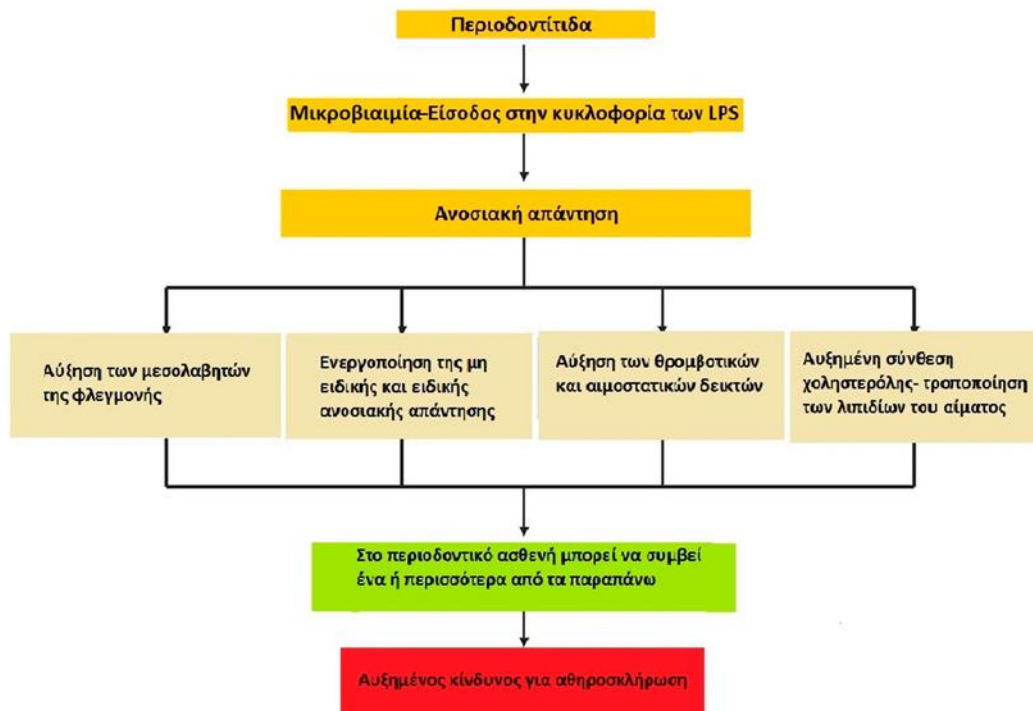
Η συσχέτιση που προκύπτει μεταξύ της περιοδοντικής νόσου και των καρδιαγγειακών νοσημάτων μπορεί να εξηγηθεί, όπως προαναφέρθηκε, μέσω του μηχανισμού της φλεγμονής. Μεσολαβητές της φλεγμονής, μικρόβια και προϊόντα αυτών τα οποία βρίσκονται στους περιοδοντικούς ιστούς εισέρχονται στην κυκλοφορία και ενισχύουν την συστηματική φλεγμονή και την αθηροσκλήρωση. Αυτό επιβεβαιώνεται από τα ευρήματα μελετών που δείχνουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα μεσολαβητών φλεγμονής στην συστηματική κυκλοφορία σε περιοδοντικούς ασθενείς σε σχέση με τα υγιή άτομα (Schenkein και Loos 2013). Τα επίπεδα των μεσολαβητών της φλεγμονής όπως της CRP, IL-6, TNF-α, του ινωδογόνου και των MMPs εμφανίζονται σημαντικά υψηλότερα στους περιοδοντικούς ασθενείς σε σχέση με τα υγιή άτομα (Gorska και Nedzi-Gora 2006, Schenkein και Loos 2013) και επιπλέον συσχετίζονται στατιστικά σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο για καρδιαγγειακά νοσήματα, συνεπώς, θα μπορούσαν να αποτελούν τον συνδετικό κρίκο μεταξύ της περιοδοντικής νόσου και των καρδιαγγειακών νοσημάτων (Schenkein και Loos 2013). Πιο συγκεκριμένα, οι μεσολαβητές της φλεγμονής αφού εισέλθουν στην κυκλοφορία είναι δυνατόν να επηρεάσουν άλλα όργανα, όπως το ήπαρ, να προκληθεί αντίδραση οξειάς φάσης και στη συνέχεια να επηρεασθούν και άλλα όργανα. Αυτή η φλεγμονώδης

αντίδραση μπορεί να ενεργοποιήσει το ενδοθήλιο των αγγείων και έτσι να ξεκινήσει ή να επιταχυνθεί η διαδικασία της αθηροσκλήρωσης (Schenkein και Loos 2013). Τα μικρόβια ή συστατικά τους στοιχεία πυροδοτούν συστηματική φλεγμονώδη απάντηση αλλά και τοπική στην αθηρωματική βλάβη (Teles και Wang 2011). Στο αρτηριακό τοίχωμα τα μικρόβια ή τα συστατικά τους εισέρχονται στο ενδοθήλιο και στην αθηρωματική βλάβη. Ακόμα, φλεγμονώδη κύτταρα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο των αγγείων και τα λιπίδια του ορού τροποποιούνται σε πιο αθηρογόνες μορφές (Schenkein και Loos 2013).

Επιπλέον, φαίνεται ότι τα αντισώματα που σχηματίζονται έναντι των περιοδοντοπαθογόνων μικροβίων μέσω της ειδικής ανοσίας, εμπλέκονται στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης. Είναι δυνατόν, συστατικά του οργανισμού να έχουν παρόμοια δομή με κάποια μικροβιακά αντιγόνα και συνεπώς τα αντισώματα που έχουν ήδη παραχθεί να στρέφονται ενάντια σε αντιγόνα του οργανισμού και να τροποποιούν τη λειτουργία τους. Στην περίπτωση της αθηροσκλήρωσης, τα αντισώματα αυτά μπορούν να ενισχύσουν τη φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος, την πρόσληψη λιπιδίων από τα μακροφάγα ή να εμποδίσουν την προστατευτική δράση κάποιων μορίων ενάντια στην αθηροσκλήρωση (Schenkein και Loos 2013).

Επίσης, αρκετές μελέτες δείχνουν ότι στους περιοδοντικούς ασθενείς είναι αυξημένα τα επίπεδα της LDL λιποπρωτεΐνης, των τριγλυκεριδίων καθώς των πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (vLDL) στην κυκλοφορία. Αυτά τα λιπίδια εμπλέκονται άμεσα στην έναρξη και τη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης καθώς εισέρχονται στο αγγειακό τοίχωμα και είναι επιδεκτικά οξειδωτικής τροποποίησης, καθοριστικό βήμα στην έναρξη της αθηρωματικής βλάβης (Schenkein και Loos 2013).





**Σχήμα 3.** Πιθανοί μηχανισμοί σύνδεσης της περιοδοντίτιδας με τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Τροποποιημένο από Scheincken και Loos 2013)

### **Επίδραση της μη χειρουργικής θεραπείας στη συστηματική φλεγμονή και τα καρδιαγγειακά νοσήματα**

Η μηχανική διάσπαση του μικροβιακού υμενίου καθώς και η αναμόχλευση του περιεχομένου του θυλάκου κατά την περιοδοντική θεραπεία οδηγεί σε παροδική ενίσχυση της συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης. Σε αρκετές μελέτες σαν αποτέλεσμα αυτής της οξείας φλεγμονώδους απάντησης αναφέρεται η παροδική αύξηση των CRP, IL-6 και TNF-α. Επίσης, έχει παρατηρηθεί διατάραξη του

συστήματος πήξης, ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και εξασθένιση της ενδοθηλιακής λειτουργίας.

Η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία φαίνεται να βελτιώνει κάποιους δείκτες συστηματικής φλεγμονής και κάποιους παράγοντες κινδύνου για τα καρδιαγγειακά νοσήματα 1-2 μήνες μετά το πέρας της θεραπείας. Πιο συγκεκριμένα έχει βρεθεί σημαντική βελτίωση των επιπέδων της CRP και της ενδοθηλιακής λειτουργίας (D' Aiuto και συν. 2013).

#### Επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στα λιπίδια, την αρτηριακή πίεση και την ενδοθηλιακή λειτουργία

Ο D' Aiuto και οι συν. (2013), με μία ανασκόπηση που σκοπό είχε την κριτική αξιολόγηση της επίδρασης της περιοδοντικής θεραπείας στους δείκτες των καρδιαγγειακών νοσημάτων, έδειξαν ότι σε αρκετές μελέτες ενώ η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία βελτίωσε τα επίπεδα των λιπιδίων, οι μεταβολές που παρουσιάσθηκαν δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Τα κλινικά ερευνητικά δεδομένα στη βιβλιογραφία αναφέρουν μείωση των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης, της LDL, της οξειδωμένης LDL (oxLDL) και των τριγλυκεριδίων, 2 έως 6 μήνες μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία (Montebugnoli και συν. 2005, D' Aiuto και συν. 2005, 2006, Oz και συν. 2007, Acharya και συν. 2010, Taylor και συν. 2010, Tamaki και συν. 2011, Chen και συν. 2012). Στατιστικά σημαντική μείωση βρέθηκε στη μελέτη των Taylor και συν. 2010 για την ολική χοληστερόλη. Ωστόσο, σε άλλες μελέτες δεν βρέθηκε σημαντική μεταβολή στο λιπιδαιμικό προφίλ (Higashi και συν. 2008, Kamil και συν. 2011). Για την HDL τα υπάρχοντα δεδομένα δείχνουν ότι τα επίπεδά της αυξάνονται 3 μήνες μετά τη θεραπεία. Η αύξηση αυτή αν και ενισχύει

την αντι-αθηρογόνο δράση της HDL, δεν είναι ικανή να μειώσει τον κίνδυνο για τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Pussinen και συν. 2004, Kallio και συν. 2008).

Οι περισσότερες μελέτες στη βιβλιογραφία αν και δεν αναφέρουν σημαντική επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στην αρτηριακή πίεση (Seinost και συν. 2005, Tonetti και συν. 2007, Higashi και συν. 2008, 2009, D' Aiuto και συν. 2013), καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι βελτιώνεται η ενδοθηλιακή λειτουργία (Mercanoglu και συν. 2004, Elter και συν. 2006, Tonetti και συν. 2007, Blum και συν. 2007, Higashi και συν. 2008, 2009).

#### Επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στην υποκλινική αθηροσκλήρωση και την εκδήλωση καρδιαγγειακών νοσημάτων

Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι τα στοιχεία για την επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στην υποκλινική αθηροσκλήρωση και στην εκδήλωση καρδιαγγειακών νοσημάτων είναι περιορισμένα (Piconi και συν. 2009). Σε ότι αφορά στην πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων δεν υπάρχουν κατάλληλα σχεδιασμένες μελέτες (D' Aiuto και συν. 2013). Σε μία μόνο μελέτη, στην οποία εξετάστηκε η επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στη μελλοντική εμφάνιση εμφράγματος ή εγκεφαλικού δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ της πειραματικής ομάδας και της ομάδας ελέγχου (Beck και συν. 2008).

Το πάχος του μέσω έσω χιτώνα των καρωτίδων είναι δείκτης υποκλινικής αθηροσκλήρωσης και συσχετίζεται με τη περιοδοντίτιδα (Beck και συν. 2001, Cairo και συν. 2008, Vieira και συν. 2011). Στη μόνη μελέτη που εξετάζει την επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στο πάχος του μέσου-έσω χιτώνα,

βρέθηκε ότι το πάχος μειώθηκε 6 και 12 μήνες μετά τη θεραπεία (Piconi και συν. 2009).

#### Επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στους δείκτες φλεγμονής

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα για την επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στα επίπεδα των λευκοκυττάρων είναι αντικρουόμενα. Έτσι, ενώ σε αρκετές κλινικές μελέτες δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των λευκοκυττάρων 3-4 μήνες μετά τη περιοδοντική θεραπεία (Christgau και συν. 1998, Montebugnoli και συν. 2005, Seinost και συν. 2005, Marcaccini και συν. 2009, Graziani και συν. 2010, Taylor και συν. 2010, Siribamrungwong and Puangranngam 2012), σε παρόμοιες κλινικές μελέτες οι ερευνητές κατέγραψαν στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των λευκοκυττάρων 1-6 μήνες μετά την περιοδοντική θεραπεία (Christan και συν. 2002, Fokkema και συν. 2003, D' Aiuto και συν. 2006, Tonetti και συν. 2007, Hussain Bokhari και συν. 2009, Piconi και συν. 2009, Rastoni και συν. 2012).

Σχετικά με τις πρωτεΐνες οξείας φάσης (CRP, ινωδογόνο, αμυλοειδές A), τα ευρήματα των μελετών για το ινωδογόνο και το αμυλοειδές A είναι αντικρουόμενα και δεν είναι δυνατόν να εξαχθεί σαφές συμπέρασμα (D' Aiuto και συν. 2013), ενώ περισσότερο τεκμηριωμένα αποτελέσματα υπάρχουν για την CRP. Πιο συγκεκριμένα, για τη CRP παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα της στον ορό μειώνονται στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τα αρχικά επίπεδα 3-6 μήνες μετά τη θεραπεία (Ioannidou και συν. 2006, Paraskevas και συν. 2008, Higashi και συν. 2009).

Επίσης, ετερογένεια παρατηρείται στα αποτελέσματα των μελετών για την επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στις ιντερλευκίνες και τον

TNF-α. Υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που δείχνουν ότι τα επίπεδα της IL-6 δεν επηρεάζονται από την περιοδοντική θεραπεία (Ide και συν. 2003, D' Aiuto και συν. 2005, Tonetti και συν. 2007, Higashi και συν. 2008, 2009, Vidal και συν. 2009, Sun και συν. 2011, D' Aiuto και συν. 2013), άλλα που καταγράφουν σημαντική μείωση των επιπέδων της IL-18 μετά τη θεραπεία, αλλά όχι των IL-1β, -4, -5, -6, -8, -10 (Buhlin και συν. 2009), και άλλα που δεν αναδεικνύουν διαφορά μετά τη θεραπεία για καμία IL (Lalla και συν. 2007, Pischon και συν. 2007, Correa και συν. 2010). Σχετικά με τον TNF-α τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα (Iwamoto και συν. 2001, 2003, Ide και συν. 2003, Lalla και συν. 2007, Kallio και συν. 2008, Buhlin και συν. 2009, Correa και συν. 2010, Duarte και συν. 2010, Fentoglu και συν. 2011, Sun και συν. 2011, Chen και συν. 2012) και δεν είναι δυνατόν να εξαχθεί κάποιο συμπέρασμα για την μακροπρόθεσμη επίδραση της περιοδοντικής θεραπείας (D' Aiuto και συν. 2013).

## **B. ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΕΣ A2**

### **ΟΡΙΣΜΟΣ**

Οι φωσφολιπάσες A2 (PLA2) είναι μία κατηγορία ενζύμων που εντοπίζονται τόσο ενδοκυττάρια όσο και εξωκυττάρια και καταλύουν την υδρόλυση του εστερικού δεσμού, στη θέση sn-2 των φωσφολιπιδίων, με αποτέλεσμα την παραγωγή ελεύθερων λιπαρών οξέων και λυσοφωσφολιπιδίων.

Τα προϊόντα υδρόλυσης μπορούν να δράσουν ως δεύτεροι αγγελιοφόροι ή να αποτελέσουν πρόδρομα μόρια για τη βιοσύνθεση διαφόρων τύπων βιοδραστικών λιπιδίων όπως οι προσταγλανδίνες (PG), τα οξειδωμένα λιπαρά οξέα, τα λευκοτριένια (LT), τα θρομβοξάνια (THX) και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Gora και συν 2009).

### **ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΩΝ (PLA2)**

Οι φωσφολιπάσες ταξινομούνται αδρά σε κυτταροπλασματικές και εκκριτικές.

#### **I. ΚΥΤΟΣΟΛΙΚΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΕΣ A2 (CPLA2)**

Στις κυτοσολικές φωσφολιπάσες περιλαμβάνεται μία εξαρτώμενη από το  $Ca^{2+}$  PLA2 που περιγράφεται και ως ομάδα IV (GIV PLA2) και μία ανεξάρτητη από το  $Ca^{2+}$  που περιγράφεται ως GVI. Η από το  $Ca^{2+}$  εξαρτώμενη κυτοσολική φωσφολιπάση είναι κυρίως υπεύθυνη για την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος (AA), το πρόδρομο μόριο των PG, LT και THX από τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών (Clark και συν. 1991, Kramer και συν. 1991, Lin και συν 1993, Dennis 1994).

## II. ΕΚΚΡΙΤΙΚΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΕΣ (sPLA2)

Οι εκκριτικές φωσφολιπάσες έχουν ανιχνευτεί στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα σε δήγματα μελισσών και στο δηλητήριο των φιδιών και σε αυτές αποδίδεται η τοξικότητά τους. Στον άνθρωπο, ανιχνεύτηκαν στο παγκρεατικό υγρό πριν το 1986 (Verheij και συν. 1981, Seilhamer και συν. 1986) και το 1989 ανιχνεύτηκαν σε εκκριτικά κοκκία των αιμοπεταλίων και άλλων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Αυξημένα επίπεδα sPLA2s ανιχνεύονται σε φλεγμαίνουσες περιοχές όπως στο αρθρικό υγρό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα (Komada και συν. 1989, Kramer και συν. 1989, Seilhamer και συν. 1989). Σήμερα, στον άνθρωπο είναι γνωστές 10 ισομορφές εκκριτικών φωσφολιπασών και κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Dennis σε IB, IIA, IIC, V, X, IID, IIE, IIF, III και XII (Dennis 1994).

Για πολλά χρόνια η δράση που αποδιδόταν στις sPLA2 ήταν η μέσω της ενζυμικής τους δράσης υδρόλυση των φωσφολιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών και η απελευθέρωση AA, πρόδρομου μορίου των προσταγλανδινών, λευκοτριενίων και θρομβοξανών, μορίων με ισχυρή προφλεγμονώδη δράση. Ωστόσο, σύμφωνα με νεώτερες μελέτες το AA αποτελεί και πρόδρομο μόριο των λιποξινών, μορίων που εμπλέκονται στην λύση της φλεγμονώδους διεργασίας.

Όμως σχετικά πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι οι sPLA2 εκτός από την ενζυμική τους δραστηριότητα είναι και σηματοδοτικά μόρια και μέσω σύνδεσής τους με μόρια-στόχους των κυτταρικών μεμβρανών ασκούν ένα μεγάλο αριθμό δράσεων. Από τα μέχρι σήμερα πειραματικά δεδομένα φαίνεται ότι παρουσιάζουν βακτηριοστατική δράση, επάγουν την έκφραση των κυτοκινών (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ), αυξάνουν την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών, εμπλέκονται στο σχηματισμό και

την ωρίμανση του φαγοσώματος στα PMNs, αυξάνουν την παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, συνδέουν την μη ειδική με την ειδική ανοσία προάγοντας την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων και την διαφοροποίηση των μονοκυττάρων και εμπλέκονται στην ανάπτυξη αθηρωματικών πλακών μέσω της δράσης τους στο επίπεδο της LDL (Murakami και συν. 2011).

<b>Πίνακας 2. Ταξινόμηση των PLA2 (Τροποποιημένος από Kudo και Murakami 2002)</b>				
<b>Οικογένεια</b>	<b>Ισομορφές</b>	<b>Άλλες ονομασίες</b>	<b>Μέγεθος (kDa)</b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>
<b>sPLA2</b>	<b>IB</b>	<b>Παγκρεατική</b>	<b>14</b>	<b>+</b>
	<b>IIA</b>	<b>Φλεγμονώδης</b>	<b>14</b>	<b>+</b>
	<b>IIC</b>		<b>15</b>	<b>+</b>
	<b>IID</b>		<b>14</b>	<b>+</b>
	<b>IIE</b>		<b>14</b>	<b>+</b>
	<b>IIF</b>		<b>16</b>	<b>+</b>
	<b>V</b>		<b>14</b>	<b>+</b>
	<b>X</b>		<b>14</b>	<b>+</b>
	<b>III</b>		<b>55</b>	<b>+</b>
	<b>XII</b>		<b>19</b>	<b>+</b>
<b>cPLA2</b>	<b>IVA</b>	<b>cPLA2<math>\alpha</math></b>	<b>85</b>	<b>+</b>
	<b>IVB</b>	<b>cPLA2<math>\beta</math></b>	<b>110</b>	<b>+</b>
	<b>IVC</b>	<b>cPLA2<math>\gamma</math></b>	<b>60</b>	<b>-</b>
<b>iPLA2</b>	<b>VIA</b>	<b>iPLA2<math>\beta</math></b>	<b>85-88</b>	<b>-</b>



	<b>VIB</b>	<b>iPLA2γ</b>	<b>90</b>	<b>-</b>
<b>Lp-PLA2</b>	<b>VIIA</b>	<b>Lp-PLA2 ορού</b>	<b>45</b>	<b>-</b>
	<b>VIIIB</b>	<b>Lp-PLA2-II</b>	<b>40</b>	<b>-</b>
	<b>VIIIA</b>	<b>Lp-PLA2-Iα1</b>	<b>30</b>	<b>-</b>
	<b>VIIIB</b>	<b>Lp-PLA2-Iα2</b>	<b>30</b>	<b>-</b>

### Έκφραση των sPLA2

Η **sPLA2-IB** συντίθεται στα παγκρεατικά κύτταρα και εκκρίνεται στο παγκρεατικό υγρό (Verheij 1981). Σε δίαιτα πλούσια σε λιπαρά ο ρόλος της sPLA2IB στην απορρόφηση των λιπιδίων, την ανάπτυξη παχυσαρκίας και ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη λόγω παχυσαρκίας, φαίνεται να είναι καθοριστικός (Huggins και συν. 2002). Σε ανιχνεύσιμες ποσότητες εκφράζεται και σε άλλα όργανα όπως στους πνεύμονες, τους νεφρούς και το σπλήνα (Hara και συν. 1995, Tojo και συν. 1998).

Η **sPLA2-IIA** χαρακτηρίζεται σαν φλεγμονώδης εκκριτική φωσφολιπάση. Εκφράζεται σε διάφορους ανθρώπινους ιστούς όπως στο σπλήνα, τον θύμος, τις αμυγδαλές, τον μυελό των οστών (Kramer και συν. 1989, Seilhamer και συν. 1989), τα κύτταρα Paneth στο γαστρεντερικό σύστημα (Harwig και συν. 1995, Qi και συν. 1996) και τα κύτταρα Kupfer στο ήπαρ (Inada και συν. 1991, Hatch και συν. 1993) και σχετίζεται με την ανοσολογική απάντηση. Φλεγμονώδη κύτταρα όπως τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα, τα μαστοκύτταρα και τα αιμοπετάλια αποθηκεύουν στα εκκριτικά τους κοκκία sPLA2-IIA και έπειτα από ενεργοποίηση, την απελευθερώνουν (Horigome και συν. 1987, Kramer και συν. 1989, Wright και συν.

1990, Murakami και συν. 1992). Μεγάλες ποσότητες sPLA2-IIA ανιχνεύονται στο εξίδρωμα φλεγμονωδών διεργασιών (Kramer και συν. 1989, Seilhamer και συν. 1989, Pruzanski και συν. 1991, Kudo και συν. 1993, Minami και συν. 1994, Murakami και συν. 1997). Τα ερεθίσματα τα οποία είναι δυνατόν να προκαλέσουν την έκφραση της sPLA2-IIA μπορεί να είναι η IL-1 και IL-6, ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF), λιποπολυσακχαρίτες (LPS), η ιντερφερόνη- $\gamma$ , εστέρες φορβόλης και παράγοντες οι οποίοι αυξάνουν τα επίπεδα του cAMP (Nakano και συν. 1990, Crowl και συν. 1991, Oka και συν. 1991, Murakami και συν. 1993, Suga και συν. 1993, Pfeilschifter και συν. 1993, Kuwata και συν. 1998, Tada και συν. 1998, Kuwata και συν. 1999, Couturier και συν. 1999, Kuwata και συν. 2000, Peilot και συν. 2000, Akiba και συν. 2001). Αντίθετα, τα αντιφλεγμονώδη γλυκοκορτικοειδή είναι ισχυροί αναστολείς της έκφρασης της sPLA2-IIA (Nakano και συν. 1990, Schalkwijk και συν. 1993, Minami και συν. 1994). Ο τροποποιητικός αυξητικός παράγοντας  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), η IL-10, ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PDGF) και ο αυξητικός παράγοντας ο προσομοιάζων στην ινσουλίνη (IGF-1) μειώνουν την έκφραση της sPLA2-IIA (Muhl και συν. 1991, Schalkwijk και συν. 1992, Peilot και συν. 2002). Η αλλαγή στην έκφραση της sPLA2-IIA συνοδεύεται από αλλαγή στην έκφραση των COX-2 και την παραγωγή των προσταγλανδινών. Επομένως, η εντόπιση της sPLA2-IIA και οι μεταβολές στην έκφρασή της μετά από συγκεκριμένα ερεθίσματα συνηγορούν στο ότι η sPLA2-IIA εμπλέκεται στις φλεγμονώδεις διεργασίες και στην ανοσολογική απάντηση. Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί για την έκφρασή της διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο κυττάρων (Kudo και Murakami 2002).

Η **sPLA2-IIC** εκφράζεται στους όρχεις τρωκτικών και ίσως να παίζει κάποιο ρόλο στη σπερματογένεση (Chen και συν 1994). Στον άνθρωπο δεν φαίνεται να εκφράζεται ως λειτουργική πρωτεΐνη (Tischfield 1997).

Η **sPLA2-IIID** εκφράζεται σε όργανα του ανοσοποιητικού συστήματος όπως ο σπλήνας και ο θύμος αλλά και του πεπτικού όπως το κόλον (Ishizaki και συν. 1999, Valentin και συν. 1999). Έχει βρεθεί ότι η προσθήκη LPS σε ποντίκια αύξησε την έκφραση της sPLA2-IIID (Ishizaki και συν. 1999).

Η **sPLA2-IIIE** εκφράζεται στους πνεύμονες (Valentin και συν. 1999). Σε ποντίκια η χορήγηση LPS αύξησε την έκφραση της sPLA2-IIIE σε πολλούς ιστούς (Suzuki και συν. 2000).

Η **sPLA2-IIIF** έχει ανιχνευτεί στο θύμο, την καρδιά, τους νεφρούς, το ήπαρ και τον προστάτη (Valentin και συν. 2000). Σε ποντίκια, η χορήγηση LPS αύξησε την έκφραση της sPLA2-IIIF σε πολλούς ιστούς (Murakami και συν. 2002).

Η **sPLA2-V** εκφράζεται σε αρκετούς ιστούς στον άνθρωπο, μεταξύ των οποίων μεγαλύτερη είναι η έκφραση στην καρδιά (Chen και συν. 1994). Η sPLA2-V έχει βρεθεί σε διάφορα κύτταρα του ανοσοποιητικού όπως μακροφάγα (Balboa και συν. 1996, Reddy και συν. 1997, Balsinde και συν. 1998, Balsinde και συν. 1999, Shinohara και συν. 1999), Th2-βοηθητικά λεμφοκύτταρα (Ho και συν. 2001), μαστοκύτταρα (Reddy και συν. 1997, Sawada και συν. 1999). Στα κύτταρα αυτά η έκφραση της sPLA2-V ήταν αυξημένη μετά από φλεγμονώδη και ανοσολογικά ερεθίσματα. Έχει βρεθεί ότι η έκφραση της sPLA2-V είναι αυξημένη σε ασθένειες όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου και άλλες φλεγμονώδεις παθήσεις (Kudo και Murakami 2002).

Η **sPLA2-X** εκφράζεται σε όργανα του πεπτικού συστήματος όπως στο παχύ έντερο και το στομάχι, στο επιθήλιο των πνευμόνων, στους όρχεις, στο σπλήνα, στο θύμο και τα λευκοκύτταρα (Cupillard και συν. 1997). Η έκφραση της sPLA2-X φαίνεται να είναι αυξημένη σε κάποιες μορφές καρκίνου του παχέος εντέρου (Morioka και συν. 2000) και σε νόσους των πνευμόνων, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις η έκφρασή της φαίνεται να μην μεταβάλλεται από προφλεγμονώδη ερεθίσματα (Kudo και Murakami 2002).

Η **sPLA2-III** εκφράζεται στους νεφρούς, την καρδιά, το ήπαρ και τους σκελετικούς μύες (Valentin και συν. 2000). Δεν είναι σαφές αν η έκφρασή της μεταβάλλεται παρουσία κάποιων ερεθισμάτων (Kudo και Murakami 2002).

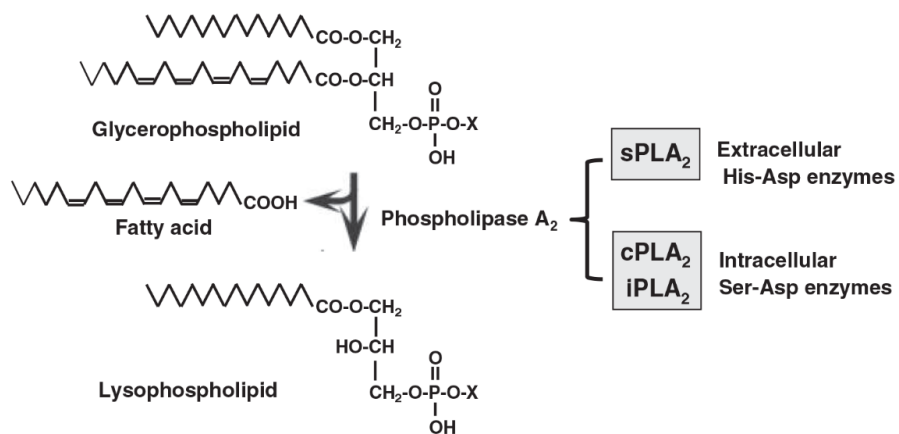
Η **sPLA2-XII** εκφράζεται στην καρδιά, τους σκελετικούς μύες, τους νεφρούς και το πάγκρεας (Valentin και συν. 2000). Επίσης, μικρότερη έκφρασή της παρατηρείται και σε διάφορους άλλους ιστούς (Gelb και συν. 2000). Από πειράματα σε ποντίκια φαίνεται ότι η συγκεκριμένη ισομορφή είναι πιθανό να συμμετέχει στην ανοσολογική απάντηση μέσω της έκφρασής της στα Th2 βοηθητικά λεμφοκύτταρα (Kudo και Murakami 2002).

## **Δράσεις των sPLA2**

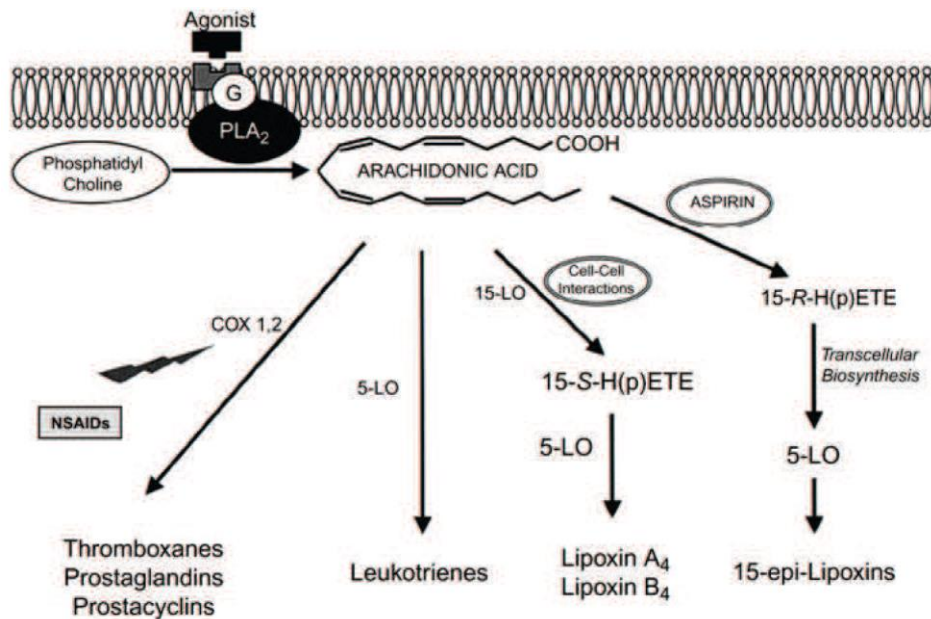
### **1. Απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και παραγωγή εικοσανοειδών**

Πολυάριθμες *in vitro* αλλά και *in vivo* μελέτες έχουν δείξει ότι αρκετές ισομορφές sPLA2 έχουν την ικανότητα να απελευθερώνουν AA από τις κυτταρικές μεμβράνες οδηγώντας στην παραγωγή εικοσανοειδών (προσταγλανδίνες, θρομβοξάνες και λευκοτριένια) (Σχήμα 4, 5). Η δυναμική αυτή της δράσης είναι διαφορετική για τις διάφορες ισομορφές, με τις ισομορφές X και V να

παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη δραστικότητα (X>V>III>IIF>IIA>IB>IID>IIE>XIIA). Η υψηλή ικανότητα των ισομορφών X και V να απελευθερώνουν AA σχετίζεται με την ικανότητα τους να υδρολύουν φωσφοτιδιλοχολίνη, ένα βασικό φωσφολιπίδιο στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (Murakami και συν. 1998, Murakami και συν. 1999, Bezzine και συν. 2000, Murakami και συν. 2001, Murakami και συν. 2003).



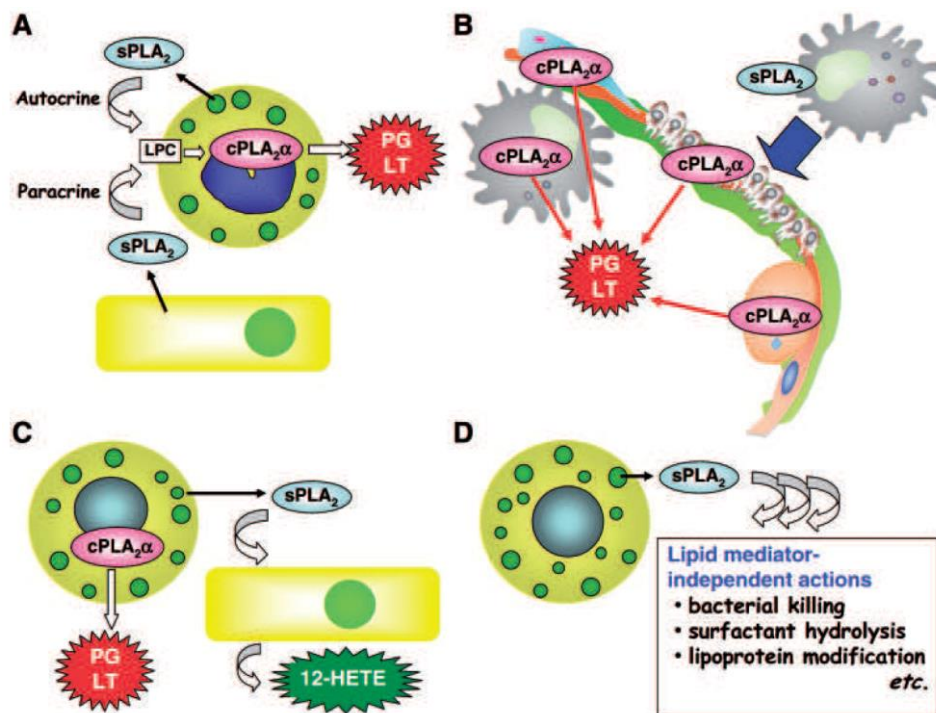
**Σχήμα 4.** Διάσπαση των φωσφολιπιδίων από τις sPLA<sub>2</sub> (Πηγή: Van Dyke 2008)



**Σχήμα 5.** Απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και παραγωγή εικοσανοειδών (Πηγή: Van Dyke 2008)

Παρόλο που από τα παραπάνω φαίνεται ότι οι φωσφολιπάσες συμμετέχουν στα βιοσυνθετικά μονοπάτια των λιπιδίων, η άμεση επίδραση στην απελευθέρωση AA δεν φαίνεται να είναι τόσο σημαντική όσο των κυτοσολικών φωσφολιπασών. Από τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα φαίνεται ότι εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των κυτοσολικών φωσφολιπασών. Οι sPLA2 μετά από σύνδεση σε μόρια-στόχους της πλασματικής μεμβράνης των κυττάρων εσωτερικεύονται, μεταφέρονται σε ενδοκυττάρια δεξαμενές φωσφολιπιδίων πλούσιων σε AA και εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των κυτοσολικών φωσφολιπασών για αυξημένη απελευθέρωση AA και αυξημένη σύνθεση προσταγλανδινών και λευκοτριενίων (Granata και συν. 2003). Η εμπλοκή τους στην ενεργοποίηση των κυτοσολικών φωσφολιπασών ίσως έχει ρυθμιστικό ρόλο σε κατάσταση νόσου. Οι εκκριτικές φωσφολιπάσες δρουν και ανεξάρτητα από τις κυτοσολικές σε φωσφολιπιδικές

δομές εκτός κυττάρου (Kim και συν. 2002, Kiwada και συν. 2007, Lai και συν. 2010, Murakami και συν. 2011) (Σχήμα 6).



**Σχήμα 6.** Δράσεις των sPLA<sub>2</sub> με ή χωρίς την εμπλοκή των cPLA<sub>2</sub> (Πηγή: Murakami και συν. 2011)

## 2. Αντιμικροβιακή δράση

Οι sPLA<sub>2</sub> επιδεικνύουν ισχυρή βακτηριοκτόνο δράση και συμβάλλουν στην ισχυρή αντιβακτηριακή ικανότητα του εξιδρώματος των ιστών (Touqui και Alaoui-EI-Azher 2001, Niessen και συν. 2003, Dubouix και συν. 2003). Η ικανότητα πρόσβασης στη βακτηριακή μεμβράνη είναι διαφορετική για κάθε ισομορφή με την ισομορφή sPLA<sub>2</sub> IIA να εμφανίζει τη μεγαλύτερη δραστηριότητα (Foreman-Wykert και συν. 1999, Singer και συν. 2002, Kondouri και συν. 2002, Nevalainen και συν. 2008). Η σχετική ισχύς της βακτηριοκτόνου δράσης ανάμεσα στις διαφορετικές ισομορφές

των sPLA2 συμβαδίζει με την ικανότητα κάθε μίας να αποικοδομεί τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης του βακτηρίου.

Μελέτες σε ανθρώπινες sPLA2 έχουν δείξει ότι η δράση έναντι των Gram+ μικροβίων μειώνεται κατά σειρά στις διάφορες ισομορφές (IIA, X, V, XII, IIE, IB, IIF), ενώ μόνο η ανθρώπινη sPLA2-XII παρουσιάζει βακτηριοκτόνο δράση έναντι του Gram- βακτηρίου *E.coli* (Konduri και συν. 2002). Η sPLA2-IIA εμφανίζει βακτηριοκτόνο δράση στα Gram- μικρόβια όταν δρα συνεργιστικά με την πρωτεΐνη αύξησης της βακτηριακής διαπερατότητας που παράγεται από τα ουδετερόφιλα (Buckland και Wilton 2000, Konduri και συν. 2002, Jaross και συν. 2002). Η αντιβακτηριακή δράση έναντι των Gram- μικροβίων φαίνεται να προϋποθέτει και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος (Dubouix και συν. 2003).

Χαρακτηριστικό των sPLA2 είναι ότι δεν υδρολύουν φωσφολιπίδια της εξωτερικής στιβάδας της πλασματικής μεμβράνης φυσιολογικών κυττάρων αλλά έχουν την ικανότητα να υδρολύουν τις εξωτερικές στιβάδες της πλασματικής μεμβράνης τραυματισμένων κυττάρων και κυττάρων που έχουν υποστεί νέκρωση ή απόπτωση (Hanasaki και συν. 1997, Kuwata και συν. 1999, Jaross και συν. 2002, Hack και Niessen 2002, Niessen και συν. 2003).

Αυξημένη συγκέντρωση sPLA2-IIA έχει βρεθεί στα δάκρυα, τον εντερικό αυλό, σε φλεγμονώδη εξιδρώματα, σε βρογχοκυψελιδικές εκκρίσεις και στον ορό ασθενών με βακτηριακές λοιμώξεις. Η παρουσία της sPLA2-IIA σε στρατηγικές θέσεις δείχνει ότι το ένζυμο αυτό εμπλέκεται στην εγγενή ανοσιακή απόκριση για την αντιμετώπιση βακτηριακών λοιμώξεων (Harwig και συν. 1995, Saari και συν. 2001, Nevalainen και συν. 2005).



Η ισομορφή sPLA2-V εμφανίζει δράση κατά των μυκήτων διευκολύνοντας την φαγοκυττάρωσή τους από τα μακροφάγα. Επειδή εκφράζεται στα κυψελιδικά μακροφάγα και στα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα των αεροφόρων και ουροποιητικών οδών όπου συχνά εμφανίζονται λοιμώξεις από μύκητες σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς, είναι πιθανό το ένζυμο αυτό να συμβάλει στην πρώτη γραμμή της εγγενούς ανοσίας κατά των μυκήτων (Murakami και συν. 2011).

Επίσης, *in vitro*, οι sPLA2-III, -V και -X είναι ικανές να καταστείλουν την είσοδο των ιών στα κύτταρα του ανοσοποιητικού μέσω της λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (Lyso-PC) που παράγεται μέσω της ενζυμικής τους δράσης (Mitsuishi και συν. 2006, Mitsuishi και συν. 2007). Επιπλέον, αρκετές φωσφολιπάσες *in vitro* αναπτύσσουν ανθελονοσιακή δράση μέσω της υδρόλυσης λιπιδίων του ορού (Guillaume και συν. 2004). Όμως χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να διευκρινιστούν πλήρως οι αντικοικοί και αντιπαρασιτικοί ρόλοι των sPLA2.

### **3. Άλλες προφλεγμονώδεις δράσεις**

#### **3.α. Επίδραση των sPLA2s στα φλεγμονώδη κύτταρα**

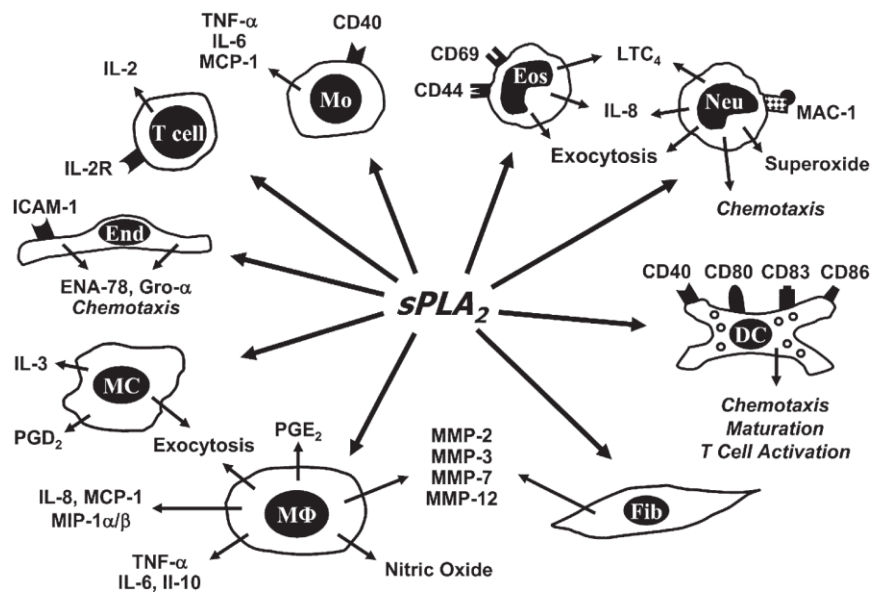
Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι sPLA2s επιδρώντας στις φωσφολιπιδικές μεμβράνες απελευθερώνουν αραχιδονικό οξύ. Ταυτόχρονα απελευθερώνονται και λυσοφωσφολιπίδια. Τα μόρια αυτά αποτελούν υπόστρωμα για τη σύνθεση του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων ο οποίος αποτελεί ισχυρό προφλεγμονώδες μόριο (Graler και Goetzl 2002). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι sPLA2s συμβάλλουν στη σύνθεση λιπιδικών μεσολαβητών σε φλεγμονώδη κύτταρα όπως τα μαστοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα ηωσινόφιλα (Triggiani και συν. 2006).

Επίσης, οι sPLA2s εμφανίζουν δράσεις που εμπλέκονται στην έναρξη και τη ρύθμιση των φλεγμονωδών και ανοσολογικών απαντήσεων (Σχήμα 7). Μπορούν να προκαλέσουν αποκοκκίωση των ουδετερόφιλων, των μαστοκυττάρων, των ηωσινόφιλων και να ενεργοποιήσουν την εξωκυττάρωση στα μακροφάγα (Murakami και συν. 1993, Takasaki και συν. 1996, Triggiani και συν. 2000). Οι sPLA-IIA προκαλούν τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε δενδριτικά κύτταρα συνδέοντας τη μη ειδική με την ειδική ανοσία (Mancoso και Peters Golden 2000, Ibeas και συν. 2009).

Αρκετές φλεγμονώδεις νόσοι στις οποίες οι sPLA2s αυξάνονται στο πλάσμα και τα βιολογικά υγρά, συσχετίζονται με μεγάλη αύξηση της συγκέντρωσης των κυτοκινών (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10) (Granata και συν. 2005) και των χημοκινών. Η αύξηση των κυτοκινών μετά από επίδραση των sPLA2 δεν συσχετίζεται με την ενζυμική τους δράση αλλά είναι αποτέλεσμα της σύνδεσης των sPLA2 σε ειδικούς στόχους των κυτταροπλασματικών μεμβρανών (πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαρίνης, M-υποδοχείς, N-υποδοχείς στο ΚΝΣ ή υποδοχείς μανόζης) των κυττάρων-στόχων (Granata και συν. 2005, Triggiani και συν. 2005). Από αυτές τις παρατηρήσεις μπορεί να υποτεθεί ότι οι sPLA2s είναι πιθανό να εμπλέκονται στην παραγωγή και τη ρύθμιση των προφλεγμονωδών κυτοκινών και χημοκινών.

Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα, οι sPLA2 αυξάνουν την παραγωγή και τη δραστικότητα των MMPs στα κύτταρα-στόχους. Η ομάδα -IB αυξάνει τη δραστηριότητα της MMP-2 και μειώνει τα επίπεδα του αναστολέα της (TIMP-2) σε ινοβλάστες ποντικών (Choi και συν. 2004). Η ομάδα-IA προκαλεί την έκφραση των MMP-3, MMP-7 και MMP-12 σε ανθρώπινα μακροφάγα των πνευμόνων (Triggiani και συν. 2006). Μελέτη *in vitro* σε αρθρικούς ινοβλάστες

έδειξε ότι η μείωση της παραγωγής και δραστικότητας της sPLA2-IIA μείωσε τη παραγωγή των μεταλλοπρωτεϊνών (Thwin και συν. 2009). Επίσης, σε άλλη μελέτη σε μεσεγχυματικά κύτταρα από φυτά, τα αυξημένα επίπεδα των sPLA2 ενίσχυαν την αποδόμηση του κολλαγόνου από τη MMP-9 (Choi 2009).



**Σχήμα 7.** Δράσεις των sPLA2 στα φλεγμονώδη κύτταρα (Πηγή: Triggiani και συν. 2006)

### 3.β. sPLA2s και φλεγμονώδη νοσήματα

Υψηλά επίπεδα sPLA2 ανιχνεύονται σε φλεγμαίνουσες καταστάσεις. Τα επίπεδά τους στον ορό και τους ιστούς έχουν συσχετιστεί με τη βαρύτητα αρκετών φλεγμονωδών νόσων όπως της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, του σηπτικού σοκ, της

ψωρίασης, της νόσου του Crohn καθώς και αναπνευστικών νόσων (Murakami και συν. 2011).

#### Νόσοι του αναπνευστικού

- Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας

Η νόσος αυτή οφείλεται σε μη φυσιολογική υδρόλυση του επιφανειοδραστικού παράγοντα των πνευμόνων (Ohtsuki και συν. 2006). Στους πνεύμονες εκφράζονται οι sPLA2-V και -X. Η sPLA2-V εκφράζεται στο βρογχικό επιθήλιο και στα κυψελιδικά μακροφάγα και η -X στα επιθηλιακά κύτταρα της αναπνευστικής οδού (Masuda και συν. 2005, Munoz και συν. 2007, Hallstrand και συν. 2007). *In vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι οι V και X ισομορφές φαίνεται να εμπλέκονται στην υδρόλυση του επιφανειοδραστικού παράγοντα (Seeds και συν. 2000).

- Άσθμα

Το άσθμα οφείλεται σε φλεγμονή των αεραγωγών. Όπως και στο σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας και οι δυο ισομορφές -V και -X φαίνεται να εμπλέκονται στην εκδήλωση του άσθματος.

Η ισομορφή -V εμπλέκεται στο άσθμα με δύο μηχανισμούς. Ο πρώτος αφορά στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και επομένως στη ρύθμιση της ανοσιακής απόκρισης των Th2 κυττάρων. Ο δεύτερος αφορά στα κύτταρα της αναπνευστικής οδού, καθώς το συγκεκριμένο ένζυμο προάγει τις φλεγμονώδεις διεργασίες αυτών των κυττάρων (πιθανόν αποδομώντας τον επιφανειοδραστικό παράγοντα) (Murakami και συν. 2011).

Η ισομορφή -X η οποία εκκρίνεται από τα επιθηλιακά κύτταρα της αεροφόρου οδού φαίνεται να δρα με παρακρινή τρόπο σε λευκοκύτταρα όπως τα

ηωσινόφιλα και έτσι να ενισχύει την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος μέσω της cPLA2α (Lai και συν. 2010).

### Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

Η ισομορφή -IIA εμφανίζει υψηλά επίπεδα έκφρασης στα αρθρικά κύτταρα και τα χονδροκύτταρα αρθρώσεων ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα σε σχέση με υγιή άτομα (Seilhamer και συν. 1989, Pruzanski και Vadas 1991). Από πειράματα σε ποντίκια έχει δειχθεί ο προφλεγμονώδης ρόλος της -IIA στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (Boilard και συν. 2010). Όμως παρόλο που στην παθολογία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας περιλαμβάνονται οι προσταγλανδίνες και τα λευκοτριένια δεν είναι σαφές εάν η -IIA συμμετέχει στη σύνθεση αυτών των εικοσανοειδών ή δρα μέσω άλλων μηχανισμών στις αρθρώσεις (McCoy και συν. 2002, Honda και συν. 2006, Kim και συν. 2006, Mathis και συν. 2010).

Σε αντίθεση με τη -IIA, η -V έχει βρεθεί ότι έχει αντιφλεγμονώδη ρόλο στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Η παρουσία της ενισχύει τη φαγοκυττάρωση των ανοσοσυμπλεγμάτων από τα μακροφάγα (Murakami και συν. 2011).

### Μυοκαρδιακή βλάβη

Η sPLA2-X βρίσκεται στα κοκκία των ουδετερόφιλων αλλά όχι στα κύτταρα του μυοκαρδίου (Degousee και συν. 2002, Fujioka και συν. 2008). Στην περιοχή του εμφράγματος η -X απελευθερώνεται από τα ουδετερόφιλα και ασκεί καταστροφική δράση στα κύτταρα του μυοκαρδίου. Πιθανός μηχανισμός για αυτή την δράση είναι η παραγωγή LTB4 και η αναπνευστική έκρηξη.

H -V εκφράζεται στην καρδιά και τα επίπεδά της αυξάνονται στις περιοχές που έχουν υποστεί βλάβη (Masuda και συν. 2005). Η έκφρασή της οδηγεί στην απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και την παραγωγή LTB<sub>4</sub> και TXA<sub>2</sub> (εικοσανοειδών με καταστροφική επίδραση στο μυοκάρδιο) (Xiao και συν. 2001, Yano και συν. 2011).

#### **4. Αντιφλεγμονώδης δράση**

Η δυνατότητα των sPLA<sub>2</sub> να απελευθερώνουν ω-3 λιπαρά οξέα (όπως EPA και DHA) τους δίνει ένα εν δυνάμει αντιφλεγμονώδη ρόλο. Από τα ω-3 λιπαρά οξέα παράγονται μόρια όπως οι ρεσολβίνες και οι προτεκτίνες τα οποία έχουν παρόμοιες ιδιότητες με τις λιποξίνες και ενεργοποιούν διαδικασίες για τη λύση της φλεγμονής (Van dyke 2008).

Γονιδιακά τροποποιημένα μακροφάγα που υπερεκφράζουν την X ισομορφή παράγουν αντιφλεγμονώδη IL-10 και λιγότερο προφλεγμονώδη TNF-α σε σχέση με τα μη τροποποιημένα κύτταρα (Curfs και συν. 2008). Η -X είναι πιθανό να ευνοεί την διαφοροποίηση των μακροφάγων προς τον M2 φαινότυπο. Ο M2 φαινότυπος προάγει την εξάλειψη της φλεγμονής και την αποκατάσταση των ιστών (Odegaard και συν. 2008, Kang και συν. 2008, Namgaladze και συν. 2010).

Η sPLA<sub>2</sub>-IID είναι το πιο κοντινό ομόλογο της IIA και εκφράζεται στο σπλήνα και τους λεμφαδένες (Ishizaki και συν. 1999). Η ισομορφή αυτή φαίνεται ότι είναι εν δυνάμει μεσολαβητής για τη λειτουργία των T-ρυθμιστικών (Treg) κυττάρων. *In vitro*, η sPLA<sub>2</sub>-IID κατέστειλε τον πολλαπλασιασμό των CD4 και CD8 T-κυττάρων και ενίσχυσε τη διαφοροποίηση των Treg κυττάρων (von Allmen και συν. 2009).

## 5. Αθηροσκλήρωση

Η αυξημένη δραστικότητα των sPLA2 αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Επίσης, οι ισομορφές IIA, III, V, X έχουν ανιχνευτεί σε αθηρωματικές βλάβες (Gora και συν. 2009).

Στα λιπίδια της εξωτερικής στιβάδας της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL) και χαμηλής πυκνότητας (LDL) περιλαμβάνονται φωσφολιπίδια τα οποία αποτελούν υπόστρωμα για τη δράση αρκετών ισομορφών των φωσφολιπασών. *In vitro*, η υδρολυτική ικανότητα των sPLA2 για τις LDL και HDL είναι  $X > V > III > IIF > IIA > IIE$  (Sato και συν. 2008). Παρόλο που η δραστικότητα της IIA στις λιποπρωτεΐνες φαίνεται να είναι σχετικά ασθενής σε σχέση με τις άλλες ισομορφές, μπορεί να υδρολύσει στην οξεία φλεγμονώδη απάντηση την HDL πιο αποτελεσματικά σε σχέση με την υδρόλυση σε φυσιολογικές συνθήκες (Pruzanski και συν. 1998). Κλινικά, αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα sPLA2-IIA είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Η LDL φυσιολογικά περνά στον υποενδοθηλιακό χώρο είτε μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων, είτε με διακυττάρωση. Στον έσω χιτώνα, η LDL συνδέεται με πρωτεογλυκάνες της θεμέλιας ουσίας, γεγονός που παρατείνει το χρόνο παραμονής της LDL στον υποενδοθηλιακό χώρο, καθιστώντάς την περισσότερο ευάλωτη στην προ-αθηρογόνο οξειδωτική τροποποίηση. Η οξείδωση της LDL αποτελεί ένα από τα σημαντικά γεγονότα για την έναρξη της αθηρωματικής βλάβης αλλά και για την εξέλιξή της από πρώιμη σε προχωρημένη.

Το μέγεθος των δομών της LDL δεν είναι ενιαίο αλλά ποικίλλει με τις μικρές και και πυκνές LDL να είναι πιο αθηρογόνες λόγω της αυξημένης διαπερατότητας του ενδοθηλίου σε αυτές, της αποτελεσματικότερης αλληλεπίδρασης με τις πρωτεογλυκάνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και συνεπώς της μεγαλύτερης

παραμονής τους στον υποενδοθηλιακό χώρο και της αυξημένης οξειδωτικής τροποποίησής τους (Kugiyama και συν. 1999, Mallat και συν. 2005).

Η υδρόλυση της LDL από τις sPLA2s οδηγεί στο σχηματισμό των προ-αθηρογόνων μικρών και πυκνών δομών της LDL οι οποίες έχουν αυξημένη τάση για συνάθροιση, γεγονός που αυξάνει ακόμη περισσότερο την προ-αθηρογόνο δράση τους (Murakami και Kudo 2003, Webb 2005). Αρκετές ισομορφές sPLA2 έχουν ανιχνευτεί σε αθηρωματικές πλάκες (Sato και συν. 2008, Kimura-Matsumoto και συν. 2008). Ειδικότερα, οι ισομορφές sPLA2-III, -V και -X έχει δειχθεί ότι διευκολύνουν το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων από τα μακροφάγα, στοιχείο το οποίο είναι χαρακτηριστικό των αθηροσκληρωτικών διεργασιών (Sato και συν. 2008).

## **6. Δράση σε υποδοχείς**

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν περιγραφεί μεμβρανικοί υποδοχείς και διαλυτές πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με τις sPLA2. Μελέτες των διαφορετικών δράσεων των sPLA2s, οι οποίες που δεν ερμηνεύονται βάσει της ενζυμικής τους δραστηριότητας, δείχνουν ότι περισσότερο λειτουργούν σαν προσδέτες (Lambeau και Gelb 2008).

## **7. Εξωκυττάρωση**

Από αρκετές μελέτες προκύπτει ότι οι sPLA2-II συμμετέχουν στη διαδικασία της εξωκυττάρωσης στα μαστοκύτταρα και στα κύτταρα χρωμαφίνης της μυελώδους μοίρας των επινεφριδίων (Matsuzawa και συν. 1996). Οι -IIA αποθηκεύονται σε κοκκία σε μη ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα και αθροίζονται σε



περιοχές στις οποίες γίνεται η σύντηξη των κοκκίων με την κυτταροπλασματική μεμβράνη σε ενεργοποιημένα κύτταρα (Enomoto και συν. 2000). Όταν ενεργοποιηθεί το κύτταρο για εξωκυττάρωση, τα ένζυμα αυτά υδρολύουν ένα μικρό τμήμα της μεμβράνης διευκολύνοντας τη σύντηξη (Karli και συν. 1990).

## **8. Αντιπηκτική δράση**

Η -IIA είναι δυνατό να έχει αντιπηκτική δράση μέσω 3 μηχανισμών: α) συνδέεται με τον παράγοντα πήξης Χα και τον καθιστά ανενεργό (Mounier και συν. 1996, Mounier και συν. 1998, Mounier και συν. 2000), β) αποδομεί τη φωσφατιδυλοσερίνη (PS), η οποία είναι βασικό συστατικό του συμπλέγματος προθρομβινάσης και έτσι καταστέλλει τη σύνθεση του συμπλέγματος (Fourcade και συν. 1995, Yokoyama και συν. 1995), και γ) προάγει την παραγωγή προστακυκλίνης, μίας αντιθρομβωτικής προσταγλανδίνης (Murakami και συν. 1993). Η -X επιμηκύνει το χρόνο πήξης μόνο λόγω υδρόλυσης της PS και όχι λόγω αλληλεπίδρασης με τον παράγοντα Χα (Mounier και συν. 2000).

## **9. Άλλες δράσεις**

### **Καρκίνος**

Από μελέτες σε πειραματόζωα και σε ανθρώπους φαίνεται ότι η sPLA2-IIA συμβάλλει στην αντοχή έναντι του καρκίνου του γαστρεντερικού (Cormier και συν. 1997, Leung και συν. 2000). Ως πιθανός μηχανισμός αναφέρεται ότι η sPLA2-IIA στο γαστρεντερικό είναι δυνατόν να αλλάζει τη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου λόγω της αντιμικροβιακής της δράσης και έτσι να προστατεύει από την ανάπτυξη όγκων.

Όμως σε άλλους ιστούς, η sPLA2-IIA μπορεί να έχει προκαρκινικές ιδιότητες, όπως στο καρκίνο του προστάτη (Dong και συν. 2006, Mirtti και συν. 2009).

Σε αρκετές μορφές καρκίνου στον άνθρωπο, η sPLA2-III εντοπίζεται σε μικροαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα όγκων (Murakami και συν. 2005). Επίσης, η sPLA2-III μπορεί να είναι ένας καλός υποψήφιος βιολογικός δείκτης για το καρκίνο του παχέος εντέρου (Mounier και συν. 2008).

### **Δέρμα**

Από μελέτες σε πειραματόζωα φαίνεται ότι η sPLA2-X συμβάλλει στην ομοιόσταση των τριχών μέσα στο θύλακα της τρίχας (Muller-Decker και συν. 2002, Yamamoto και συν. 2011).

### **Αναπαραγωγή**

Στα ανδρικά αναπαραγωγικά όργανα έχουν ανιχνευτεί οι sPLA2-IIA, -IIF, -IID, -III, -V, -X (Masuda και συν. 2004). Η -IIA φαίνεται ότι λειτουργεί σαν αντιμικροβιακός παράγοντας (Takayama και συν. 1991, Kallajoki και συν. 1998). Οι ισομορφές -III και -X εμπλέκονται στην ωρίμανση και τις λειτουργίες του σπέρματος (Sato και συν. 2010, Escoffier και συν. 2010).

### **Νευρώνες**

Η εντόπιση της sPLA2-X στους νευρώνες αρκετών περιφερικών ιστών ίσως να δείχνει ότι το ένζυμο αυτό ανάλογα με τον ιστό στον οποίο εντοπίζεται συμμετέχει στην ομοιόσταση του (Masuda και συν. 2005, Surrel και συν. 2009). Επίσης, και η sPLA2-III εκφράζεται στους νευρώνες. Σε καλλιέργεια νευρικών κυττάρων, η υπερέκφραση της sPLA2-III ευνοούσε την ανάπτυξη και την επιβίωση των νευρώνων (Masuda και συν. 2008).

## **Πέψη των φωσφολιπιδίων της τροφής**

Οι sPLA2s εμπλέκονται στην πέψη των λιπιδίων της τροφής (Carey και συν. 1983). Για μεγάλο χρονικό διάστημα πίστευαν ότι η sPLA2-IB είχε αυτό το ρόλο (Wilson και συν. 2006). Αργότερα, βρέθηκε ότι συμμετέχει και δεύτερο ένζυμο σε αυτή τη διαδικασία, η sPLA2-X (Sato και συν. 2011). Επομένως, οι δύο αυτές φωσφολιπάσες υδρολύουν τα φωσφολιπίδια των τροφών συμβάλλοντας έτσι στη διαδικασία της πέψης τους (Murakami και Kudo 2002).

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ sPLA2s ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ**

### **Ερευνητικά δεδομένα για τη σχέση των sPLA2 με την περιοδοντίτιδα**

Τα δημοσιευμένα ερευνητικά δεδομένα που αφορούν στην σχέση των sPLA2 και περιοδοντίτιδας είναι περιορισμένα στην διεθνή βιβλιογραφία.

Στη μελέτη τους οι Ishida και συν. (1994), εξέτασαν τη δραστικότητα sPLA2 στο ουλικό υγρό ασθενών με περιοδοντίτιδα. Στα σημεία τα οποία ήταν θετικά στην αιμορραγία στην ανίχνευση (BOP+), η sPLA2 δραστικότητα βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με σημεία που ήταν αρνητικά στην αιμορραγία στην ανίχνευση.

Τα μέχρι τώρα πειραματικά δεδομένα σε σχέση με τις sPLA2 έδειξαν ότι τα επίπεδα δραστικότητας των sPLA2 είναι σημαντικά υψηλότερα στο ουλικό υγρό συστηματικά υγιών ατόμων με περιοδοντίτιδα συγκριτικά με τα επίπεδα που βρέθηκαν σε άτομα συστηματικά και περιοδοντικά υγιή. Μετά από SDS ηλεκτροφόρηση, βρέθηκε ότι το μοριακό βάρος του υπό διερεύνηση μορίου με δραστικότητα sPLA2 είναι 14 kDa, αντίστοιχο με αυτό των εκκριτικών φωσφολιπασών A2 με ισχυρή προφλεγμονώδη δράση. Η ταυτοποίηση των

ισομορφών στο ουλικό υγρό έδειξε ότι πρόκειται για τις ισομορφές sPLA2-IIA και sPLA2-V των οποίων η έκφραση αυξάνεται με τη βαρύτητα της περιοδοντικής νόσου, ενώ η ισομορφή sPLA2 -X φαίνεται να εκφράζεται στους υγιείς περιοδοντικούς ιστούς και να μειώνεται όσο αυξάνεται η βαρύτητα της περιοδοντικής νόσου (Kororouli και συν 2005; Markakis και συν. 2006).

### **Επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στις sPLA2**

Οι Ishida και συν. (1994) στην κλινική τους μελέτη σε ασθενείς με περιοδοντίτιδα σύγκριναν την δραστικότητα των sPLA2 στο ουλικό υγρό πριν και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία. Τα ευρήματά τους έδειξαν ότι η δραστικότητα των sPLA2 μειώθηκε σημαντικά στα σημεία που ενώ ήταν θετικά στην αιμορραγία κατά την ανίχνευση πριν τη θεραπεία έγιναν αρνητικά μετά την ολοκλήρωσή της. Αντίθετα, τα σημεία που εξακολούθησαν μετά τη θεραπεία να είναι θετικά στην αιμορραγία στην ανίχνευση δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της δραστικότητας των sPLA2.

### **III. ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΗ ΜΕ ΤΙΣ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΦΩΣΦΟΛΙΠΑΣΗ A2 (Lp-PLA2)**

#### **ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

Στα μέσα της δεκαετίας του '90 ταυτοποιήθηκε μία άλλη κατηγορία sPLA2s που ονομάστηκαν αρχικά ακετυλοϋδρολάσες του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF-AH). Αυξημένη δραστικότητα αυτού του ενζύμου (PAF-AH) ανιχνεύεται στο πλάσμα, στα περισσότερα εξωκυττάρια υγρά αλλά και σε ιστούς (Ho και συν. 1999, Memon και συν. 1999, McMullen και συν. 2000, Arai και συν. 2002, Arai 2002). Το ένζυμο αυτό κυκλοφορεί στο πλάσμα συνδεδεμένο με τις

λιποπρωτεΐνες και γι'αυτό η νεότερη ονομασία του είναι συνδεδεμένη με τις λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) (Stafforini και συν. 1987, Stafforini και συν. 1987). Σε μεγαλύτερη αναλογία συνδέεται με την LDL ( $\approx 80\%$ ), ενώ ένα μικρότερο μέρος είναι συνδεδεμένο με την HDL ( $\approx 20\%$ ) (Stafforini και συν. 1987, Steinbrecher και Pritchard 1989, Tselepis και Charman 2002).

Η Lp-PLA2 παράγεται κυρίως από τα μακροφάγα αλλά και από τα ουδετερόφιλα, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τα μαστοκύτταρα (Hakkinen και συν. 1999, Tselepis και Charman 2002, Rosenson και Stafforini 2012).

## **ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ Lp-PLA2**

### **1. Υδρόλυση του PAF**

Ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) είναι ένας ισχυρός μεσολαβητής της φλεγμονής που παράγεται από ενεργοποιημένα προφλεγμονώδη κύτταρα όπως αιμοπετάλια, ουδετερόφιλα, λευκοκύτταρα, λεμφοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα (Memon και συν. 1999, Yost και συν. 2010). Η Lp-PLA2 υδρολύει τον PAF στην θέση sn-2 και τον μετατρέπει σε αδρανή lyso-PAF. Με τη δράση της αυτή η Lp-PLA2 εκδηλώνει αντιφλεγμονώδη δράση (Tselepis και Charman 2002).

### **2. Υδρόλυση οξειδωμένων φωσφολιπιδίων**

Η Lp-PLA2 εκτός από τον PAF υδρολύει οξειδωμένα φωσφολιπίδια με μικρή αλυσίδα ατόμων άνθρακα στην sn-2 θέση. Τα φωσφολιπίδια αυτά έχουν παρόμοια δομή με τον PAF, σχηματίζονται κατά τις φλεγμονώδεις διεργασίες, δρουν μέσω των

υποδοχέων του PAF και μιμούνται τη δράση του (Wardlow και συν. 1986, Stremier και συν. 1989, Stremier και συν. 1991).

Κατά την υδρόλυση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων προκύπτουν λυσοφωσφολιπίδια με κύριο προϊόν τη λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη και μικρού μοριακού βάρους προϊόντα που είναι κατάλοιπα της sn-2 θέσης που αποκόπτεται. Η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη που αποτελεί και ένα από τα κύρια προϊόντα της οξειδωτικής τροποποίησης της LDL (Steinbrecher και Pritchard 1989), αλλά και γενικότερα τα λυσο-λιπίδια σε μεγάλες ποσότητες ασκούν τοξική δράση στα κύτταρα, διότι παρεμβάλλονται στις κυτταρικές μεμβράνες και τις καταστρέφουν. Η λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη παρουσιάζει και πλήθος άλλων προφλεγμονωδών δράσεων όπως αύξηση των δραστικών ενώσεων οξυγόνου, αύξηση στην έκφραση των μορίων προσκόλλησης, αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου, παραγωγή MMPs, επαγωγή απόπτωσης, παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών, χημοκινών, επαγωγή αυξητικών παραγόντων (Chisolm και συν. 2000, Kougias και συν. 2006, Schmitz και Ruebsaamen 2010).

#### **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ LP-PLA2 ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ**

Η Lp-PLA2 αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, ανεξάρτητο από τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου (Sudhir 2006, Garza και συν. 2007, Anderson 2008, Daniels και συν. 2008, Rosenson 2010, Colley και συν. 2011, Erps και Wilensky 2011). Τα επίπεδα δραστικότητας της Lp-PLA2 είναι ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης επεισοδίων στεφανιαίας νόσου. Ο δείκτης αυτός είναι ισχυρότερος και πιο ειδικός δείκτης φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος από ότι η CRP (Anderson 2008, Daniels και συν. 2008, Erps και Wilensky 2011).

Σε ασθενείς χωρίς στεφανιαία νόσο ή κάποιο καρδιαγγειακό σύμβαμα, υψηλά επίπεδα Lp-PLA2 συσχετίστηκαν με μελλοντική εμφάνιση στεφανιαίας νόσου ή αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου (Packard και συν. 2000, Ballantyne και συν. 2004, Blake και συν. 2004, Winkler και συν. 2004, Koenig και συν. 2004, Oei και συν. 2005, Persson και συν. 2007, Daniels και συν. 2008, Kim και συν. 2008, Persson και συν. 2008, Raichlin και συν. 2008, Hou και συν. 2009, Tsimikas και συν. 2009, Caslake και συν. 2010, Hatoum και συν. 2010, Jenny και συν. 2010). Ασθενείς που είχαν υποστεί οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο και παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα Lp-PLA2 εμφάνισαν αυξημένη πιθανότητα για νέο επεισόδιο είτε άμεσα είτε αργότερα (Corsetti και συν. 2006, Gerber και συν. 2006, Koenig και συν. 2006, May και συν. 2006, O'Donoghue και συν. 2006, Sabatine και συν. 2007, Winkler και συν. 2007, Robins και συν. 2008, Elkind και συν. 2009).

### **Lp-PLA2 και αθηροσκλήρωση**

Πολλές ερευνητικές μελέτες έχουν δείξει την παρουσία Lp-PLA2 σε αθηρωματικές πλάκες. Σε πιο ευάλωτες αθηρωματικές πλάκες εντοπίζονται υψηλότερες συγκεντρώσεις του ενζύμου (Kolodgie και συν. 2006, Lerman και McConnell 2008, Sarlon-Bartoli και συν. 2012). Η παρουσία της Lp-PLA2 στις αθηρωματικές βλάβες οφείλεται κατά κύριο λόγο στην τοπική παραγωγή της από τα μακροφάγα και δευτερευόντως στην παρουσία λιποπρωτεϊνών (Hakkinen και συν. 1999).

Η υδρόλυση της οξειδωμένης φωσφατιδυλοχολίνης από την Lp-PLA2 έχει σαν προϊόν τη λυσοφωσφατιδυλοχολίνη και αποτελεί σημαντικό χαρακτηριστικό της οξειδωτικής τροποποίησης της LDL. Η οξείδωση της LDL αποτελεί ένα από τα

σημαντικά γεγονότα για την έναρξη της αθηρωματικής βλάβης αλλά και για την εξέλιξη της από πρώιμη σε προχωρημένη.

Η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη βρίσκεται σε μικρή ποσότητα στη μη οξειδωμένη LDL. Στην οξειδωμένη LDL(oxLDL) η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη αυξάνεται και αποτελεί σημαντικό συστατικό. Η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη εμπλέκεται με πολλούς τρόπους στην παθογένεση της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος και την αθηροσκλήρωση (Chisolm και Chai 2000, Koungias και συν. 2006, Schmitz και Ruebsaamen 2010).

## **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ LP-PLA2 ΜΕ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΙΚΗ ΝΟΣΟ**

### **Ερευνητικά δεδομένα για τη σχέση της Lp-PLA2 με την περιοδοντίτιδα**

Στην μελέτη των Baltas και συν. (1996) συγκρίθηκαν τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό περιοδοντικών ασθενών και υγιών μαρτύρων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επίπεδα της Lp-PLA2 ήταν σημαντικά υψηλότερα στους περιοδοντικούς ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς.

Οι Rufail και συν. (2005) στη μελέτη τους, σύγκριναν τη δραστικότητα της Lp-PLA2 στον ορό ασθενών με γενικευμένη επιθετική περιοδοντίτιδα και υγιών ατόμων και βρήκαν ότι δεν υπήρχε διαφορά στη δραστικότητα του ενζύμου μεταξύ των δύο ομάδων. Όμως στους περιοδοντικούς ασθενείς καταγράφηκαν υψηλότερα επίπεδα λιποπρωτεϊνών LDL και VLDL γεγονός που οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι ασθενείς αυτοί είναι δυνατόν να εμφανίζουν ένα περισσότερο αθηρογόνο λιπιδαιμικό profil με τάση για αθηροσκλήρωση.

Σύμφωνα με τους Fentoglu και συν. (2011), σε υπερλιπιδαιμικά άτομα τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό συσχετίζονται με το βάθος των θυλάκων, τον ουλικό



δείκτη και την αιμορραγία στην ανίχνευση. Οι ασθενείς με υπερλιπιδαιμία και ουλίτιδα είχαν υψηλότερα επίπεδα Lp-PLA2 στον ορό σε σχέση με εκείνους που είχαν ουλίτιδα αλλά ήταν συστηματικά υγιείς.

Στην μελέτη των Zhou και συν. (2012), τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε ασθενείς με περιοδοντίτιδα τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με αυτά ατόμων συστηματικά και περιοδοντικά υγιών. Επίσης, βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της Lp-PLA2 στον ορό και της αιμορραγίας στην ανίχνευση.

#### **Επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στην Lp-PLA2**

Οι Losche και συν. (2005), σε ασθενείς με χρόνια γενικευμένη περιοδοντίτιδα μέσης ή προχωρημένης βαρύτητας, εξέτασαν τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό πριν και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία. Βρήκαν ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό του αίματος των ασθενών. Σύμφωνα με τους Keles και συν. (2013), σε ασθενείς με χρόνια γενικευμένη προχωρημένη περιοδοντίτιδα η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό.

## Γ. ΟΥΛΙΚΟ ΥΓΡΟ

Το ουλικό υγρό είναι ένα ορώδες εξίδρωμα το οποίο βρίσκεται στην ουλοδοντική σχισμή και προέρχεται από τους περιοδοντικούς ιστούς. Περιέχει στοιχεία που προέρχονται κυρίως από τα μικρά αγγεία, τον μεσοκυττάριο χώρο και το κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Η πηγή των υπόλοιπων συστατικών του είναι ο ορός, ο συνδετικός ιστός, το επιθήλιο, τα φλεγμονώδη κύτταρα και τα μικρόβια που αποικίζουν του περιβάλλοντες ιστούς (Lamster 1997). Η σύνθεση και αναλογία των συστατικών στοιχείων του ουλικού υγρού απεικονίζει το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του μικροβιακού υμενίου των οδοντικών επιφανειών και των κυττάρων των περιοδοντικών ιστών, ενώ η ανάλυση συγκεκριμένων συστατικών του είναι δυνατόν να οδηγήσει στην αξιολόγηση της περιοδοντικής κατάστασης ενός ατόμου (Champagne και συν. 2003).

Η ουλίτιδα χαρακτηρίζεται από την παρουσία των ουδετερόφιλων και στο ουλικό υγρό επικρατούν κυρίως μεσολαβητές ουδετερόφιλων. Οι μεσολαβητές αυτοί είναι τα λευκοτριένια B<sub>4</sub>, ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, οι θρομβοξάνες B<sub>2</sub>, η IL-1β, οι ελαστάσες και οι κολλαγενάσες (Heasman και συν. 1993, Gonzales και συν. 2001, Schierano και συν. 2008). Αντίθετα, χαμηλά είναι τα επίπεδα του TNF-α στο ουλικό υγρό (Schierano και συν. 2008). Στην περιοδοντίτιδα, στο ουλικό υγρό κυριαρχούν τα στοιχεία της χρόνιας φλεγμονώδους απάντησης και επομένως ανιχνεύονται κυτοκίνες και προϊόντα αποδόμησης του κολλαγόνου όπως υδροξυπρολίνη και τελοπεπτίδια του τύπου I κολλαγόνου (Giannobile 1999).

Αρκετές κλινικές μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της προσταγλανδίνης E<sub>2</sub> στο ουλικό υγρό περιοδοντικών ασθενών ήταν υψηλότερα συγκριτικά με τα επίπεδα που μετρήθηκαν σε υγιή άτομα ή σε ασθενείς με ουλίτιδα (Tsai και συν. 1998,

Preshaw και συν. 1999). Επιπλέον, φάνηκε ότι η περιοδοντική θεραπεία είναι δυνατόν να μειώσει τα επίπεδα της προσταγλανδίνης E2 στο ουλικό υγρό των ασθενών (Alexander και συν. 1996, Preshaw και συν. 1999, Leibur και συν. 1999).

Ανάλογα ευρήματα για την IL-1 υπάρχουν στην βιβλιογραφία. Τα επίπεδα της IL-1 ήταν σημαντικά υψηλότερα στο ουλικό υγρό των περιοδοντικών ασθενών σε σχέση με τους ασθενείς με ουλίτιδα ή τα περιοδοντικά υγιή άτομα (Ertugrul και συν. 2013). Επίσης, έχει βρεθεί συσχέτιση αυξημένων επιπέδων IL-1 και φλεγμονής των ούλων όπως και βαρύτητας της περιοδοντικής νόσου (Masada και συν. 1990, Liu και συν. 1996, Mogi και συν. 1999).

Οι Payne και συν. (2013) στη μελέτη τους βρήκαν ότι τα μονοκύτταρα του αίματος από περιοδοντικούς ασθενείς παράγαν υψηλότερα επίπεδα PGE2 σε σύγκριση με εκείνα από υγιείς ασθενείς. Όσο αυξανόταν η βαρύτητα της νόσου αυξάνονταν και τα επίπεδα της PGE2. Από το εύρημα αυτό θα μπορούσε να υποτεθεί ότι ίσως τα επίπεδα των μεσολαβητών της φλεγμονής στο ουλικό υγρό αντικατοπτρίζουν τη συνολική δυνατότητα του ασθενούς να παράγει μεσολαβητές της φλεγμονής.

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

Σύμφωνα με όσα έχουν ήδη αναπτυχθεί στο γενικό μέρος φαίνεται ότι δεν υπάρχουν αρκετά ερευνητικά δεδομένα για τη δραστικότητα των sPLA2 στους περιοδοντικούς ιστούς κατά τις φλεγμονώδεις διεργασίες καθώς και για το εάν τα επίπεδα των sPLA2 στον ορό θα μπορούσαν να επηρεαστούν από την περιοδοντική κατάσταση. Ακόμη, περιορισμένα είναι τα ερευνητικά δεδομένα και για την πιθανή επίδραση που θα μπορούσε να έχει η περιοδοντική θεραπεία στα επίπεδα των sPLA2 τόσο τοπικά όσο και συστηματικά.

Σχετικά με την Lp-PLA2, αν και υπάρχουν περισσότερα δεδομένα στη διεθνή βιβλιογραφία συγκριτικά με τις sPLA2, οι κλινικές μελέτες είναι περιορισμένες και με αρκετά προβλήματα στο σχεδιασμό ώστε να δυσχεραίνεται η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Επίσης, δεν υπάρχει μελέτη που να διερευνά τη δραστικότητα της Lp-PLA2 μετά την περιοδοντική θεραπεία ταυτόχρονα στο ουλικό υγρό και στον ορό.

## **ΣΚΟΠΟΣ**

Σκοπός της παρούσας κλινικής μελέτης είναι:

- να προσδιοριστεί η δραστικότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό του αίματος ασθενών με προχωρημένη περιοδοντίτιδα καθώς και υγιών μαρτύρων
- να διερευνηθεί η επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στη δραστικότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό των περιοδοντικών ασθενών

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### Πληθυσμιακό δείγμα, σχεδιασμός της μελέτης

Πρόκειται για μία πιλοτική κλινική μελέτη ασθενών-μαρτύρων για την οποία επιλέχθηκαν 10 άτομα με χρόνια περιοδοντίτιδα προχωρημένης βαρύτητας και 10 περιοδοντικώς υγιή άτομα σε αντιστοίχιση ως προς την ηλικία. Όλοι οι εθελοντές-συμμετέχοντες προήλθαν από τη Μεταπτυχιακή Κλινική της Περιοδοντολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και αφού ενημερώθηκαν λεπτομερώς για τον σκοπό και τα στάδια της μελέτης υπέγραψαν το σχετικό έντυπο συγκατάθεσης. Η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με τους όρους της διακήρυξης του Ελσίνκι αλλά και της επιτροπής δεοντολογίας της Οδοντιατρικής σχολής ΕΚΠΑ.

Επιλέχθηκαν άτομα ηλικίας  $\geq 35$  ετών, με καλή γενική υγεία και μη καπνιστές. Αποκλείστηκαν άτομα από την μελέτη τα οποία εμφάνιζαν μία από τις παρακάτω καταστάσεις: σακχαρώδη διαβήτη, ηπατική ή νεφρική δυσλειτουργία, καρδιαγγειακά νοσήματα, υπερλιπιδαιμία, λήψη φαρμάκων που προκαλούν διόγκωση των ούλων (φαινυντοΐνη, κυκλοσπορίνη, ανταγωνιστές ιόντων ασβεστίου), αυτοάνοσα νοσήματα ή νοσήματα που καταστέλλουν το ανοσολογικό σύστημα ή λήψη ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, ανάγκη χημειοπροφύλαξης κατά την περιοδοντική θεραπεία, λήψη αντιφλεγμονωδών, αντιβιοτικών ή αντιπηκτικών φαρμάκων τους προηγούμενους 3 μήνες, λήψη αντισυλληπτικών, εγκυμοσύνη ή θηλασμός, περιοδοντική θεραπεία τους τελευταίους 12 μήνες.

Ως προς την περιοδοντική κατάσταση, η επιλογή των ατόμων έγινε σύμφωνα με τα κλινικά και ακτινογραφικά κριτήρια που προτάθηκαν από το International World Workshop για την ταξινόμηση των περιοδοντικών νόσων (Armitage 1999).

### Ομάδα υγιών ατόμων

Τα περιοδοντικώς υγιή άτομα δεν εμφάνιζαν κλινική απώλεια πρόσφυσης στις όμορες περιοχές, το βάθος της ουλοδοντικής σχισμής ήταν  $\leq 3\text{mm}$  και ο ουλικός δείκτης αιμορραγίας σε όλο τον φραγμό  $< 10\%$ .

### Ομάδα ατόμων με περιοδοντίτιδα

Τα άτομα με χρόνια περιοδοντίτιδα προχωρημένης βαρύτητας παρουσίαζαν 4 τουλάχιστον μεσοδόντιες περιοχές με θυλάκους βάθους  $\geq 6\text{mm}$  και απώλεια πρόσφυσης  $\geq 6\text{mm}$ , σε 2 τουλάχιστον οπίσθια εκτημόρια. Ο ελάχιστος απαιτούμενος αριθμός δοντιών για όλα τα άτομα ήταν 16 δόντια.

### **Κλινική εξέταση και περιοδοντική θεραπεία**

Κατά την αρχική εξέταση, με σκοπό την επιλογή των ατόμων που θα συμμετείχαν στη μελέτη, γινόταν λεπτομερής καταγραφή των στοιχείων του ιατρικού ιστορικού και μία αρχική κλινική εξέταση του περιοδοντίου.

Το σύνολο των συνεδριών καθώς και η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε φαίνονται στο Σχήμα 8 και αναλυτικά περιγράφονται ακολούθως:

Κατά την 1<sup>η</sup> συνεδρία, γινόταν καταγραφή των περιοδοντικών κλινικών παραμέτρων, ο ακτινογραφικός έλεγχος και η αιμοληψία.

Κατά την 2<sup>η</sup> συνεδρία (7 ημέρες μετά), για τα περιοδοντικώς υγιή άτομα γινόταν η συλλογή του ουλικού υγρού ενώ για τους περιοδοντικούς ασθενείς επιπλέον γινόταν η αποτρύγωση των δοντιών και δινόταν οι οδηγίες στοματικής υγιεινής.

Κατά την 3<sup>η</sup> συνεδρία (7 ημέρες μετά), γινόταν ριζική απόξεση των δοντιών με θυλάκους, σε 2 τεταρτημόρια.

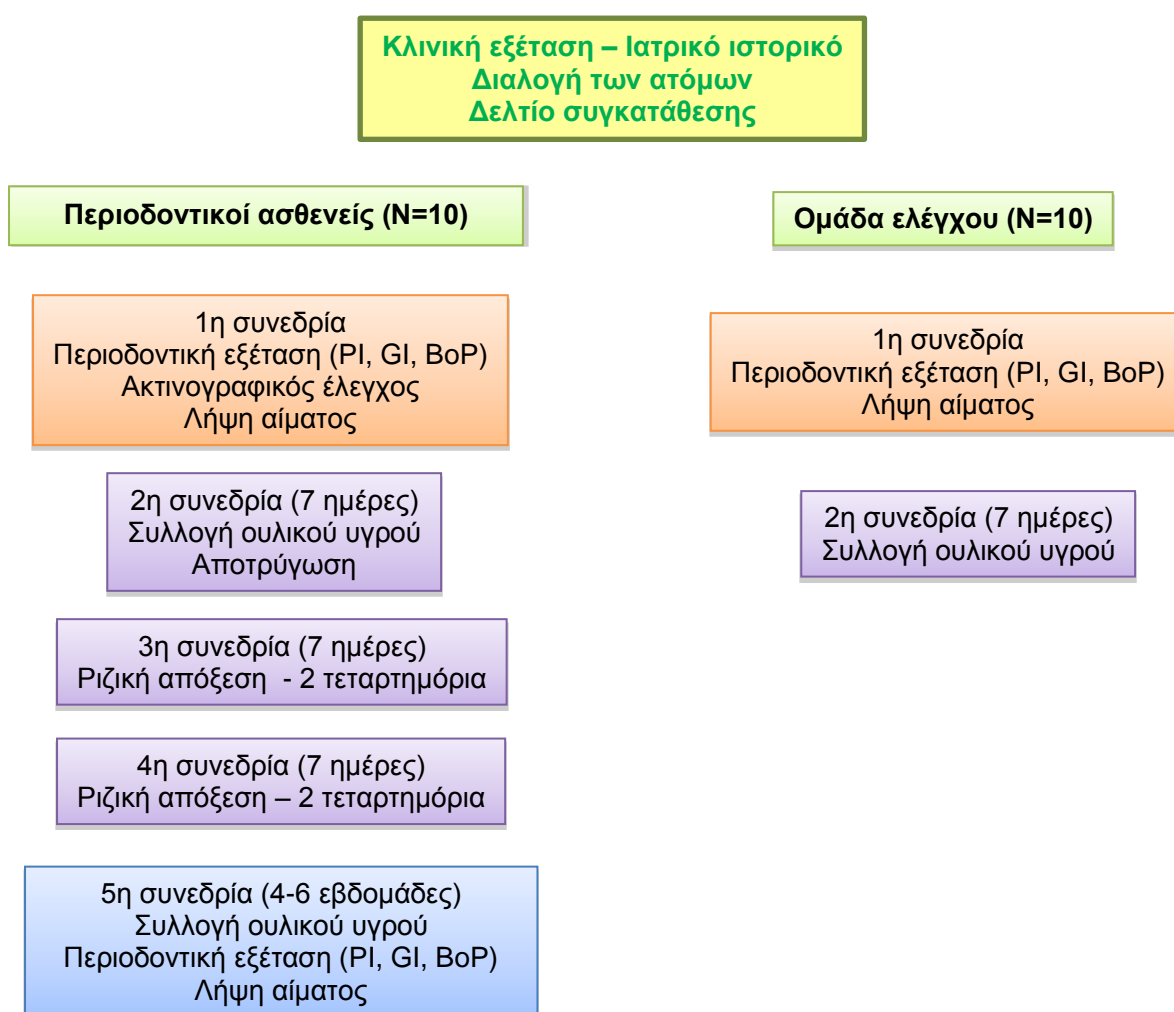
Κατά την 4<sup>η</sup> συνεδρία (7 ημέρες μετά), γινόταν η ριζική απόξεση στα υπόλοιπα 2 τεταρτημόρια.

Κατά την 5<sup>η</sup> συνεδρία (4-6 εβδομάδες μετά), γινόταν η ενημέρωση του ιατρικού ιστορικού, η συλλογή του ουλικού υγρού, η καταγραφή των κλινικών παραμέτρων και η αιμοληψία.

Κατά την κλινική εξέταση των περιοδοντικών ιστών σε κάθε άτομο έγινε λεπτομερής λήψη περιοδοντογράμματος. Αυτό περιελάμβανε την καταγραφή του δείκτη ελέγχου και καταγραφής της πλάκας κατά O'Leary (FMPS) (O'Leary και συν. 1972), του απλουστευμένου ουλικού δείκτη (GI-S) (Axelsson και Lindhe 1981) και της αιμορραγίας στην ανίχνευση (BOP) καθώς και καταγραφή του βάθους των θυλάκων (PD) και της κλινικής απώλειας πρόσφυσης (CAL). Οι μετρήσεις για τις παραμέτρους FMPS και GI-S έγιναν σε τέσσερα σημεία σε κάθε δόντι. Οι μετρήσεις για τις παραμέτρους BOP, PD, CAL έγιναν σε έξι σημεία σε κάθε δόντι. Μετρήσεις έγιναν σε όλα τα δόντια, συμπεριλαμβανομένων των τρίτων γομφίων. Όλες οι παραπάνω μετρήσεις σε όλα τα άτομα που συμμετείχαν στην μελέτη έγιναν από την ίδια ειδικευόμενη περιοδοντολόγο η οποία βαθμονομήθηκε (calibrated) για την επαναληψιμότητα των μετρήσεων της. Η βαθμονόμηση (calibration) έγινε πριν την έναρξη της μελέτης και περιελάμβανε την μέτρηση PD και CAL σε όλα τα δόντια (σύνολο 26 δόντια) του ιδίου ασθενή (ο οποίος δεν συμμετείχε στη μελέτη). Οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν με διαφορά 2 ωρών και διαπιστώθηκε το άριστο της επαναληψιμότητας ( $k > 0,86$ ) τόσο για PD όσο και για CAL. Όλα τα κλινικά περιοδοντολογικά δεδομένα καταχωρήθηκαν στα ειδικά για τη μελέτη αυτή δελτία καταγραφής ασθενών. Οι εξαγωγές των δοντιών με κακή πρόγνωση έγιναν στις συνεδρίες των ριζικών αποξέσεων. Η ριζική απόξεση έγινε με χρήση συσκευής



υπερήχων καθώς και εργαλείων χειρός υπό τοπική αναισθησία. Η περιοδοντική θεραπεία πραγματοποιήθηκε σε όλους τους ασθενείς από την ίδια περιοδοντολόγο.



**Σχήμα 8.** Διάγραμμα της μελέτης

## Λήψη ουλικού υγρού (GCF)

Στα υγιή περιοδοντικώς άτομα τα δείγματα του ουλικού υγρού συλλέχθηκαν από τις όμορες επιφάνειες των μονόρριζων δοντιών με ουλοδοντική σχισμή  $\leq 3\text{mm}$  και χωρίς αιμορραγία κατά την ανίχνευση. Στους περιοδοντικούς ασθενείς, αρχικά τα σημεία λήψης του ουλικού υγρού ήταν εκείνα με βάθος θυλάκων μεγαλύτερο ή ίσο των 6mm. Μετά τη θεραπεία η λήψη γινόταν από τα ίδια σημεία.

Η συλλογή του ουλικού υγρού πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια ταινιών απορροφητικού χάρτου Durapore (6mm x 2mm) (Εικ. 1, 2). Μετά την απομόνωση της περιοχής της δειγματοληψίας με τολύπια βάμβακος και την απομάκρυνση της υγρασίας με υπόθερμο αέρα, οι ταινίες χάρτου τοποθετούνταν στην ουλοδοντική σχισμή ή τους θυλάκους για ένα λεπτό. Αυτές που διαβρέχονταν με αίμα ή σάλιο εξαιρούνταν.



**Εικόνες 1, 2: Απορροφητικές ταινίες χάρτου για τη λήψη ουλικού υγρού**

Οι ταινίες με το ουλικό υγρό τοποθετούνταν σε πλαστικά φιαλίδια (Eppendorf) και αυτά σε δοχείο με πάγο. Τα δείγματα κατόπιν μεταφέρονταν στο Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών όπου φυλάσσονταν στους  $-80^{\circ}\text{C}$ .

## **Λήψη αίματος**

Οι αιμοληψίες έγιναν στο εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών από ειδικευμένο προσωπικό. Σε όλα τα άτομα που συμμετείχαν στην έρευνα πραγματοποιήθηκε αιμοληψία (10ml αίματος) στις προκαθορισμένες συνεδρίες, όπως αναλυτικά αναφέρθηκε. Πριν την αιμοληψία, η οποία γινόταν τις πρωινές ώρες, ζητήθηκε από τα άτομα διάστημα νηστείας 12 ωρών. Οι τιμές σακχάρου καθώς και το λιπιδαιμικό profile (ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL) προσδιορίζονταν άμεσα μετά την αιμοληψία στο βιοχημικό εργαστήριο της πειραματικής χειρουργικής. Σε περίπτωση μη φυσιολογικών τιμών τα άτομα αποκλείονταν από τη μελέτη.

Από το ληφθέν αίμα, απομονωνόταν ο ορός και μεταφερόταν για φύλαξη στους -80 °C, στο Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

## **Επεξεργασία δειγμάτων πριν τον προσδιορισμό της δραστικότητας sPLA2 και Lp-PLA2**

### **Ουλικό υγρό**

Οι ταινίες απορροφητικού χάρτου με το ουλικό υγρό εκχυλίζονται με 150 μl PBS. 50 μl από το εν λόγω εκχύλισμα χρησιμοποιούνται για την δοκιμασία της LpPLA2 και 10 μl για τον προσδιορισμό της sPLA2.

## Ορός

Σε φιαλίδια errendorff 10 μl πλάσματος αραιώνονται με 15 μl PBS και από το αραιωμένο διάλυμα παραλαμβάνονται 5 μl για τον προσδιορισμό της LpPLA2 και 10 μl για τον προσδιορισμό της sPLA2.

## **Προσδιορισμός δραστικότητας Lp-PLA2**

### Αρχή της μεθόδου

Η δραστικότητα της Lp-PLA2 προσδιορίζεται με τη μέτρηση των ραδιοσημασμένων οξεικών ομάδων που απελευθερώνονται κατά την υδρόλυση του υποστρώματος [3H]-PAF από το ένζυμο. Οι ομάδες αυτές παραμένουν στην άνω υδατομεθανολική φάση μετά από εκχύλιση κατά Folch, Lees, Stanley ενώ το ακέραιο μόριο του PAF εκχυλίζεται στην κάτω χλωροφορμική φάση.

### Αντιδραστήρια και όργανα

- [3H]PAF (1-O-palmityl-2-[3H acetyl]-sn-glycero-3-phosphocholine, 1-O-παλμιτυλο -2-[3H -ακέτυλο]sn-γλύκερο-3-φωσφοχολίνη) 0,25 mCi/5 mL, 10 Ci/mmole (5μM) (NewEngland Nuclear)
- PAF (1-O-palmityl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine, 1-O-παλμιτυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη) (M.B.: 541,7) (Sigma)
- Πλαστικοί σωλήνες από πολυπροπυλένιο των 5 mL
- Υδατόλουτρο υπερήχων (Elma, Transsonic Digital S)
- Ανακινούμενο υδατόλουτρο ρυθμιζόμενης θερμοκρασίας
- Πλαστικοί σωλήνες φυγοκέντρησης από πολυπροπυλένιο των 15 mL (Corning)
- Φυγόκεντρος πάγκου (ALC, International SRL PK 131R)

- Πλαστικά φιαλίδια όγκου 20 mL για μετρητή σπινθηρισμού υγρών
- Μετρητής σπινθηρισμού υγρών (Wallac 1209 Racbeta, Pharmacia) συνδεδεμένος με καταγραφέα (Facit B3100)

#### Διαλύματα εργασίας

- Διάλυμα 1 mM PAF. 1 mg PAF διαλύεται σε 1,846 mL CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1, v/v). Το διάλυμα διατηρείται στους -200C. Πυκνό διάλυμα [<sup>3</sup>H]PAF. 1 mL του αρχικού διαλύματος [<sup>3</sup>H]PAF σε αιθανόλη, 0,25 mCi/5 ml διαλύονται με προσθήκη αιθανόλης αναλυτικής καθαρότητας σε τελικό όγκο 2,5mL. Το διάλυμα που προκύπτει έχει περιεκτικότητα 10 μCi/mL και αποθηκεύεται σε αδιαφανές γυάλινο βιδωτό φιαλίδιο στους -200C.
- Διάλυμα 100 μM [<sup>3</sup>H]PAF. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται αμέσως πριν από κάθε πειραματικό προσδιορισμό δραστηριότητας Lp-PLA<sub>2</sub>. Η αναγκαία για το πείραμα ποσότητα διαλύματος 1 mM PAF τοποθετείται σε σωλήνα πολυπροπυλενίου των 5 ml. Για κάθε 100μl διαλύματος 1 mM PAF προστίθενται 15 μl πρότυπου διαλύματος [<sup>3</sup>H]PAF. Οι διαλύτες απομακρύνονται μέχρι ξηρού με ρεύμα N<sub>2</sub>. Στη συνέχεια τοποθετείται ποσότητα PBS pH 7,4 ώστε να προκύψει διάλυμα με τελική συγκέντρωση 100 μM PAF (για κάθε 10 μL αρχικής ποσότητας διαλύματος 1 mM PAF τοποθετούνται 100μL διαλύματος PBS pH 7,4). Ο σωλήνας πολυπροπυλενίου κλείνεται με πώμα και τοποθετείται σε υδατόλουτρο υπερήχων στους 370C για 15 min με ενδιάμεσο vortex. Στο τέλος της διαδικασίας ο PAF είναι πλήρως διαλυτοποιημένος με τη μορφή μικυλλίων.
- Υγρό σπινθηρισμού (dioxane base). Όπως περιγράφεται ανωτέρω.

### Πειραματική διαδικασία

Σε πλαστικούς σωλήνες από πολυπροπυλένιο των 5 mL τοποθετούνται 10 mL διαλύματος 10 mM [3H]PAF (1 nmole PAF). Εν συνεχεία τοποθετείται ποσότητα 5 - 10 mL του προς μέτρηση δείγματος το οποίο είναι γνωστής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (πλάσμα, εκχύλισμα ουλικού υγρού). Επίσης ετοιμάζεται και μάρτυρας στον οποίο τοποθετούνται 10 mL διαλύματος 10 mM [3H]PAF (1 nmole) χωρίς τοποθέτηση ενζυμικού παρασκευάσματος, και τυφλό στο οποίο δεν τοποθετείται ούτε ενζυμικό παρασκεύασμα ούτε [3H]PAF. Στο μάρτυρα και στο τυφλό τοποθετείται ίση ποσότητα με αυτή του δείγματος διαλύματος PBS pH 7,4. Ο όγκος σε όλα τα σωληνάρια (τυφλό, μάρτυρας και δείγματα) συμπληρώνεται έως τελικού όγκου 100 mL με PBS pH 7,4. Η τελική συγκέντρωση του PAF στο μάρτυρα και στα δείγματα είναι 10 μM. Σε κάθε πείραμα όλα τα σωληνάρια (τυφλό, μάρτυρας και δείγματα) προετοιμάζονται εις διπλούν. Τα σωληνάρια τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 37°C υπό ανάδευση για 5-10 min. Στο τέλος της επώασης η ενζυμική αντίδραση σταματά με την προσθήκη 1,5 mL CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1, v/v) που αποτελεί και το πρώτο βήμα για εκχύλιση κατά Folch, Lees, Stanley. Μετά από μεταφορά σε πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρησης από πολυπροπυλένιο των 15 mL συνεχίζεται η διαδικασία της εκχύλισης κατά Folch, Lees, Stanley (όπως περιγράφηκε παραπάνω) με την προσθήκη 0,75 mL CHCl<sub>3</sub> και ακολούθως 0,47 mL υδατικού διαλύματος 0,9% NaCl. Ο τελικός όγκος είναι 2,820 mL. Οι δύο φάσεις διαχωρίζονται πλήρως με φυγοκέντρηση σε 5.000xg, για 10 min, στους 4°C. Στην άνω φάση περιέχονται τα ραδιοσημασμένα μόρια οξικού που έχουν απελευθερωθεί με την υδρόλυση ενώ στην κάτω φάση περιέχονται τα ραδιοσημασμένα μόρια του PAF που δεν έχουν υδρολυθεί καθώς και τα μόρια

lysoPAF που έχουν προκύψει από την υδρόλυση και τα οποία δεν διαθέτουν πλέον τη ραδιοσημασμένη οξική ομάδα. Από τις δύο φάσεις λαμβάνονται ξεχωριστά από 0,5 mL τα οποία τοποθετούνται σε φιαλίδια μέτρησης β-ακτινοβολίας στα οποία τοποθετούνται 10 mL υγρού σπινθιρισμού και ακολουθεί vortex. Στην ποσότητα 0,5 mL άνω ή κάτω φάσης που λαμβάνεται από το τυφλό προστίθενται 10 μL διαλύματος 10 mM [3H]PAF (1 nmole). Τα φιαλίδια φυλάσσονται σε σκοτεινό περιβάλλον έως την μέτρηση της β-ακτινοβολίας. Η β-ακτινοβολία μετράται σε Cpm σε β-counter. Με τη μέτρηση της β-ακτινοβολίας γνωστής ποσότητας [3H]PAF, 1 nmole, στην άνω ή στην κάτω φάση που λαμβάνεται από το τυφλό, προσδιορίζεται ο αριθμός των Cpm που αντιστοιχούν σε 1 nmole [3H]PAF όταν αυτό είναι διαλυμένο σε 0,5 mL άνω ή κάτω φάσης της εκχύλισης κατά Folch, Lees, Stanley (Cpm 1nmole [3H]PAF σε άνω φάση, Cpm 1nmole [3H]PAF σε κάτω φάση). Καθώς είναι γνωστή η κατανομή των όγκων στην εκχύλιση κατά Folch, Lees, Stanley (40% στην άνω φάση και 60% στην κάτω φάση), υπολογίζεται βάσει του τελικού όγκου της εκχύλισης (2,820 mL) το σύνολο των nmoles στο σύνολο της άνω και της κάτω φάσης με βάση τους τύπους nmoles σύνολο άνω φάσης = (Cpmάνω φάσης / Cpm 1nmole [3H]PAF σε άνω φάση) x 1128/500 και nmoles σύνολο κάτω φάσης = (Cpm άνω φάσης / Cpm 1nmole [3H]PAF σε κάτω φάση) x 1692/500. Στη συνέχεια υπολογίζεται το άθροισμα τους που αντιστοιχεί στο σύνολο του αρχικά τοποθετημένου ραδιενεργά σημασμένου [3H]PAF (nmoles ολικά). Ακολούθως υπολογίζεται το κλάσμα nmoles σύνολο άνω φάσης / nmoles ολικά. Η ποσότητα του [3H]PAF που υδρολύθηκε σε κάθε δείγμα υπολογίζεται από τη σχέση (nmoles σύνολο άνω φάσης / nmoles ολικά)δείγματος - (nmoles σύνολο άνω φάσης / nmoles ολικά)μάρτυρα. Να σημειωθεί ότι το ποσό της ραδιενέργειας που μετράται

στην άνω φάση του μάρτυρα και το οποίο παριστά μη υδρολυθέντα μόρια PAF που ανακτώνται στην άνω φάση, (nmoles σύνολο άνω φάσης / nmoles ολικά)μάρτυρα, είναι μικρότερο του 0,02. Για τον ακριβέστερο προσδιορισμό της ενζυμικής δραστικότητας το ποσό αυτό αφαιρείται από το αντίστοιχο του δείγματος. Η δραστικότητα της Lp-PLA2 υπολογίζεται από τη διαίρεση της ποσότητας που υδρολύθηκε με τον χρόνο επώασης σε min (tmin) και την ποσότητα πρωτεΐνης του δείγματος σε mg : (nmoles σύνολο άνω φάσης / nmoles ολικά)δείγματος - (nmoles σύνολο άνω φάσης / nmoles ολικά)μάρτυρα] / tmin x mg πρωτεΐνης δείγματος. Έτσι η δραστικότητα της Lp-PLA2 εκφράζεται τελικά ως nmoles PAF που υδρολύονται ανά mg πρωτεΐνης ανά min.

#### ΜΕΤΡΗΣΗ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΜΕ ΜΕΤΡΗΤΗ ΣΠΙΝΘΗΡΙΣΜΟΥ ΥΓΡΩΝ

##### Αρχή της μεθόδου

Το ραδιενεργό δείγμα αναμειγνύεται με το διάλυμα σπινθηρισμού το οποίο περιέχει μία ή περισσότερες φθορίζουσες ουσίες. Τα εκπεμπόμενα από το ραδιενεργό δείγμα β σωματίδια διεγείρουν τις φθορίζουσες ουσίες που εκπέμπουν φωτόνια τα οποία μέσω ενός φωτοπολλαπλασιαστή ανιχνεύονται σαν παλμός. Οι παλμοί καταγράφονται από ένα σύστημα μέτρησης σαν κρούσεις.

##### Αντιδραστήρια και όργανα

- 2,5-Διφαινυλοξαζόλιο (2,5-Diphenyloxazole, PPO) (MB 221,3) (Serva)
- 1,4-Δι-2-(5-φαινυλοξαζόλιο)βενζόλιο(1,4-Bis[2-(5-phenyl)-oxazolyl]benzene, POPOP) (MB 364,4) (Serva)
- Ναφθαλίνιο (naphthalene) (MB 128,16) (Merck)



- Διοξάνη (Dioxanne-1-4) (SDS)
- Κυκλοαναδευτήρας (vortex)
- Πλαστικά φιαλίδια όγκου 20 mL με βιδωτό πώμα για μετρητή σπινθηρισμού υγρών
- Μετρητής σπινθηρισμού υγρών (Wallac 1209 Racbeta, Pharmacia) συνδεδεμένος μεκαταγραφέα (Facit B3100)

#### Διαλύματα εργασίας

- Υγρό σπινθηρισμού. Το διάλυμα παρασκευάζεται διαλύοντας 7 g PPO, 0,3 g POPOP και 100 g ναφθαλινίου σε 1 lt διοξάνης και 200 mL H<sub>2</sub>O. Το διάλυμα παρασκευάζεται εντός εστίας και αποθηκεύεται σε αδιαφανές γυάλινο δοχείο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

#### Αναλυτική πορεία

Τα δείγματα, όγκου έως 0,3 mL, τοποθετούνται στα πλαστικά φιαλίδια και προστίθενται 5 mL υγρού σπινθηρισμού. Επίσης παρασκευάζεται τυφλό με τοποθέτηση μόνο του υγρού σπινθηρισμού. Μετά από ισχυρή ανάδευση με κυκλοαναδευτήρα, τα φιαλίδια τοποθετούνται με ειδικές υποδοχές (raks) στο μετρητή σπινθηρισμού υγρών. Σε κάθε δείγμα μετρώνται οι κρούσεις ανά λεπτό (cpm) για χρονικό διάστημα που έχει προεπιλεγεί (5 έως 10 min). Από την τιμή που μετράται σε κάθε δείγμα αφαιρείται η τιμή του τυφλού.

## Προσδιορισμός δραστηριότητας sPLA2

Για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας των sPLA2 χρησιμοποιήθηκε το Cayman's kit ανίχνευσης. Το συγκεκριμένο kit χρησιμοποιεί 1,2-dithio ανάλογο της diheptanoylphosphatidylcholine το οποίο αποτελεί το υπόστρωμα για τις περισσότερες εκκρινικές PLA2 αλλά όχι τις κυτοσολικές. Με την υδρόλυση των θειοεστερικών δεσμών στην sn-2 θέση από τις PLA2, ανιχνεύονται ελεύθερες θειόλες χρησιμοποιώντας DTNB (5,5- dithio- bis-(2-nitrobenzoic acid)).

### Συστατικά του kit:

- sPLA2 Assay Buffer
- SPLA2 DTNB
- sPLA2 diheptanoyl Thio-PC (substrate)
- Bee Venom PLA2 Control

### Εκτέλεση της διαδικασίας

1. Λευκά πηγαδάκια (Μη ενζυματικά control)  
Σε 2 πηγαδάκια προσθέτονται 10 μl DTNB και 15 μl Assay Buffer
2. Θετικά control πηγαδάκια  
Σε 2 πηγαδάκια προσθέτονται 10 μl DTNB, 10μl Bee Venom PLA2 και 5μl Assay Buffer.
3. Πηγαδάκια δειγμάτων  
Στα υπόλοιπα πηγαδάκια προσθέτονται 10 μl DTNB, 10 μl δείγματος και 10μl Assay Buffer.

4. Η έναρξη των αντιδράσεων γίνεται με την προσθήκη 200 μl διαλύματος υποστρώματος (substrate) σε όλα τα πηγαδάκια.
5. Ακολουθεί η ανάγνωση της απορρόφησης κάθε λεπτό στα 414 nm για τουλάχιστον 5 χρονικές στιγμές. Μετράται η απορρόφηση με τη βοήθεια ειδικού φασματοφωτομέτρου τύπου ELISA της εταιρίας Versamax.

### **Στατιστική ανάλυση**

Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε στο στατιστικό πακέτο SPSS (version 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Για τη σύγκριση των μετρήσεων πριν και μετά τη θεραπεία εφαρμόστηκε η στατιστική δοκιμασία t-test κατά ζεύγη (paired t-test). Ο έλεγχος για την ύπαρξη διαφορών μεταξύ της πειραματικής ομάδας και της ομάδας των μαρτύρων έγινε μέσω της εφαρμογής της δοκιμασίας t-test για ανεξάρτητα δείγματα. Η διερεύνηση της συσχέτισης κλινικών και εργαστηριακών μετρήσεων πραγματοποιήθηκε μέσω του συντελεστή συσχέτισης Spearman. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε όρους μέσων τιμών και τυπικών αποκλίσεων (ή εύρους τιμών).

Όλοι οι έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $\alpha=5\%$ .

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη παρατίθενται στον Πίνακα 3.

<b>Πίνακας 3. Δημογραφικά χαρακτηριστικά</b>		
	<b>Περιοδοντικοί ασθενείς (N=10)</b>	<b>Ομάδα Ελέγχου (N=10)</b>
<b>Ηλικία (έτη) [mean±SD]</b>	55.10±7.02	53.60±7.18
<b>Φύλο (άνδρες) [n (%)]</b>	6 (60%)	3 (30%)

Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων στη μελέτη ήταν 54,35 έτη με σταθερή απόκλιση 6,95. Η ομάδα των περιοδοντικών ασθενών δεν είχε σημαντική διαφορά από την ομάδα των υγιών μαρτύρων ως προς την ηλικία.

### Περιοδοντολογικά ευρήματα

Κατά την αρχική εξέταση, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας των περιοδοντικών ασθενών και της ομάδας των υγιών ατόμων ως προς το βάθος του θυλάκου, την κλινική απώλεια πρόσφυσης, την αιμορραγία στην ανίχνευση, τον δείκτη πλάκας και τον ουλικό δείκτη (Πίνακας 4, Διαγράμματα 1-5).

Η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία βελτίωσε στατιστικά σημαντικά όλες τις κλινικές παραμέτρους (βάθος θυλάκου, κλινική απώλεια πρόσφυσης, αιμορραγία στην ανίχνευση, δείκτης πλάκας, ουλικός δείκτης) στην ομάδα των

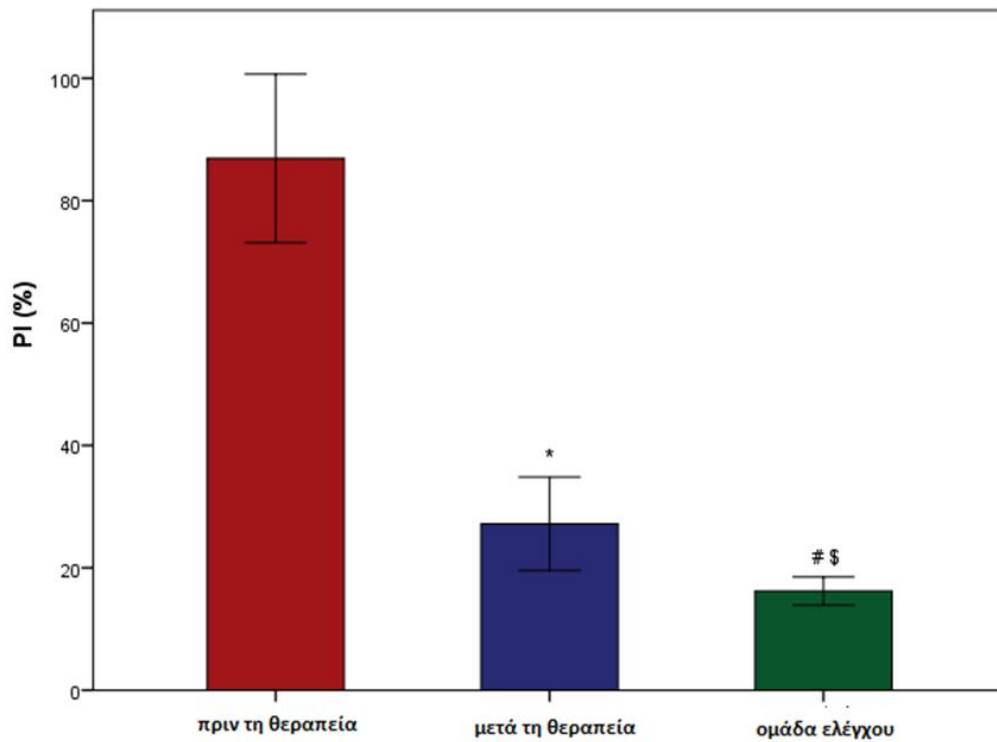
περιοδοντικών ασθενών (Πίνακας 4, Διαγράμματα 1-5). Η σύγκριση των κλινικών παραμέτρων μεταξύ των περιοδοντικών ασθενών μετά τη μη χειρουργική θεραπεία και των υγιών μαρτύρων οδήγησε σε στατιστικά σημαντικές διαφορές για όλες τις κλινικές παραμέτρους. Η διαφορά αυτή δείχνει ότι αν και η περιοδοντική κατάσταση των ασθενών βελτιώθηκε στατιστικά σημαντικά εντούτοις δεν έφτασε στα επίπεδα εκείνης των υγιών ατόμων (Πίνακας 4, Διαγράμματα 1-5).

Πίνακας 4. Κλινικές μετρήσεις κατά την αρχική εξέταση και μεταβολές τους μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία (μέσες τιμές ± σταθερή απόκλιση ή διακύμανση)						
	Ομάδα Περιοδοντικών Ασθενών		Ομάδα Ελέγχου (N=10)	p-value †	p-value*	p-value ‡
	Πριν τη θεραπεία (N=10)	Μετά τη θεραπεία (N=10)				
PI (%)	86.90 (39, 100)	27.20 (15, 54)	16.20 (11, 20)	<0.001	<0.001	<0.001
GI (%)	76.90 (14, 100)	21.70 (7, 63)	7.90 (6, 9)	<0.001	<0.001	<0.001
BoP (%)	96.03 (79, 100)	34.19 (18, 74)	13.40 (8, 20)	<0.001	<0.001	<0.001
PD	4.62±0.75	3.59±0.58	2.31±0.48	<0.001	<0.001	<0.001
CAL	5.52±1.26	4.55±0.89	2.34±0.48	<0.001	<0.001	<0.001

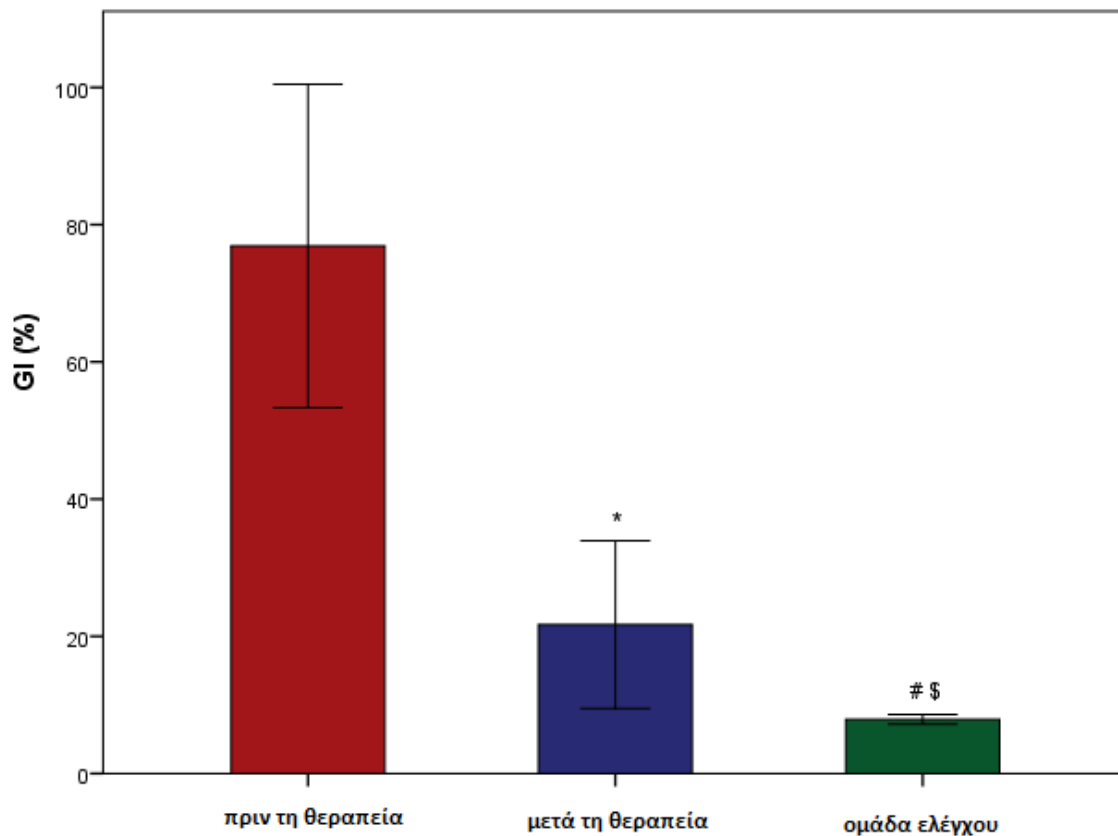
† p-τιμές που προέκυψαν από δοκιμασία t-test κατά ζεύγη για σύγκριση μεταξύ των τιμών πριν και μετά τη θεραπεία

\* p-τιμές που προέκυψαν από δοκιμασία t-test για ανεξάρτητα δείγματα για σύγκριση των τιμών μεταξύ της ομάδας των περιοδοντικών ασθενών πριν τη θεραπεία και της ομάδας ελέγχου

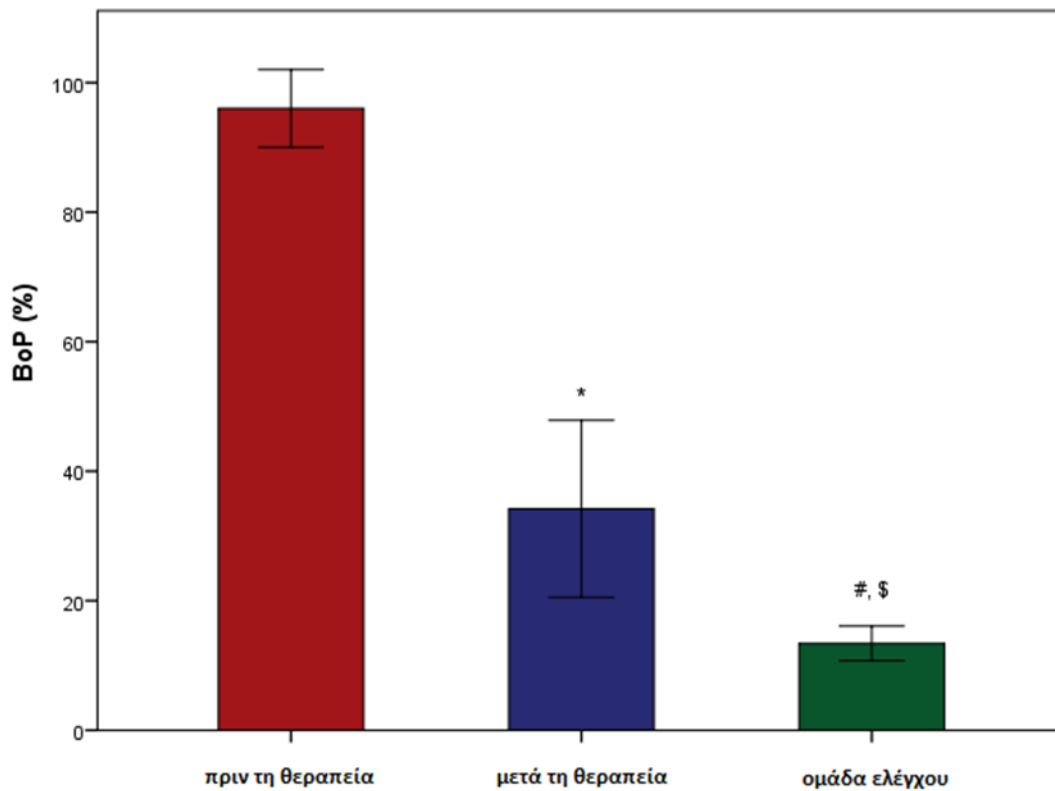
‡ p-τιμές που προέκυψαν από δοκιμασία t-test για ανεξάρτητα δείγματα για σύγκριση των τιμών μεταξύ της ομάδας των περιοδοντικών ασθενών μετά τη θεραπεία και της ομάδας ελέγχου



**Διάγραμμα 1.** Μέση τιμή δείκτη πλάκας (PI)  $\pm$  σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με \* για πριν τη θεραπεία vs μετά τη θεραπεία, # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.

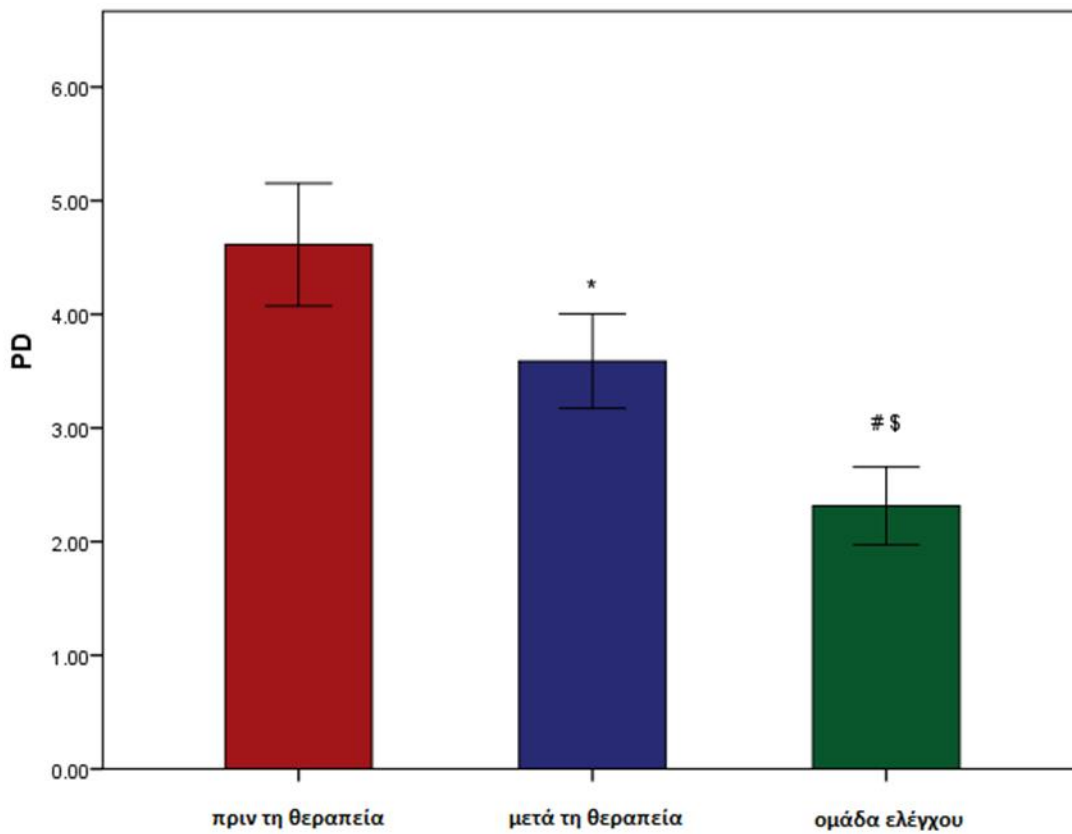


**Διάγραμμα 2.** Μέση τιμή ουλικού δείκτη (GI)  $\pm$  σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με \* για πριν τη θεραπεία vs μετά τη θεραπεία, # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.

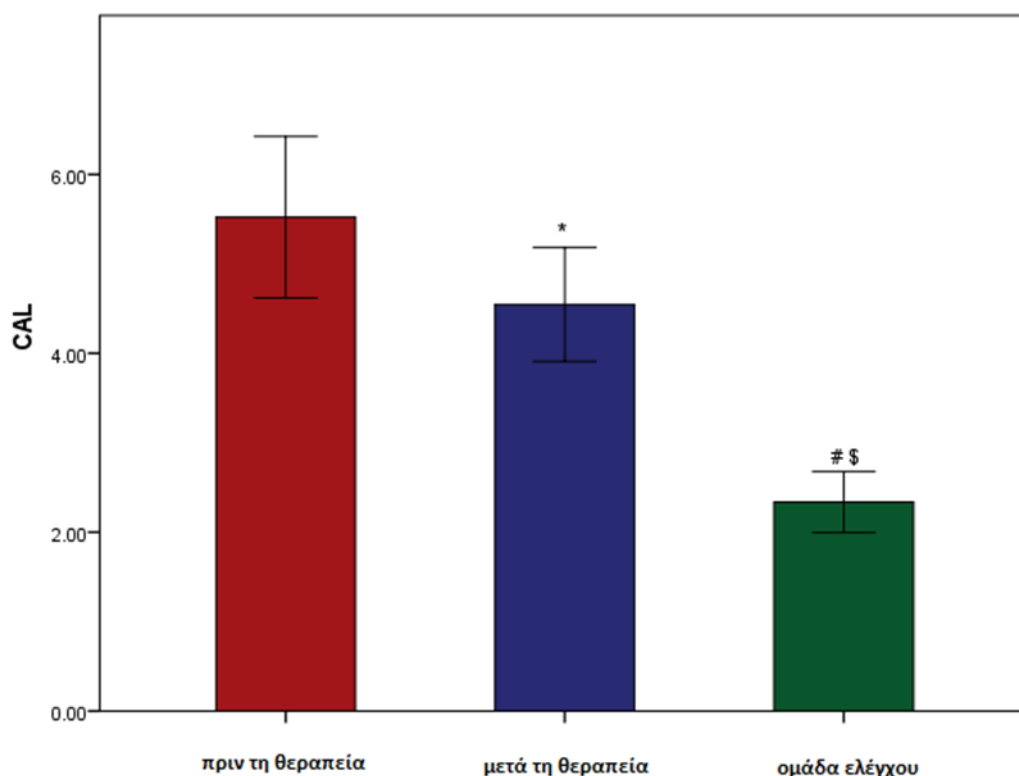


**Διάγραμμα 3.** Μέση τιμή αιμορραγίας στην ανίχνευση (BOP)  $\pm$  σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με \* για πριν τη θεραπεία vs μετά τη θεραπεία, # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.





**Διάγραμμα 4.** Μέση τιμή βάθους θυλάκου (PD) ± σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με \* για πριν τη θεραπεία vs μετά τη θεραπεία, # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.



**Διάγραμμα 5.** Μέση τιμή απώλειας κλινικής πρόσφυσης (CAL) ± σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με\* για πριν τη θεραπεία vs μετά τη θεραπεία, # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.

### Εργαστηριακά ευρήματα

Κατά την αρχική εξέταση, καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα δραστηριότητας των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό των περιοδοντικών ασθενών συγκριτικά με αυτά των υγιών μαρτύρων (Πίνακας 5, Διαγράμματα 6-9). Η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της δραστηριότητας των sPLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό των ασθενών η οποία ήταν στατιστικά σημαντική μόνο για το ουλικό υγρό. Επιπλέον, η σύγκριση

μεταξύ των περιοδοντικών ασθενών μετά τη μη χειρουργική θεραπεία και των υγιών μαρτύρων δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές για τη δραστικότητα των sPLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό (Πίνακας 5, Διαγράμματα 6, 7).

Ως προς την δραστικότητα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό, βρέθηκε ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία δεν επηρέασε στατιστικά σημαντικά τα επίπεδά της, ενώ η δραστικότητά της στην ομάδα των περιοδοντικών ασθενών μετά τη θεραπεία ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με εκείνη των υγιών μαρτύρων (Πίνακας 5, Διαγράμματα 8, 9).

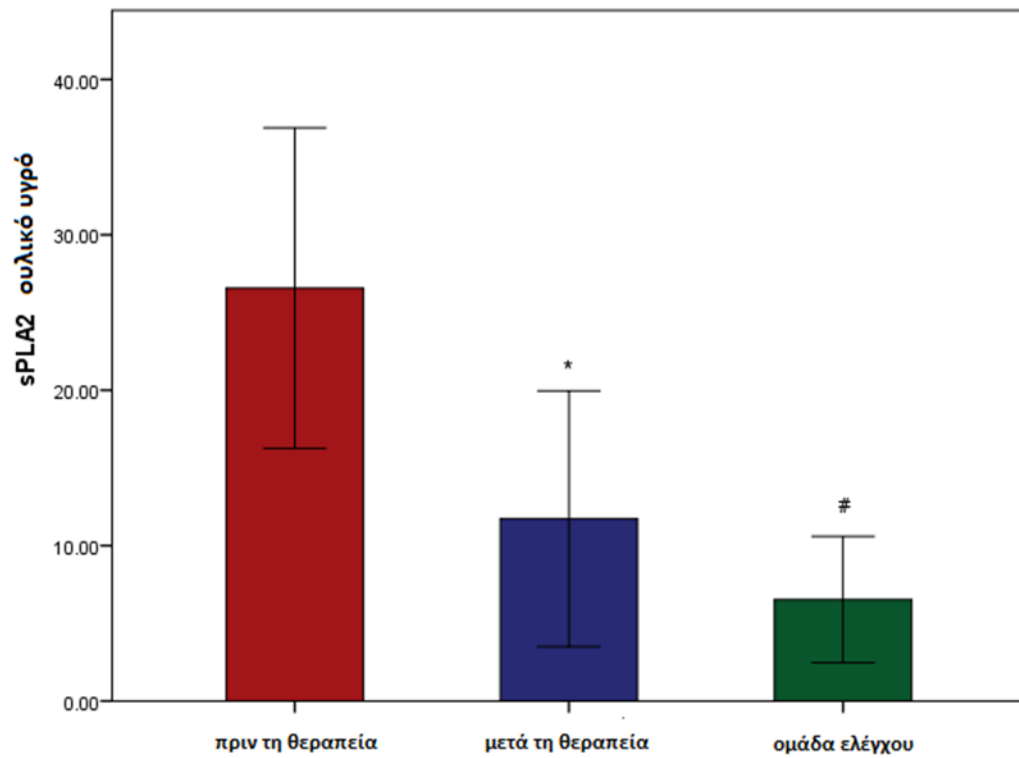
**Πίνακας 5. Μετρήσεις των επιπέδων δραστικότητας των sPLA2 και LP-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό κατά την αρχική εξέταση και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία (μέσες τιμές ± σταθερή απόκλιση ή διακύμανση)**

	Ομάδα Περιοδοντικών Ασθενών		Ομάδα Ελέγχου (N=10)	p-value †	p-value*	p-value ‡
	Πριν τη θεραπεία (N=10)	Μετά τη θεραπεία (N=10)				
sPLA2 ουλικό υγρό nmoles/min x mg proteins	26.57±14.42	11.72±11.51	6.53±5.68	<b>0.004</b>	<b>0.002</b>	0.223
sPLA2 ορός nmoles/min x μl	34.27±8.53	31.32±16.68	20.97±4.30	0.601	<b>&lt;0.001</b>	0.086
LP-PLA2 ουλικό υγρό nmoles/min x mg proteins	0.97±0.31	1.01±0.37	0.38±0.11	0.722	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
LP-PLA2 ορός nmoles/min x μl	52.58±14.93	51.07±7.66	41.10±4.84	0.738	<b>0.003</b>	<b>0.033</b>

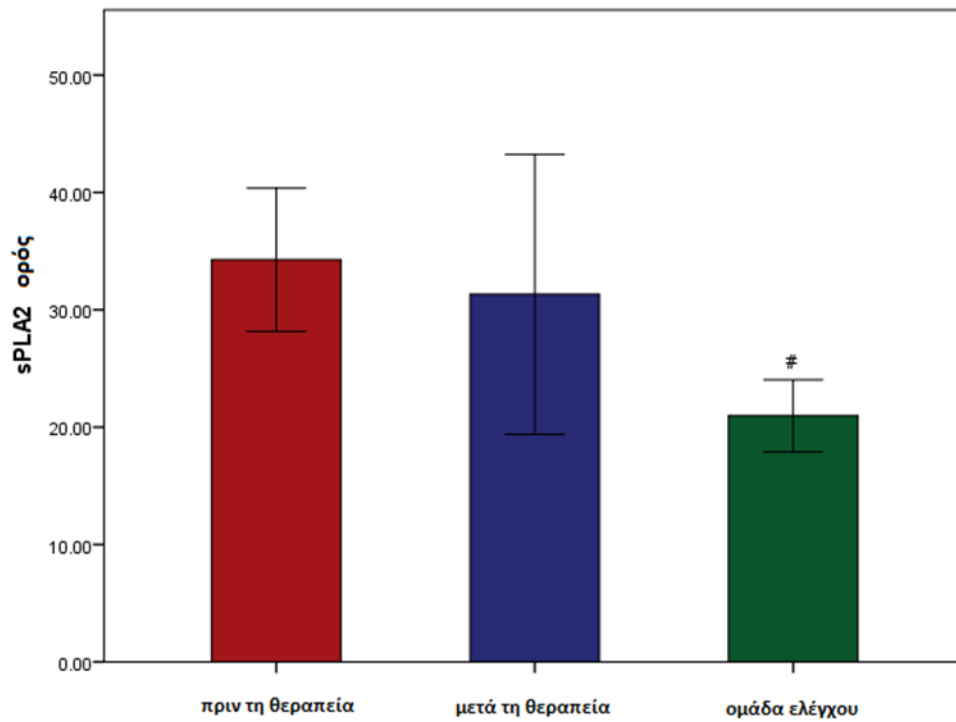
† p-τιμές που προέκυψαν από δοκιμασία t-test κατά ζεύγη για σύγκριση μεταξύ των τιμών πριν και μετά τη θεραπεία

\* p-τιμές που προέκυψαν από δοκιμασία t-test για ανεξάρτητα δείγματα για σύγκριση των τιμών μεταξύ της ομάδας των περιοδοντικών ασθενών πριν τη θεραπεία και της ομάδας ελέγχου

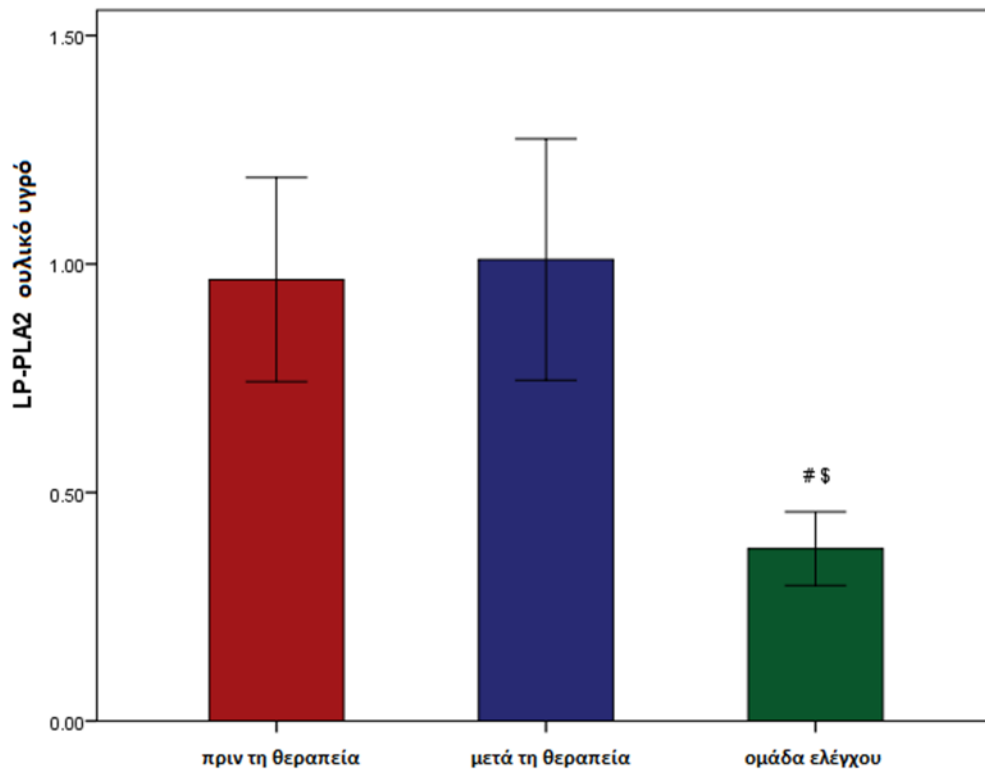
‡ p-τιμές που προέκυψαν από δοκιμασία t-test για ανεξάρτητα δείγματα για σύγκριση των τιμών μεταξύ της ομάδας των περιοδοντικών ασθενών μετά τη θεραπεία και της ομάδας ελέγχου



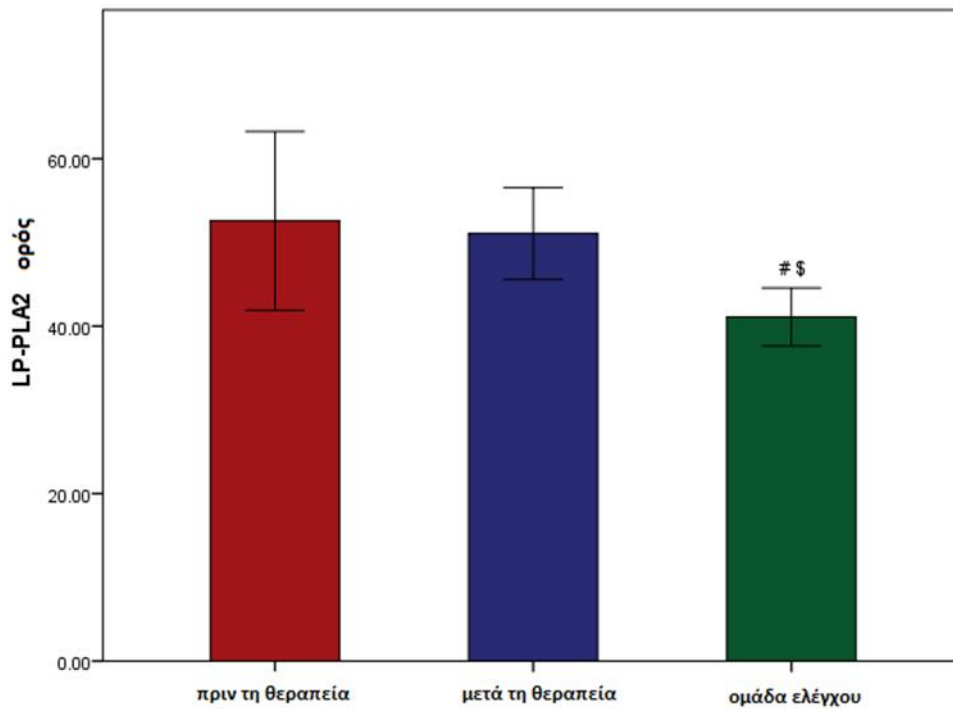
**Διάγραμμα 6.** Μέση τιμή sPLA2 στο ουλικό υγρό  $\pm$  σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με \* για πριν τη θεραπεία vs μετά τη θεραπεία, # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία



**Διάγραμμα 7.** Μέση τιμή sPLA2 στον ορό  $\pm$  σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία



**Διάγραμμα 8.** Μέση τιμή Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό  $\pm$  σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.



**Διάγραμμα 9.** Μέση τιμή Lp-PLA2 στον ορό ± σταθερή απόκλιση, πριν τη θεραπεία, μετά τη θεραπεία και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. Οι στατιστικές σημαντικότητες ( $p < 0.05$ ) σημειώνονται με # για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs πριν τη θεραπεία και \$ για την ομάδα υγιών μαρτύρων vs μετά τη θεραπεία.

## Συσχέτιση κλινικών και εργαστηριακών παραμέτρων πριν και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία

Η συσχέτιση των κλινικών μετρήσεων με τα επίπεδα δραστικότητας των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό των περιοδοντικών ασθενών οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα μόνο για τις sPLA2 συγκριτικά με τις τιμές του BoP (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Συσχέτιση των κλινικών μετρήσεων και των επιπέδων δραστικότητας των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό πριν και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία (p-value)					
Πριν τη θεραπεία (N=10)					
	PI (%)	GI (%)	BoP (%)	PD	CAL
sPLA2 ουλικό υγρό	0.331 (0.350)	0.469 (0.172)	0.801 (<0.001)	-0.012 (0.973)	-0.091 (0.803)
sPLA2 ορός	0.279 (0.435)	0.231 (0.520)	0.845 (<0.001)	-0.298 (0.403)	-0.370 (0.293)
LP-PLA2 ουλικό υγρό	-0.493 (0.148)	-0.238 (0.509)	0.442 (0.051)	0.043 (0.907)	0.200 (0.580)
LP-PLA2 ορός	0.337 (0.340)	0.431 (0.231)	0.406 (0.076)	0.006 (0.987)	0.164 (0.651)
Μετά τη θεραπεία (N=10)					
	PI (%)	GI (%)	BoP (%)	PD	CAL
sPLA2 ουλικό υγρό	-0.614 (0.059)	-0.555 (0.096)	-0.590 (0.073)	0.055 (0.881)	-0.164 (0.651)
sPLA2 ορός	0.322 (0.364)	0.500 (0.141)	0.486 (0.154)	0.055 (0.881)	0.164 (0.651)
LP-PLA2 ουλικό υγρό	0.359 (0.309)	0.439 (0.204)	0.188 (0.602)	-0.091 (0.803)	-0.006 (0.987)
LP-PLA2 ορός	-0.055 (0.881)	0.043 (0.907)	0.553 (0.097)	0.418 (0.229)	0.600 (0.067)

Spearman's rank correlation coefficient (p-value)



## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη είναι μία πιλοτική κλινική μελέτη. Σκοπός της είναι η διερεύνηση της δραστηριότητας των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό του αίματος ασθενών με προχωρημένη περιοδοντίτιδα. Ο στόχος της ερευνητικής εργασίας είναι να προσπαθήσει να συνδέσει την δραστηριότητα των ενζύμων σε τοπικό επίπεδο (στους περιοδοντικούς ιστούς) με αυτή σε συστηματικό επίπεδο (επίπεδα στον ορό). Η υπόθεση η οποία εξετάζεται είναι ότι εφόσον, όπως προκύπτει από τα βιβλιογραφικά δεδομένα, η περιοδοντίτιδα, η οποία διεγείρει φλεγμονώδεις διεργασίες στους περιοδοντικούς ιστούς, είναι δυνατόν να επηρεάσει και την συστηματική υγεία των ασθενών, τα επίπεδα των φλεγμονωδών ένζυμων sPLA2 και Lp-PLA2 που εμπλέκονται σε αθηρογόνες διαδικασίες είναι δυνατόν να μεταβληθούν τόσο κατά την εμφάνιση της περιοδοντικής νόσου όσο και μετά την περιοδοντική θεραπεία. Έτσι, διερευνάται σε ένα πρώτο στάδιο αν η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μπορεί να μειώσει τη δραστηριότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 τοπικά ή συστηματικά.

Η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας δείχνει ότι είναι η πρώτη μελέτη που εξετάζει την δραστηριότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 τόσο στο ουλικό υγρό όσο και στον ορό των περιοδοντικών ασθενών πριν και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία και την συγκρίνει με αυτή των υγιών ατόμων.

Στην μελέτη επιλέχθηκε να εξεταστεί το ουλικό υγρό ως εξίδρωμα των περιοδοντικών ιστών το οποίο περιέχει, μεταξύ άλλων, πολλούς μεσολαβητές της φλεγμονής. Επίσης, η συλλογή του, η οποία γίνεται με μη επεμβατική μέθοδο, μπορεί να επαναληφθεί σε όσες χρονικές στιγμές απαιτούνται χωρίς περιορισμό και οδηγεί σε ικανοποιητική ποσότητα δείγματος (Lamster 1997, Griffiths 2003). Η

συλλογή ουλικού υγρού με ταινίες χάρτου φαίνεται να είναι η μέθοδος επιλογής όταν πρόκειται να μελετηθούν τα επίπεδα των κυτοκινών ή άλλων δεικτών φλεγμονωδών ή ανοσολογικών διεργασιών (Griffiths 2003, Guentsch και συν. 2011).

Από την σύγκριση της ομάδας των περιοδοντικών ασθενών με τους υγιείς μάρτυρες προέκυψε ότι η δραστηριότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στο ουλικό υγρό και τον ορό των περιοδοντικών ασθενών. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνει μία πιθανή συσχέτιση τοπικής φλεγμονής, λόγω περιοδοντικής νόσου και συστηματικής φλεγμονής.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης σχετικά με τα επίπεδα της sPLA2 στο ουλικό υγρό είναι σύμφωνα με αυτά των πειραμάτων που μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί στο Εργαστήριο της Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Kororouli και συν. 2005, Markakis και συν. 2006). Η θετική συσχέτιση των επιπέδων των sPLA2 στο ουλικό υγρό και της αιμορραγίας στην ανίχνευση που καταγράφηκε στην μελέτη συνάδει με τα αποτελέσματα των Ishida και συν. (1994). Οι Ishida και συν. (1994), εξέτασαν τη δραστηριότητα των sPLA2 στο ουλικό υγρό περιοδοντικών ασθενών και βρήκαν ότι στα σημεία που ήταν θετικά στην αιμορραγία στην ανίχνευση η δραστηριότητα των sPLA2 ήταν αυξημένη σε σχέση με τα σημεία που ήταν αρνητικά στην αιμορραγία στην ανίχνευση. Ωστόσο, στη μελέτη αυτή δεν υπήρχε ομάδα περιοδοντικά υγιών ασθενών.

Ως προς τα επίπεδα των sPLA2 στον ορό περιοδοντικών ασθενών δεν υπάρχουν δημοσιευμένα δεδομένα στην διεθνή βιβλιογραφία.

Τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό των περιοδοντικών ασθενών, όπως αναφέρθηκε, ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα συγκριτικά με τα υγιή άτομα.

Σχετικά με τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό, στη βιβλιογραφία αναφέρεται μία μόνο μελέτη των Baltas και συν. (1996), στην οποία τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό των περιοδοντικών ασθενών ήταν σημαντικά αυξημένα σε σχέση με τα περιοδοντικά υγιή άτομα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Επιπλέον, δεν είναι πολλές οι μελέτες που διερευνούν τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό των περιοδοντικών ασθενών.

Στην μελέτη τους, οι Fentoglu και συν. (2011) εκτίμησαν τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό σε σχέση με την περιοδοντική νόσο και την υπερλιπιδαιμία και έδειξαν ότι η βαρύτητα της περιοδοντικής νόσου είναι συνδεδεμένη με τα επίπεδα του ενζύμου στον ορό. Εντούτοις, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει ανάγκη για περισσότερες μακροχρόνιες κλινικές μελέτες σε μεγαλύτερο πληθυσμιακό δείγμα. Μία ακόμη πρόσφατη μελέτη των Zhou και συν. (2012) έδειξε ότι σε ασθενείς με περιοδοντίτιδα τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με αυτά ατόμων συστηματικά και περιοδοντικά υγιών. Επίσης, βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της Lp-PLA2 στον ορό και της αιμορραγίας στην ανίχνευση.

Στην βιβλιογραφία υπάρχουν ενδείξεις ότι η περιοδοντική θεραπεία είναι δυνατόν να βελτιώσει τα επίπεδα των φλεγμονωδών δεικτών τόσο συστηματικά, έστω και για μικρό χρονικό διάστημα (D'Aiuto και συν. 2013), όσο και τοπικά (Reis και συν. 2014). Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία επέφερε στατιστικά σημαντική μείωση μόνο για τα επίπεδα των sPLA2 στο ουλικό υγρό των ασθενών. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης είναι σύμφωνα με τα αντίστοιχα των Ishida και συν. (1994) για το ουλικό υγρό. Τα ευρήματά τους έδειξαν ότι η δραστηριότητα των sPLA2 μειώθηκε σημαντικά στα σημεία το οποία

ενώ ήταν θετικά στην αιμορραγία κατά στην ανίχνευση πριν τη θεραπεία, έγιναν αρνητικά μετά την ολοκλήρωσή της. Η τιμή της δραστηριότητας των sPLA2 μετά τη θεραπεία παρέμενε υψηλότερη συγκριτικά με αυτή των υγιών μαρτύρων, ενώ η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Δεδομένα σχετικά με την πιθανή διακύμανση των sPLA2 στον ορό των ασθενών μετά την περιοδοντική θεραπεία δεν αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Στην παρούσα μελέτη, η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία δεν κατάφερε να μειώσει στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό όπως και στον ορό των ασθενών. Τα αποτελέσματα αυτά δεν φαίνεται να συμφωνούν με τα αντίστοιχα άλλων μελετών.

Στη μελέτη των Baltas και συν. (1996), τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό μειώθηκαν στατιστικά σημαντικά μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία.

Οι Losche και συν. (2005), σε ασθενείς με χρόνια γενικευμένη περιοδοντίτιδα μέσης ή προχωρημένης βαρύτητας, εξέτασαν τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό πριν και μετά τη μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία και βρήκαν ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της Lp-PLA2 στον ορό. Η μείωση αυτή ήταν περίπου 10%.

Οι Keles και συν. (2013), μελέτησαν την επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στη δραστηριότητα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό ασθενών με χρόνια γενικευμένη περιοδοντίτιδα. Η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό. Η μείωση ήταν εξίσου σημαντική και στην ομάδα των ασθενών με βάθη θυλάκων 4-5mm και στην ομάδα των ασθενών με βάθη θυλάκων μεγαλύτερα ή ίσα των 6-8mm.

Πρέπει να υπογραμμισθεί ότι πρόκειται για μία πιλοτική μελέτη στην οποία συμμετείχαν 10 περιοδοντικοί ασθενείς. Επομένως, ο μικρός αριθμός των ασθενών είναι δυνατόν να αποτελεί μία πιθανή εξήγηση για την μη εύρεση στατιστικά σημαντικών διαφορών στη δραστικότητα των sPLA2 στον ορό και της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό μετά την θεραπεία. Ικανοποιητικό θα ήταν ένα δείγμα 20 ατόμων σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση. Στις αντίστοιχες μελέτες των Baltas και συν. (1996), Keles και συν. (2013), Losche και συν. (2005), αν και δεν αναφέρεται κατά πόσο έχει πραγματοποιηθεί ανάλυση ισχύος για την επιλογή του αριθμού του δείγματος, ο αριθμός των ασθενών που συμμετείχαν κυμαινόταν από 10 έως 32 άτομα. Άλλη πιθανή εξήγηση για την μη εύρεση στατιστικά σημαντικής διαφοράς στη δραστικότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 στον ορό θα μπορούσε να είναι η χρονική στιγμή λήψης των δειγμάτων η οποία ήταν 4-6 εβδομάδες μετά τη μη χειρουργική θεραπεία. Το χρονικό αυτό διάστημα πιθανόν να μην είναι αρκετό ώστε να εμφανισθεί η μεταβολή της δραστικότητας των sPLA2 και Lp-PLA2 στον ορό. Στη μελέτη των Losche και συν. (2005), η λήψη των δειγμάτων για την αξιολόγηση της Lp-PLA2 πραγματοποιήθηκε 3 μήνες μετά τη θεραπεία. Οι D' Aiuto και συν. (2013) στην ανασκόπησή τους με σκοπό την κριτική αξιολόγηση των μελετών που εξετάζουν την επίδραση της μη χειρουργικής θεραπείας στην συστηματική φλεγμονή αναφέρουν ότι 1-2 μήνες μετά την περιοδοντική θεραπεία τα στοιχεία δείχνουν μία προοδευτική βελτίωση των φλεγμονωδών δεικτών. Επιπλέον, σε κλινικές μελέτες στις οποίες διερευνάται το ίδιο ερώτημα το χρονικό διάστημα επανεξέτασης-λήψης των δειγμάτων κυμαίνεται από 4 εβδομάδες έως 6 μήνες (Ide και συν. 2003, D' Aiuto και συν. 2007, Tonetti και συν. 2007, Lalla και συν. 2007, Marcaccini και συν. 2009).

Για το ουλικό υγρό, ο χρόνος επανεξέτασης στην μελέτη των Ishida και συν. (1994) για τις sPLA2 δεν αναφέρεται, ενώ στη μελέτη των Keles και συν. (2013) για την Lp-PLA2, οι χρόνοι επανεξέτασης ήταν από 2 έως 28 ημέρες μετά τη θεραπεία. Αντίθετα με τη μελέτη των Keles και συν. (2013), στη παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της δραστηριότητας της Lp-PLA2 αλλά παρατηρήθηκε και μία μικρή αύξηση που όμως δεν ήταν σημαντική. Αυτό θα μπορούσε να εξηγηθεί από το μικρό δείγμα της μελέτης αλλά επίσης και από την αντιφλεγμονώδη δράση της Lp-PLA2. Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο γενικό μέρος η Lp-PLA2 έχει διπλή δράση. Έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες καθώς διασπά το ισχυρό μεσολαβητή της φλεγμονής PAF αλλά και αθηρογόνες ιδιότητες μέσω της υδρόλυσης οξειδωμένων φωσφολιπιδίων.

Επιπλέον, οι μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα δραστηριότητας των sPLA2 στον ορό και της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον όρο, είναι δυνατόν να οφείλονται σε υπολειπόμενη φλεγμονή στους περιοδοντικούς ιστούς μετά τη μη χειρουργική θεραπεία. Η θεραπεία θεώρηθηκε επιτυχής καθώς βελτιώθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό οι κλινικές παράμετροι συγκριτικά με την αρχική εξέταση. Το μέσο βάθος θυλάκων πριν τη θεραπεία ήταν  $4,62 \pm 0,75\text{mm}$  και μετά τη θεραπεία ήταν  $3,59 \pm 0,58\text{mm}$ . Η αιμορραγία στην ανίχνευση από 96% μειώθηκε στο 34%. Τα ευρήματα αυτά είναι σύμφωνα με τα αντίστοιχα άλλων μελετών που εξέτασαν τη βελτίωση των κλινικών παραμέτρων σε ασθενείς με προχωρημένη περιοδοντική νόσο μετά από μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία (Cerkek και συν. 1983, Badersten και συν. 1984). Όμως εξακολουθούσαν να εμφανίζονται στατιστικά σημαντικά κατώτερες από τις αντίστοιχες των υγιών μαρτύρων. Όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στη παρούσα μελέτη είχαν προχωρημένη περιοδοντική

νόσο. Η μη χειρουργική θεραπεία βελτίωσε στατιστικά σημαντικά την περιοδοντική κατάσταση όμως σε όλους τους ασθενείς παρατηρήθηκαν υπολειμματικοί θύλακοι και φλεγμονή υποδεικνύοντας την ανάγκη για χειρουργική θεραπεία. Μετά το πέρας της χειρουργικής θεραπείας και την επούλωση των ιστών, είναι πιθανόν να παρατηρηθούν σημαντικές διαφορές στη δραστικότητα των sPLA2 στον ορό και της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό που θα αντικατοπτρίζουν την πλήρη εξάλειψη της φλεγμονής και την ολοκλήρωση της περιοδοντικής θεραπείας.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης εντάσσονται στα ερευνητικά στοιχεία που τεκμηριώνουν τη σύνδεση της περιοδοντικής νόσου με τη συστηματική υγεία. Όπως έχει ήδη αναφερθεί η αυξημένη δραστικότητα των μορίων sPLA2 και Lp-PLA2 στον ορό αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα, ενώ η αυξημένη δραστικότητα των sPLA2 στον ορό έχει βρεθεί σε διάφορα συστηματικά φλεγμονώδη νοσήματα.

Η πιλοτική αυτή μελέτη επιβεβαίωσε την σημαντικά αυξημένα επίπεδα δραστικότητας των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό των περιοδοντικών ασθενών συγκριτικά με τα περιοδοντικώς υγιή άτομα, ενώ δεν κατάφερε να δείξει σημαντική μείωση των επιπέδων αυτών μετά την μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία. Αυτό πιθανόν να οφείλεται σε περιορισμούς της μελέτης όπως ο μικρός αριθμός ασθενών, το χρονικό διάστημα λήψης των δειγμάτων και η μη ολοκλήρωση όλου του φάσματος της περιοδοντικής θεραπείας. Απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση για την εξακρίβωση της συσχέτισης των sPLA2 και Lp-PLA2 και της εξέλιξης της περιοδοντικής νόσου όπως και για την επίδραση της περιοδοντικής θεραπείας στα επίπεδα δραστικότητας αυτών των ενζύμων.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με δεδομένους τους περιορισμούς αυτής της πιλοτικής κλινικής μελέτης, μπορούν να διατυπωθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Οι περιοδοντικοί ασθενείς είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό σε σχέση με τα περιοδοντικά υγιή άτομα.
- Στην ομάδα των περιοδοντικών ασθενών πριν τη θεραπεία, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της αιμορραγίας στην ανίχνευση και της δραστικότητας των sPLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό.
- Η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μείωσε στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα των sPLA2 στο ουλικό υγρό αλλά όχι στον ορό. Τα επίπεδα στον ορό παρουσίασαν μείωση η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική.
- Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό μετά τη μη χειρουργική θεραπεία.

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι τόσο τα επίπεδα των sPLA2 όσο και της Lp-PLA2 είναι αυξημένα στην περιοδοντίτιδα τοπικά και συστηματικά και ότι η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία δεν τα επηρεάζει σημαντικά με εξαίρεση τα επίπεδα των sPLA2 στο ουλικό υγρό. Ωστόσο, είναι αναγκαίο να υπάρξει περαιτέρω έρευνα με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών προκειμένου να προκύψουν ασφαλή συμπεράσματα.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Οι εκκριτικές φωσφολιπάσες A2 (sPLA2) είναι φλεγμονώδη ένζυμα, αυξημένα επίπεδα των οποίων έχουν συσχετιστεί με συστηματικές φλεγμονώδεις νόσους καθώς και με καρδιαγγειακές νόσους. Η συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες φωσφολιπάση A2 (Lp-PLA2) έχει χαρακτηριστεί 'ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου' για καρδιαγγειακά νοσήματα και αυξημένα επίπεδά της έχουν συσχετιστεί με αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών νόσων.

**Σκοπός:** Σκοπός της παρούσας κλινικής μελέτης είναι να διερευνηθεί α) η δραστικότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό του αίματος ασθενών με προχωρημένη περιοδοντίτιδα καθώς και υγιών μαρτύρων και β) η επίδραση της μη χειρουργικής περιοδοντικής θεραπείας στη δραστικότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και τον ορό των περιοδοντικών ασθενών.

**Υλικά και Μεθοδολογία:** Στη πιλοτική αυτή μελέτη συμμετείχαν 10 συστηματικά υγιή άτομα με προχωρημένη χρόνια περιοδοντίτιδα και 10 περιοδοντικά και συστηματικά υγιή άτομα. Η δραστικότητα των sPLA2 και Lp-PLA2 προσδιορίστηκε στο ουλικό υγρό και τον ορό.

**Αποτελέσματα:** Οι περιοδοντικοί ασθενείς εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sPLA2 και Lp-PLA2 στον ουλικό υγρό και τον ορό σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία μείωσε στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα των sPLA2 στο ουλικό υγρό αλλά όχι στον ορό των περιοδοντικών ασθενών. Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της Lp-PLA2 στο ουλικό υγρό και στον ορό μετά τη μη χειρουργική θεραπεία.

**Συμπεράσματα:** Η πιλοτική αυτή μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα των sPLA2 όσο και της Lp-PLA2 είναι αυξημένα στην περιοδοντίτιδα τοπικά και συστηματικά, ενώ η μη χειρουργική περιοδοντική θεραπεία δεν φαίνεται να επιδρά σημαντικά στην δραστικότητα των ενζύμων με εξαίρεση τα επίπεδα των sPLA2 στο ουλικό υγρό.

Λέξεις κλειδιά: εκκριτική φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, συνδεδεμένη με λιποπρωτείνες φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, ουλικό υγρό, περιοδοντική θεραπεία

## **ABSTRACT**

**Background:** Secreted phospholipases A2 (sPLA2) are inflammatory enzymes and their elevated levels have been correlated with systemic inflammatory and cardiovascular diseases. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) has been characterized as an independent risk factor for cardiovascular diseases and the elevated levels of Lp-PLA2 have been correlated with increased incidence of cardiovascular diseases.

**Aim:** The aim of this study is to investigate a) the levels of sPLA2 and Lp-PLA2 in the serum and gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis and healthy controls and b) the effect of non surgical periodontal therapy on the activity of sPLA2 and Lp-PLA2 levels in the serum and gingival crevicular fluid of periodontally affected patients.

**Materials and Methods:** 10 systemically healthy subjects with advanced periodontal disease and 10 systemically and periodontally healthy persons participated in this pilot study. The activity of sPLA2 and Lp-PLA2 was then determined in GCF and blood serum.

**Results:** The levels of sPLA2 and Lp-PLA2 activity in the gingival crevicular fluid and serum of periodontal patients were statistically significant elevated compared to those of controls. Non surgical periodontal therapy significantly reduced the levels of sPLA2 in GCF but not in serum of periodontal patients. Non surgical periodontal therapy had not a significant effect on Lp-PLA2 levels in GCF and serum.

**Conclusion:** Within the limitations of this pilot study, the levels of sPLA2 and Lp-PLA2 activity were found both topically and systemically elevated in periodontal patients compared to those of the control group and it seems that non surgical periodontal therapy reduces only the sPLA2 levels in GCF of periodontal patients.

Key words: secreted phospholipase A<sub>2</sub>, Lp-phospholipase A<sub>2</sub>, crevicular fluid,  
periodontal therapy

## BIBLIOGRAFIA

Agarwal S, Baran C, Piesco NP, Quintero JC, Langkamp HH, Johns LP, Chandra CS. Synthesis of proinflammatory cytokines by human gingival fibroblasts in response to lipopolysaccharides and interleukin-1 beta. *J Periodontal Res.* 1995 Nov;30(6):382-9.

Akiba S, Hatazawa R, Ono K, Kitatani K, Hayama M, Sato T. Secretory phospholipase A2 mediates cooperative prostaglandin generation by growth factor and cytokine independently of preceding cytosolic phospholipase A2 expression in rat gastric epithelial cells. *J Biol Chem.* 2001 Jun 15;276(24):21854-62. Epub 2001 Mar 23.

Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 2006 Feb 24;124(4):783-801. Review.

Alexander DC, Martin JC, King PJ, Powell JR, Caves J, Cohen ME. Interleukin-1 beta, prostaglandin E2, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *J Periodontol.* 1996 Aug;67(8):755-62

Alpagot T, Bell C, Lundergan W, Chambers DW, Rudin R. Longitudinal evaluation of GCF MMP-3 and TIMP-1 levels as prognostic factors for progression of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001 Apr;28(4):353-9.

Amălinei C, Căruntu ID, Giușcă SE, Bălan RA. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Rom J Morphol Embryol.* 2010;51(2):215-28. Review

Amar S, Gokce N, Morgan S, Loukideli M, Van Dyke TE, Vita JA: Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Jul 1;23(7):1245-9. Epub 2003 May 22

Anderson JL. Lipoprotein-associated phospholipase A2: an independent predictor of coronary artery disease events in primary and secondary prevention. *Am J Cardiol.* 2008 Jun 16;101(12A):23F-33F

Arai H, Koizumi H, Aoki J, Inoue K. Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH). *J Biochem.* 2002 May;131(5):635-40.

Arai H. Platelet-activating factor acetylhydrolase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002 Aug;68-69:83-94. Review

Arend WP, Palmer G, Gabay C. IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. *Immunol Rev.* 2008 Jun;223:20-38.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999 Dec;4(1):1-6. Review.

Babior BM and Crowley CA. chronic granulomatous disease and other disorders of oxidative killing by phagocytes, in *Metabolic Basis of Inherited disease*, Stanbury JB Wyngaarden JB, Frederickson DS et al Eds, McGraw-Hill, New York, 1983, 1956

Badersten A, Nilveus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1984 Jan;11(1):63-76.

Balboa MA, Balsinde J, Winstead MV, Tischfield JA, Dennis EA. Novel group V phospholipase A2 involved in arachidonic acid mobilization in murine P388D1 macrophages. *J Biol Chem*. 1996 Dec 13;271(50):32381-4.

Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, Sharrett AR. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*. 2004 Feb 24;109(7):837-42.

Balsinde J, Balboa MA, Dennis EA. Functional coupling between secretory phospholipase A2 and cyclooxygenase-2 and its regulation by cytosolic group IV phospholipase A2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jul 7;95(14):7951-6.

Balsinde J, Shinohara H, Lefkowitz LJ, Johnson CA, Balboa MA, Dennis EA. Group V phospholipase A(2)-dependent induction of cyclooxygenase-2 in macrophages. *J Biol Chem*. 1999 Sep 10;274(37):25967-70.

Baltas G, Kotsifaki H, Antonopoulou S, Kipioti A, Demopoulos CA. Implication of PAF and acetylhydrolase (PAF-AH) activity in periodontal disease. *Adv Exp Med Biol*. 1996;416:135-41.

Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA, Tew JG. Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host response (immune system) and have an impact on periodontal health. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1997;8(4):437-60. Review.

Barksby HE, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol*. 2007 Aug;149(2):217-25.

Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010 Jun;53:55-69.

Beadling C, Slifka MK. Regulation of innate and adaptive immune responses by the related cytokines IL-12, IL-23, and IL-27. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2006 Jan-Feb;54(1):15-24.

Beck JD, Couper DJ, Falkner KL, Graham SP, Grossi SG, Gunsolley JC, Madden T, Maupome G, Offenbacher S, Stewart DD, Trevisan M, Van Dyke TE, Genco RJ. The Periodontitis and Vascular Events (PAVE) pilot study: adverse events. *J Periodontol*. 2008 Jan;79(1):90-6.

Beck JD, Elter JR, Heiss G, Couper D, Mauriello SM, Offenbacher S. Relationship of periodontal disease to carotid artery intima-media wall thickness: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Nov;21(11):1816-22.

Beck JD, Koch GG, Rozier RG, Tudor GE. Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. *J Periodontol*. 1990 Aug;61(8):521-8.

Bezzine S, Koduri RS, Valentin E, Murakami M, Kudo I, Ghomashchi F, Sadilek M, Lambeau G, Gelb MH. Exogenously added human group X secreted phospholipase A(2) but not the group IB, IIA, and V enzymes efficiently release arachidonic acid from adherent mammalian cells. *J Biol Chem*. 2000 Feb 4;275(5):3179-91.

Bierie B, Moses HL. Transforming growth factor beta (TGF-beta) and inflammation in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010 Feb;21(1):49-59.

Bizzarro S, van der Velden U, ten Heggeler JM, Leivadarios E, Hoek FJ, Gerdes VE, Bakker SJ, Gans RO, Ten Cate H, Loos BG: Periodontitis is characterized by elevated PAI-1 activity. *J Clin Periodontol*. 2007 Jul;34(7):574-80. Epub 2007 May 29.

Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Nov 1;38(5):1302-6.

Blanchard F, Duplomb L, Baud'huin M, Brounais B. The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009 Feb;20(1):19-28.

Bodet C, Andrian E, Tanabe S, Grenier D. Actinobacillus actinomycetemcomitans lipopolysaccharide regulates matrix metalloproteinase, tissue inhibitors of matrix metalloproteinase, and plasminogen activator production by human gingival fibroblasts: a potential role in connective tissue destruction. *J Cell Physiol*. 2007 Jul;212(1):189-94.

Boilard E, Lai Y, Larabee K, Balestrieri B, Ghomashchi F, Fujioka D, Gobezie R, Coblyn JS, Weinblatt ME, Massarotti EM, Thornhill TS, Divangahi M, Remold H, Lambeau G, Gelb MH, Arm JP, Lee DM. A novel anti-inflammatory role for secretory phospholipase A2 in immune complex-mediated arthritis. *EMBO Mol Med*. 2010 May;2(5):172-87.

Borgnakke WS, Ylöstalo PV, Taylor GW, Genco RJ. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. *J Periodontol*. 2013 Apr;84(4 Suppl):S135-52.

Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Berdeli A, Atilla G, McKay IJ, Hughes FJ, Belibasakis GN. Differential expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. *J Periodontol Res*. 2007 Aug;42(4):287-93.

Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003 May 15;423(6937):337-42. Review.

Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008 Jan;214(2):149-60. Review.

Buckland AG, Wilton DC. The antibacterial properties of secreted phospholipases A(2). *Biochim Biophys Acta*. 2000 Oct 31;1488(1-2):71-82. Review.

Buhlin K, Gustafsson A, Ahnve S, Janszky I, Tabrizi F, Klinge B: Oral health in women with coronary heart disease. *J Periodontol*. 2005 Apr;76(4):544-50.

Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Pussinen PJ, Rabe P, Klinge B, Gustafsson A. Periodontal treatment influences risk markers for atherosclerosis in patients with severe periodontitis. *Atherosclerosis*. 2009 Oct;206(2):518-22.

Cairo F, Castellani S, Gori AM, Nieri M, Baldelli G, Abbate R, Pini-Prato GP. Severe periodontitis in young adults is associated with sub-clinical atherosclerosis. *J Clin Periodontol*. 2008 Jun;35(6):465-72.

Carey MC, Small DM, Bliss CM. Lipid digestion and absorption. *Annu Rev Physiol*. 1983;45:651-77. Review.

Caslake MJ, Packard CJ, Robertson M, Cooney J, Nelson JJ, Ford I, Gaw A, Jukema JW, Macfarlane PW, Stott DJ, Shepherd J; PROSPER Study Group. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), inflammatory biomarkers, and risk of cardiovascular disease in the Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER) Atherosclerosis. 2010 May;210(1):28-34.

Cercek JF, Kiger RD, Garrett S, Egelberg J. Relative effects of plaque control and instrumentation on the clinical parameters of human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1983 Jan;10(1):46-56.

Chae HJ, Byun JO, Chae SW, Kim HM, Choi HI, Pae HO, Chung HT, Kim HR. p38 MAPK and NF-kappaB on IL-6 release in human gingival fibroblasts. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2005;27(4):631-46.

Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2003;31:167-80.

Chang YC, Tsai CH, Yang SH, Liu CM, Chou MY. Induction of cyclooxygenase-2 mRNA and protein expression in human gingival fibroblasts stimulated with nicotine. *J Periodontal Res*. 2003 Oct;38(5):496-501.

Chávarry NG, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis. *Oral Health Prev Dent*. 2009;7(2):107-27.

Chen J, Engle SJ, Seilhamer JJ, Tischfield JA. Cloning and characterization of novel rat and mouse low molecular weight Ca(2+)-dependent phospholipase A2s containing 16 cysteines. *J Biol Chem*. 1994 Sep 16;269(37):23018-24.

Chen J, Engle SJ, Seilhamer JJ, Tischfield JA. Cloning and recombinant expression of a novel human low molecular weight Ca(2+)-dependent phospholipase A2. *J Biol Chem*. 1994 Jan 28;269(4):2365-8.

Chen L, Luo G, Xuan D, Wei B, Liu F, Li J, Zhang J. Effects of non-surgical periodontal treatment on clinical response, serum inflammatory parameters, and metabolic control in patients with type 2 diabetes: a randomized study. *J Periodontol*. 2012 Apr;83(4):435-43.



Chisolm GM 3rd, Chai Y. Regulation of cell growth by oxidized LDL. *Free Radic Biol Med*. 2000 Jun 15;28(12):1697-707.

Choi YA, Kim DK, Bang OS, Kang SS, Jin EJ. Secretory phospholipase A2 promotes MMP-9-mediated cell death by degrading type I collagen via the ERK pathway at an early stage of chondrogenesis. *Biol Cell*. 2009 Nov 16;102(2):107-19.

Choi YA, Lim HK, Kim JR, Lee CH, Kim YJ, Kang SS, Baek SH Group IB secretory phospholipase A2 promotes matrix metalloproteinase-2-mediated cell migration via the phosphatidylinositol 3-kinase and Akt pathway. *J Biol Chem*. 2004 Aug 27;279(35):36579-85. Epub 2004 Jun 25.

Christan C, Dietrich T, Hägewald S, Kage A, Bernimoulin JP. White blood cell count in generalized aggressive periodontitis after non-surgical therapy. *J Clin Periodontol*. 2002 Mar;29(3):201-6.

Christgau M, Palitzsch KD, Schmalz G, Kreiner U, Frenzel S. Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):112-24.

Clark JD, Lin LL, Kriz RW, Ramesha CS, Sultzman LA, Lin AY, Milona N, Knopf JL. A novel arachidonic acid-selective cytosolic PLA2 contains a Ca<sup>2+</sup>-dependent translocation domain with homology to PKC and GAP. *Cell*. 1991 Jun 14;65(6):1043-51.

Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008 Aug;79(8 Suppl):1569-76.

Coleman RA, Smith WL, Narumiya S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev*. 1994 Jun;46(2):205-29. Review.

Colley KJ, Wolfert RL, Cobble ME. Lipoprotein associated phospholipase A(2): role in atherosclerosis and utility as a biomarker for cardiovascular risk *EPMA J*. 2011 Mar;2(1):27-38

Commins S, Steinke JW, Borish L. The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 May;121(5):1108-11.

Cormier RT, Hong KH, Halberg RB, Hawkins TL, Richardson P, Mulherkar R, Dove WF, Lander ES. Secretory phospholipase Pla2g2a confers resistance to intestinal tumorigenesis. *Nat Genet*. 1997 Sep;17(1):88-91.

Correa FO, Gonçalves D, Figueredo CM, Bastos AS, Gustafsson A, Orrico SR. Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol*. 2010 Jan;37(1):53-8.

Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol*. 2008 May 1;180(9):5771-7. Review.

Couturier C, Brouillet A, Couriaud C, Koumanov K, Béréziat G, Andréani M. Interleukin 1beta induces type II-secreted phospholipase A(2) gene in vascular smooth muscle cells by a nuclear factor kappaB and peroxisome proliferator-activated receptor-mediated process. *J Biol Chem.* 1999 Aug 13;274(33):23085-93.

Craandijk J, van Krugten MV, Verweij CL, van der Velden U, Loos BG. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2002 Jan;29(1):28-34.

Craig RG. Interactions between chronic renal disease and periodontal disease. *Oral Dis.* 2008 Jan;14(1):1-7.

Crotti T, Smith MD, Hirsch R, Soukoulis S, Weedon H, Capone M, Ahern MJ, Haynes D. Receptor activator NF kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *J Periodontal Res.* 2003 Aug;38(4):380-7.

Crowl RM, Stoller TJ, Conroy RR, Stoner CR. Induction of phospholipase A2 gene expression in human hepatoma cells by mediators of the acute phase response. *J Biol Chem.* 1991 Feb 5;266(4):2647-51.

Cupillard L, Koumanov K, Mattéi MG, Lazdunski M, Lambeau G. Cloning, chromosomal mapping, and expression of a novel human secretory phospholipase A2. *J Biol Chem.* 1997 Jun 20;272(25):15745-52.

Curfs DM, Ghesquiere SA, Vergouwe MN, van der Made I, Gijbels MJ, Greaves DR, Verbeek JS, Hofker MH, de Winther MP. Macrophage secretory phospholipase A2 group X enhances anti-inflammatory responses, promotes lipid accumulation, and contributes to aberrant lung pathology. *J Biol Chem.* 2008 Aug 1;283(31):21640-8.

Czuszak CA, Sutherland DE, Billman MA, Stein SH. Prostaglandin E2 potentiates interleukin-1 beta induced interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol.* 1996 Jul;23(7):635-40.

D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res.* 2005 Mar;84(3):269-73.

D'Aiuto F, Orlandi M, Gunsolley JC Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. *J Clin Periodontol.* 2013 Apr;40 Suppl 14:S85-105.

D'Aiuto F, Parkar M, Nibali L, Suvan J, Lessem J, Tonetti MS. Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: results from a randomized controlled clinical trial. *Am Heart J.* 2006 May;151(5):977-84.

D'Aiuto F, Parkar M, Tonetti MS. Acute effects of periodontal therapy on bio-markers of vascular health. *J Clin Periodontol.* 2007 Feb;34(2):124-9.

Daniels LB, Laughlin GA, Sarno MJ, Bettencourt R, Wolfert RL, Barrett-Connor E. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease

in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Mar 4;51(9):913-9.

de Pablo P, Chapple IL, Buckley CD, Dietrich T. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2009 Apr;5(4):218-24.

Degousee N, Ghomashchi F, Stefanski E, Singer A, Smart BP, Borregaard N, Reithmeier R, Lindsay TF, Lichtenberger C, Reinisch W, Lambeau G, Arm J, Tischfield J, Gelb MH, Rubin BB. Groups IV, V, and X phospholipases A2s in human neutrophils: role in eicosanoid production and gram-negative bacterial phospholipid hydrolysis. *J Biol Chem*. 2002 Feb 15;277(7):5061-73. Epub 2001 Dec 6.

Delima AJ, Van Dyke TE. Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000*. 2003;31:55-76.

Dennis EA. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *J Biol Chem*. 1994 May 6;269(18):13057-60. Review.

Dietrich T, Sharma P, Walter C, Weston P, Beck J. The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *J Periodontol*. 2013 Apr;84(4 Suppl):S70-84.

Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:519-50.

Dinarello CA. Interleukin-1. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1997 Dec;8(4):253-65. Review.

Dinarello CA. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine. *Eur Cytokine Netw*. 2000 Sep;11(3):483-6. Review.

Dong Q, Patel M, Scott KF, Graham GG, Russell PJ, Sved P. Oncogenic action of phospholipase A2 in prostate cancer. *Cancer Lett*. 2006 Aug 18;240(1):9-16. Epub 2005 Sep 22.

Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, Bastos MF, Faveri M. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol*. 2010 Jul;81(7):1056-63.

Dubouix A, Campanac C, Fauvel J, Simon MF, Salles JP, Roques C, Chap H, Marty N. Bactericidal properties of group IIa secreted phospholipase A(2) against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *J Med Microbiol*. 2003 Dec;52(Pt 12):1039-45.

Ebersole JL, Cappelli D, Holt SC, Singer RE, Filloon T. Gingival crevicular fluid inflammatory mediators and bacteriology of gingivitis in nonhuman primates related to susceptibility to periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2000 Feb;15(1):19-26.

Eder K, Baffy N, Falus A, Fulop AK. The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res*. 2009 Nov;58(11):727-36.

ElAttar TM. Prostaglandin E2 in human gingiva in health and disease and its stimulation by female sex steroids. *Prostaglandins*. 1976 Feb;11(2):331-41.

Elkind MS, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and risk of recurrent stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27(1):42-50.

Elter JR, Hinderliter AL, Offenbacher S, Beck JD, Caughey M, Brodala N, Madianos PN. The effects of periodontal therapy on vascular endothelial function: a pilot trial. *Am Heart J*. 2006 Jan;151(1):47.

Endo T, Ogushi F, Sone S. LPS-dependent cyclooxygenase-2 induction in human monocytes is down-regulated by IL-13, but not by IFN-gamma. *J Immunol*. 1996 Mar 15;156(6):2240-6.

Engelbrecht S, Kocher T. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2013 Apr;40 Suppl 14:S153-63.

Enomoto A, Murakami M, Valentin E, Lambeau G, Gelb MH, Kudo I. Redundant and segregated functions of granule-associated heparin-binding group II subfamily of secretory phospholipases A2 in the regulation of degranulation and prostaglandin D2 synthesis in mast cells. *J Immunol*. 2000 Oct 1;165(7):4007-14.

Epps KC, Wilensky RL Lp-PLA<sub>2</sub>- a novel risk factor for high-risk coronary and carotid artery disease. *J Intern Med*. 2011 Jan;269(1):94-106.

Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol Res*. 2013 Feb;48(1):44-51.

Escoffier J, Jemel I, Tanemoto A, Taketomi Y, Payre C, Coatrieux C, Sato H, Yamamoto K, Masuda S, Pernet-Gallay K, Pierre V, Hara S, Murakami M, De Waard M, Lambeau G, Arnoult C. Group X phospholipase A2 is released during sperm acrosome reaction and controls fertility outcome in mice. *J Clin Invest*. 2010 May;120(5):1415-28.

Fedyk ER, Harris SG, Padilla J, Phipps RP. Prostaglandin receptors of the EP2 and EP4 subtypes regulate B lymphocyte activation and differentiation to IgE-secreting cells. *Adv Exp Med Biol*. 1997;433:153-7.

Feigen LP. Actions of prostaglandins in peripheral vascular beds. *Fed Proc*. 1981 May 15;40(7):1987-90.

Fentoğlu O, Köroğlu BK, Kara Y, Doğan B, Yılmaz G, Sütçü R, Ay ZY, Tonguç MÖ, Orhan H, Tamer MN, Kirzioğlu FY. Serum lipoprotein-associated phospholipase A<sub>2</sub> and C-reactive protein levels in association with periodontal disease and hyperlipidemia. *J Periodontol*. 2011 Mar;82(3):350-9.

Fokkema SJ, Loos BG, Hart AA, van der Velden U Long-term effect of full-mouth tooth extraction on the responsiveness of peripheral blood monocytes. *J Clin Periodontol*. 2003 Aug;30(8):756-60.

Fonseca JE, Santos MJ, Canhão H, Choy E. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmun Rev.* 2009 Jun;8(7):538-42.

Foreman-Wykert AK, Weinrauch Y, Elsbach P, Weiss J. Cell-wall determinants of the bactericidal action of group IIA phospholipase A2 against Gram-positive bacteria. *J Clin Invest.* 1999 Mar;103(5):715-21.

Fourcade O, Simon MF, Viodé C, Rugani N, Leballe F, Ragab A, Fournié B, Sarda L, Chap H. Secretory phospholipase A2 generates the novel lipid mediator lysophosphatidic acid in membrane microvesicles shed from activated cells. *Cell.* 1995 Mar 24;80(6):919-27.

Fujioka D, Saito Y, Kobayashi T, Yano T, Tezuka H, Ishimoto Y, Suzuki N, Yokota Y, Nakamura T, Obata JE, Kanazawa M, Kawabata K, Hanasaki K, Kugiyama K. Reduction in myocardial ischemia/reperfusion injury in group X secretory phospholipase A2-deficient mice. *Circulation.* 2008 Jun 10;117(23):2977-85. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.743997. Epub 2008 May 27.

Garza CA, Montori VM, McConnell JP, Somers VK, Kullo IJ, Lopez-Jimenez F. Association between lipoprotein-associated phospholipase A2 and cardiovascular disease: a systematic review. *Mayo Clin Proc.* 2007 Feb;82(2):159-65.

Gee K, Guzzo C, Che Mat NF, Ma W, Kumar A. The IL-12 family of cytokines in infection, inflammation and autoimmune disorders. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2009 Mar;8(1):40-52.

Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH: Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J Periodontol.* 2002 Jan;73(1):73-8.

Gelb MH, Valentin E, Ghomashchi F, Lazdunski M, Lambeau G. Cloning and recombinant expression of a structurally novel human secreted phospholipase A2. *J Biol Chem.* 2000 Dec 22;275(51):39823-6.

Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 1997 Jun;14:112-43. Review.

Gemmell E, Seymour GJ. Cytokine profiles of cells extracted from humans with periodontal diseases. *J Dent Res.* 1998 Jan;77(1):16-26.

Genco RJ, Ho AW, Kopman J, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Ann Periodontol.* 1998 Jul;3(1):288-302.

Genco RJ, Williams RC. *Periodontal Disease and Overall Health: A Clinician's Guide.* Professional Audience Communications, Inc. USA 2010, pg 13

Giannobile WV. C-telopeptide pyridinoline cross-links. Sensitive indicators of periodontal tissue destruction. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Jun 30;878:404-12. Review.

Goldstein IM, Kaplan HB, Edelson HS, Weissmann G. Ceruloplasmin. A scavenger of superoxide anion radicals. *J Biol Chem*. 1979 May 25;254(10):4040-5.

González JR, Herrmann JM, Boedeker RH, Francz PI, Biesalski H, Meyle J. Concentration of interleukin-1beta and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2001 Jun;28(6):544-9.

Gora S, Perret C, Jemel I, Nicaud V, Lambeau G, Cambien F, Ninio E, Blankenberg S, Tiret L, Karabina SA. Molecular and functional characterization of polymorphisms in the secreted phospholipase A2 group X gene: relevance to coronary artery disease. *J Mol Med (Berl)*. 2009 Jul;87(7):723-33.

Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. Interleukin-18. *J Leukoc Biol*. 2003 Feb;73(2):213-24.

Gräler MH, Goetzl EJ. Lysophospholipids and their G protein-coupled receptors in inflammation and immunity. *Biochim Biophys Acta*. 2002 May 23;1582(1-3):168-74. Review.

Granata F, Balestrieri B, Petraroli A, Giannattasio G, Marone G, Triggiani M. Secretory phospholipases A2 as multivalent mediators of inflammatory and allergic disorders. *Int Arch Allergy Immunol*. 2003 Jul;131(3):153-63. Review.

Granata F, Petraroli A, Boilard E, Bezzine S, Bollinger J, Del Vecchio L, Gelb MH, Lambeau G, Marone G, Triggiani M. Activation of cytokine production by secreted phospholipase A2 in human lung macrophages expressing the M-type receptor. *J Immunol*. 2005 Jan 1;174(1):464-74.

Graziani F, Cei S, La Ferla F, Vano M, Gabriele M, Tonetti M. Effects of non-surgical periodontal therapy on the glomerular filtration rate of the kidney: an exploratory trial. *J Clin Periodontol*. 2010 Jul;37(7):638-43.

Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003;31:32-42.

Grossi SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, Zambon JJ, Hausmann E. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J Periodontol*. 1995 Jan;66(1):23-9.

Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM, Genco RJ. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol*. 1994 Mar;65(3):260-7.

Guentsch A, Kramesberger M, Sroka A, Pfister W, Potempa J, Eick S. Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis *J Periodontol*. 2011 Jul;82(7):1051-60.

Guillaume C, Deregnaucourt C, Clavey V, Schrével J. Anti-Plasmodium properties of group IA, IB, IIA and III secreted phospholipases A2 are serum-dependent. *Toxicon*. 2004 Mar 1;43(3):311-8.

Gursoy UK, Könönen E, Huuromonen S, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen AL, Sorsa T. Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2013 Jan;40(1):18-25.

Gursoy UK, Könönen E, Pradhan-Palikhe P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen-Taipale L, Sorsa T. Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010 Jun;37(6):487-93.

Haber J, Kent RL. Cigarette smoking in a periodontal practice. *J Periodontol*. 1992 Feb;63(2):100-6.

Hack CE, Niessen HW. Cardiovascular secrets of secretory phospholipase A(2). *Eur J Clin Invest*. 2002 Jun;32(6):381-2.

Häkkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, Macphee CH, Milliner KJ, Patel L, Rice SQ, Tew DG, Karkola K, Ylä-Herttuala S. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Dec;19(12):2909-17.

Hallstrand TS, Chi EY, Singer AG, Gelb MH, Henderson WR Jr. Secreted phospholipase A2 group X overexpression in asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Dec 1;176(11):1072-8. Epub 2007 Sep 27.

Hanasaki K, Ono T, Saiga A, Morioka Y, Ikeda M, Kawamoto K, Higashino K, Nakano K, Yamada K, Ishizaki J, Arita H. Purified group X secretory phospholipase A(2) induced prominent release of arachidonic acid from human myeloid leukemia cells. *J Biol Chem*. 1999 Nov 26;274(48):34203-11.

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*. 2007 Feb;65(1):1-13.

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*. 2007 Feb;65(1):1-13.

Hara S, Kudo I, Komatani T, Takahashi K, Nakatani Y, Natori Y, Ohshima M, Inoue K. Detection and purification of two 14 kDa phospholipase A2 isoforms in rat kidney: their role in eicosanoid synthesis. *Biochim Biophys Acta*. 1995 Jun 27;1257(1):11-7.

Harwig SS, Tan L, Qu XD, Cho Y, Eisenhauer PB, Lehrer RI. Bactericidal properties of murine intestinal phospholipase A2. *J Clin Invest*. 1995 Feb;95(2):603-10.

Harwig SS, Tan L, Qu XD, Cho Y, Eisenhauer PB, Lehrer RI. Harwig SS, Tan L, Qu XD, Cho Y, Eisenhauer PB, Lehrer RI. *J Clin Invest*. 1995 Feb;95(2):603-10.

Hatch GM, Vance DE, Wilton DC. Rat liver mitochondrial phospholipase A2 is an endotoxin-stimulated membrane-associated enzyme of Kupffer cells which is released during liver perfusion. *Biochem J*. 1993 Jul 1;293 ( Pt 1):143-50.

Hatoum IJ, Hu FB, Nelson JJ, Rimm EB. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and incident coronary heart disease among men and women with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2010 May;59(5):1239-43

Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res*. 1993 Jul;28(4):241-7.

Heasman PA, Lauffart BL, Preshaw PM. Crevicular fluid prostaglandin E2 levels in periodontitis-resistant and periodontitis-susceptible adults. *J Clin Periodontol*. 1998 Dec;25(12):1003-7.

Heinricher MM, Neubert MJ, Martenson ME, Gonçalves L. Prostaglandin E2 in the medial preoptic area produces hyperalgesia and activates pain-modulating circuitry in the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience*. 2004;128(2):389-98.

Hernández Ríos M, Sorsa T, Obregón F, Tervahartiala T, Valenzuela MA, Pozo P, Dutzan N, Lesaffre E, Molas M, Gamonal J. Proteolytic roles of matrix metalloproteinase (MMP)-13 during progression of chronic periodontitis: initial evidence for MMP-13/MMP-9 activation cascade. *J Clin Periodontol*. 2009 Dec;36(12):1011-7.

Higashi Y, Goto C, Jitsuiki D, Umemura T, Nishioka K, Hidaka T, Takemoto H, Nakamura S, Soga J, Chayama K, Yoshizumi M, Taguchi A: Periodontal infection is associated with endothelial dysfunction in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension*. 2008 Feb;51(2):446-53. Epub 2007 Nov 26.

Hla T, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Aug 15;89(16):7384-8.

Ho IC, Arm JP, Bingham CO 3rd, Choi A, Austen KF, Glimcher LH. A novel group of phospholipase A2s preferentially expressed in type 2 helper T cells. *J Biol Chem*. 2001 May 25;276(21):18321-6. Epub 2001 Mar 12.

Ho YS, Sheffield PJ, Masuyama J, Arai H, Li J, Aoki J, Inoue K, Derewenda U, Derewenda ZS. Probing the substrate specificity of the intracellular brain platelet-activating factor acetylhydrolase. *Protein Eng*. 1999 Aug;12(8):693-700.

Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone*. 1999 Sep;25(3):255-9.

Honda T, Segi-Nishida E, Miyachi Y, Narumiya S. Prostacyclin-IP signaling and prostaglandin E2-EP2/EP4 signaling both mediate joint inflammation in mouse collagen-induced arthritis. *J Exp Med*. 2006 Feb 20;203(2):325-35. Epub 2006 Jan 30.

Horigome K, Hayakawa M, Inoue K, Nojima S. Selective release of phospholipase A2 and lysophosphatidylserine-specific lysophospholipase from rat platelets. *J Biochem*. 1987 Jan;101(1):53-61.



Huggins KW, Boileau AC, Hui DY. Protection against diet-induced obesity and obesity-related insulin resistance in Group 1B PLA2-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002 Nov;283(5):E994-E1001.

Hughes FJ, Turner W, Belibasakis G, Martuscelli G. Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation. *Periodontol 2000.* 2006;41:48-72.

Hughes FJ. Cytokines and cell signalling in the periodontium. *Oral Dis.* 1995 Dec;1(4):259-65.

Hussain Bokhari SA, Khan AA, Tatakis DN, Azhar M, Hanif M, Izhar M. Non-surgical periodontal therapy lowers serum inflammatory markers: a pilot study. *J Periodontol.* 2009 Oct;80(10):1574-80.

Ibeas E, Fuentes L, Martín R, Hernández M, Nieto ML. Secreted phospholipase A2 type IIA as a mediator connecting innate and adaptive immunity: new role in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2009 Jan 1;81(1):54-63.

Ide M, Jagdev D, Coward PY, Crook M, Barclay GR, Wilson RF. The short-term effects of treatment of chronic periodontitis on circulating levels of endotoxin, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6. *J Periodontol.* 2004 Mar;75(3):420-8.

Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol.* 2003 Apr;30(4):334-40.

Inada M, Tojo H, Kawata S, Tarui S, Okamoto M. Preferential distribution of group-II-like phospholipase A2 in mononuclear phagocytic cells in rat spleen and liver. *Eur J Biochem.* 1991 Apr 23;197(2):323-9.

Inagaki K, Krall EA, Fleet JC, Garcia RI. Vitamin D receptor alleles, periodontal disease progression, and tooth loss in the VA dental longitudinal study. *J Periodontol.* 2003 Feb;74(2):161-7.

Ingman T, Sorsa T, Michaelis J, Konttinen YT. Matrix metalloproteinases-1, -3, and -8 in adult periodontitis in situ. An immunohistochemical study. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Sep 6;732:459-61.

Ioannidou E, Malekzadeh T, Dongari-Bagtzoglou A. Effect of periodontal treatment on serum C-reactive protein levels: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2006 Oct;77(10):1635-42. Review.

Ishizaki J, Suzuki N, Higashino K, Yokota Y, Ono T, Kawamoto K, Fujii N, Arita H, Hanasaki K. Cloning and characterization of novel mouse and human secretory phospholipase A(2)s. *J Biol Chem.* 1999 Aug 27;274(35):24973-9.

Ishizaki J, Suzuki N, Higashino K, Yokota Y, Ono T, Kawamoto K, Fujii N, Arita H, Hanasaki K. Cloning and characterization of novel mouse and human secretory phospholipase A(2)s. *J Biol Chem.* 1999 Aug 27;274(35):24973-9.

Iwamoto Y, Nishimura F, Nakagawa M, Sugimoto H, Shikata K, Makino H, Fukuda T, Tsuji T, Iwamoto M, Murayama Y. The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor-alpha and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2001 Jun;72(6):774-8.

Iwamoto Y, Nishimura F, Soga Y, Takeuchi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y. Antimicrobial periodontal treatment decreases serum C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, but not adiponectin levels in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2003 Aug;74(8):1231-6.

Jackson JR, Seed MP, Kircher CH, Willoughby DA, Winkler JD. The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *FASEB J.* 1997 May;11(6):457-65.

Jaross W, Eckey R, Menschikowski M. Biological effects of secretory phospholipase A(2) group IIA on lipoproteins and in atherogenesis. *Eur J Clin Invest.* 2002 Jun;32(6):383-93. Review.

Jin L, Söder B, Corbet EF. Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000 Jun;71(6):929-39.

Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. *J Biol Chem.* 1993 Apr 25;268(12):9049-54.

Kabashima K, Sakata D, Nagamachi M, Miyachi Y, Inaba K, Narumiya S. Prostaglandin E2-EP4 signaling initiates skin immune responses by promoting migration and maturation of Langerhans cells. *Nat Med.* 2003 Jun;9(6):744-9.

Kallio KA, Buhlin K, Jauhiainen M, Keva R, Tuomainen AM, Klinge B, Gustafsson A, Pussinen PJ. Lipopolysaccharide associates with pro-atherogenic lipoproteins in periodontitis patients. *Innate Immun.* 2008 Aug;14(4):247-53.

Kallio KA, Buhlin K, Jauhiainen M, Keva R, Tuomainen AM, Klinge B, Gustafsson A, Pussinen PJ. Lipopolysaccharide associates with pro-atherogenic lipoproteins in periodontitis patients. *Innate Immun.* 2008 Aug;14(4):247-53.

Kamil W, Al Habashneh R, Khader Y, Al Bayati L, Taani D. Effects of nonsurgical periodontal therapy on C-reactive protein and serum lipids in Jordanian adults with advanced periodontitis. *J Periodontal Res.* 2011 Oct;46(5):616-21.

Kang K, Reilly SM, Karabacak V, Gangl MR, Fitzgerald K, Hatano B, Lee CH. Adipocyte-derived Th2 cytokines and myeloid PPARdelta regulate macrophage polarization and insulin sensitivity. *Cell Metab.* 2008 Jun;7(6):485-95.

Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis *J Bone Miner Res.* 2002 Feb;17(2):210-20.

Karli UO, Schäfer T, Burger MM. Fusion of neurotransmitter vesicles with target membrane is calcium independent in a cell-free system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Aug;87(15):5912-5.

Katamura K, Shintaku N, Yamauchi Y, Fukui T, Ohshima Y, Mayumi M, Furusho K. Prostaglandin E2 at priming of naive CD4+ T cells inhibits acquisition of ability to produce IFN-gamma and IL-2, but not IL-4 and IL-5. *J Immunol*. 1995 Nov 15;155(10):4604-12.

Keles GC, Cetinkaya BO, Pamuk F, Balli U. Activity of platelet activating factor acetylhydrolase following phase I periodontal therapy. *West Indian Med J*. 2013 Jan;62(1):62-7.

Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*. 2001 Dec;142(12):5050-5. Review.

Kikawada E, Bonventre JV, Arm JP. Group V secretory PLA2 regulates TLR2-dependent eicosanoid generation in mouse mast cells through amplification of ERK and cPLA2alpha activation. *Blood*. 2007 Jul 15;110(2):561-7. Epub 2007 Mar 16.

Kim CH, Park YG, Noh SH, Kim YK. PGE2 induces the gene expression of bone matrix metalloproteinase-1 in mouse osteoblasts by cAMP-PKA signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005 Feb;37(2):375-85.

Kim JB, Jung MH, Cho JY, Park JW, Suh JY, Lee JM. The influence of type 2 diabetes mellitus on the expression of inflammatory mediators and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 in human chronic periodontitis. *J Periodontal Implant Sci*. 2011 Jun;41(3):109-16.

Kim ND, Chou RC, Seung E, Tager AM, Luster AD. A unique requirement for the leukotriene B4 receptor BLT1 for neutrophil recruitment in inflammatory arthritis. *J Exp Med*. 2006 Apr 17;203(4):829-35. Epub 2006 Mar 27.

Kim YJ, Kim KP, Han SK, Munoz NM, Zhu X, Sano H, Leff AR, Cho W. Group V phospholipase A2 induces leukotriene biosynthesis in human neutrophils through the activation of group IVA phospholipase A2. *J Biol Chem*. 2002 Sep 27;277(39):36479-88. Epub 2002 Jul 17.

Kimura-Matsumoto M, Ishikawa Y, Komiyama K, Tsuruta T, Murakami M, Masuda S, Akasaka Y, Ito K, Ishiguro S, Morita H, Sato S, Ishii T. Expression of secretory phospholipase A2s in human atherosclerosis development. *Atherosclerosis*. 2008 Jan;196(1):81-91. Epub 2007 Mar 13.

Kobayashi T, Yamamoto K, Sugita N, van der Pol WL, Yasuda K, Kaneko S, van de Winkel JG, Yoshie H. The Fc gamma receptor genotype as a severity factor for chronic periodontitis in Japanese patients. *J Periodontol*. 2001 Oct;72(10):1324-31.

Koduri RS, Grönroos JO, Laine VJ, Le Calvez C, Lambeau G, Nevalainen TJ, Gelb MH. Bactericidal properties of human and murine groups I, II, V, X, and XII secreted phospholipases A(2). *J Biol Chem*. 2002 Feb 22;277(8):5849-57. Epub 2001 Nov 2.

Koduri RS, Grönroos JO, Laine VJ, Le Calvez C, Lambeau G, Nevalainen TJ, Gelb MH. Bactericidal properties of human and murine groups I, II, V, X, and XII secreted phospholipases A(2). *J Biol Chem*. 2002 Feb 22;277(8):5849-57.

Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Jul;26(7):1586-93

Koide M, Kinugawa S, Takahashi N, Udagawa N. Osteoclastic bone resorption induced by innate immune responses. *Periodontol 2000*. 2010 Oct;54(1):235-46.

Kolodgie FD, Burke AP, Skorija KS, Ladich E, Kutys R, Makuria AT, Virmani R. Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Nov;26(11):2523-9.

Komada M, Kudo I, Mizushima H, Kitamura N, Inoue K. Structure of cDNA coding for rat platelet phospholipase A2. *J Biochem*. 1989 Oct;106(4):545-7.

Komai-Koma M, Gracie JA, Wei XQ, Xu D, Thomson N, McInnes IB, Liew FY. Chemoattraction of human T cells by IL-18. *J Immunol*. 2003 Jan 15;170(2):1084-90.

Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:485-517.

Koromantzos PA, Makrilakis K, Dereka X, Katsilambros N, Vrotsos IA, Madianos PN. A randomized, controlled trial on the effect of non-surgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes. Part I: effect on periodontal status and glycaemic control. *J Clin Periodontol*. 2011 Feb;38(2):142-7.

Koropouli MC, Markakis CP, Baltas G and Kotsifaki H (2005), 'Secretory phospholipaseA2 (sPLA2) activity in periodontitis', *Chemistry and Physics of Lipids*. Abstr #67, 136, 150.

Kougias P, Chai H, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, Chen C. Lysophosphatidylcholine and secretory phospholipase A2 in vascular disease: mediators of endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Med Sci Monit*. 2006 Jan;12(1):RA5-16.

Kraemer SA, Meade EA, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide synthase gene structure: identification of the transcriptional start site and 5'-flanking regulatory sequences. *Arch Biochem Biophys*. 1992 Mar;293(2):391-400.

Kramer RM, Hession C, Johansen B, Hayes G, McGray P, Chow EP, Tizard R, Pepinsky RB. Structure and properties of a human non-pancreatic phospholipase A2. *J Biol Chem*. 1989 Apr 5;264(10):5768-75.

Kramer RM, Roberts EF, Manetta J, Putnam JE. The Ca<sup>2+</sup>(+)-sensitive cytosolic phospholipase A2 is a 100-kDa protein in human monoblast U937 cells. *J Biol Chem*. 1991 Mar 15;266(8):5268-72.

Kudo I, Murakami M, Hara S, Inoue K. Mammalian non-pancreatic phospholipases A2. *Biochim Biophys Acta*. 1993 Nov 3;1170(3):217-31. Review.

Kugiyama K, Ota Y, Takazoe K, Moriyama Y, Kawano H, Miyao Y, Sakamoto T, Soejima H, Ogawa H, Doi H, Sugiyama S, Yasue H. Circulating levels of secretory type II phospholipase A(2) predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 1999 Sep 21;100(12):1280-4.

Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem*. 1991 Jul 15;266(20):12866-72.

Kusumoto Y, Hirano H, Saitoh K, Yamada S, Takedachi M, Nozaki T, Ozawa Y, Nakahira Y, Saho T, Ogo H, Shimabukuro Y, Okada H, Murakami S. Human gingival epithelial cells produce chemotactic factors interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 after stimulation with *Porphyromonas gingivalis* via toll-like receptor 2. *J Periodontol*. 2004 Mar;75(3):370-9.

Kuwata H, Nakatani Y, Murakami M, Kudo I. Cytosolic phospholipase A2 is required for cytokine-induced expression of type IIA secretory phospholipase A2 that mediates optimal cyclooxygenase-2-dependent delayed prostaglandin E2 generation in rat 3Y1 fibroblasts. *J Biol Chem*. 1998 Jan 16;273(3):1733-40.

Kuwata H, Sawada H, Murakami M, Kudo I. Role of type IIA secretory phospholipase A2 in arachidonic acid metabolism. *Adv Exp Med Biol*. 1999;469:183-8.

Kuwata H, Sawada H, Murakami M, Kudo I. Role of type IIA secretory phospholipase A2 in arachidonic acid metabolism. *Adv Exp Med Biol*. 1999;469:183-8.

Kuwata H, Yamamoto S, Miyazaki Y, Shimbara S, Nakatani Y, Suzuki H, Ueda N, Yamamoto S, Murakami M, Kudo I. Studies on a mechanism by which cytosolic phospholipase A2 regulates the expression and function of type IIA secretory phospholipase A2. *J Immunol*. 2000 Oct 1;165(7):4024-31.

Lai Y, Oslund RC, Bollinger JG, Henderson WR Jr, Santana LF, Altemeier WA, Gelb MH, Hallstrand TS. Eosinophil cysteinyl leukotriene synthesis mediated by exogenous secreted phospholipase A2 group X. *J Biol Chem*. 2010 Dec 31;285(53):41491-500.

Laine VJ, Grass DS, Nevalainen TJ. Protection by group II phospholipase A2 against *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 1999 Jun 15;162(12):7402-8.

Laine VJ, Grass DS, Nevalainen TJ. Resistance of transgenic mice expressing human group II phospholipase A2 to *Escherichia coli* infection. *Infect Immun*. 2000 Jan;68(1):87-92.

Lalla E, Kaplan S, Yang J, Roth GA, Papapanou PN, Greenberg S. Effects of periodontal therapy on serum C-reactive protein, sE-selectin, and tumor necrosis factor-alpha secretion by peripheral blood-derived macrophages in diabetes. A pilot study. *J Periodontal Res*. 2007 Jun;42(3):274-82.

Lambeau G, Gelb MH. Biochemistry and physiology of mammalian secreted phospholipases A2. *Annu Rev Biochem.* 2008;77:495-520. doi: 10.1146/annurev.biochem.76.062405.154007. Review.

Lamster IB. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol.* 1997 Mar;2(1):123-37. Review.

Lee SH, Soyoola E, Chanmugam P, Hart S, Sun W, Zhong H, Liou S, Simmons D, Hwang D. Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J Biol Chem.* 1992 Dec 25;267(36):25934-8.

Leibur E, Tuhkanen A, Pintson U, Söder PO. Prostaglandin E2 levels in blood plasma and in crevicular fluid of advanced periodontitis patients before and after surgical therapy. *Oral Dis.* 1999 Jul;5(3):223-8.

Leibur E, Tuhkanen A, Pintson U, Söder PO. Prostaglandin E2 levels in blood plasma and in crevicular fluid of advanced periodontitis patients before and after surgical therapy. *Oral Dis.* 1999 Jul;5(3):223-8.

Lerman A, McConnell JP. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a risk marker or a risk factor? *Am J Cardiol.* 2008 Jun 16;101(12A):11F-22F

Leung SY, Chen X, Chu KM, Yuen ST, Mathy J, Ji J, Chan AS, Li R, Law S, Troyanskaya OG, Tu IP, Wong J, So S, Botstein D, Brown PO. Phospholipase A2 group IIA expression in gastric adenocarcinoma is associated with prolonged survival and less frequent metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Dec 10;99(25):16203-8. Epub 2002 Nov 27.

Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev.* 2000 Oct;13(4):547-58. Review.

Li X, Shridas P, Forrest K, Bailey W, Webb NR. Group X secretory phospholipase A2 negatively regulates adipogenesis in murine models. *FASEB J.* 2010 Nov;24(11):4313-24.

Lin LL, Wartmann M, Lin AY, Knopf JL, Seth A, Davis RJ. cPLA2 is phosphorylated and activated by MAP kinase. *Cell.* 1993 Jan 29;72(2):269-78.

Linden GJ, Lyons A, Scannapieco FA. Periodontal systemic associations: review of the evidence *J Periodontol.* 2013 Apr;84(4 Suppl):S8-S19.

Liu CM, Hou LT, Wong MY, Rossomando EF. Relationships between clinical parameters, Interleukin 1B and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. *Cytokine.* 1996 Feb;8(2):161-7.

Liu YC, Lerner UH, Teng YT. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontol 2000.* 2010 Feb;52(1):163-206.

Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 2001 Feb 23;104(4):487-501.

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.* 2000 Oct;71(10):1528-34.

Loos BG: Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol.* 2005 Nov;76(11 Suppl):2106-15. Review.

Lösche W, Marshal GJ, Apatzidou DA, Krause S, Kocher T, Kinane DF. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and plasma lipids in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2005 Jun;32(6):640-4.

Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:57-71.

Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol.* 2013 Apr;84(4 Suppl):S170-80.

Mallat Z, Steg PG, Benessiano J, Tanguy ML, Fox KA, Collet JP, Dabbous OH, Henry P, Carruthers KF, Dauphin A, Arguelles CS, Masliah J, Hugel B, Montalescot G, Freyssinet JM, Asselain B, Tedgui A. Circulating secretory phospholipase A2 activity predicts recurrent events in patients with severe acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Oct 4;46(7):1249-57.

Mancuso P, Peters-Golden M. Modulation of alveolar macrophage phagocytosis by leukotrienes is Fc receptor-mediated and protein kinase C-dependent. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000 Dec;23(6):727-33.

Marcaccini AM, Meschiari CA, Sorgi CA, Saraiva MC, de Souza AM, Faccioli LH, Tanus-Santos JE, Novaes AB, Gerlach RF. Circulating interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein decrease after periodontal therapy in otherwise healthy subjects. *J Periodontol.* 2009 Apr;80(4):594-602.

Marcaccini AM, Meschiari CA, Zuardi LR, de Sousa TS, Taba M Jr, Teofilo JM, Jacob-Ferreira AL, Tanus-Santos JE, Novaes AB Jr, Gerlach RF. Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 2010 Feb;37(2):180-90.

Mark KS, Trickler WJ, Miller DW. Tumor necrosis factor-alpha induces cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin release in brain microvessel endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001 Jun;297(3):1051-8.

Markakis CP, Koropouli MC, Grammenou S and Kotsifaki H (2006), 'Secretory phospholipaseA2 (sPLA2) activity in periodontitis', *Chemistry and Physics of Lipids.* Abstr #1, 143, 66.

Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990 May;25(3):156-63.

Masferrer JL, Reddy ST, Zweifel BS, Seibert K, Needleman P, Gilbert RS, Herschman HR. In vivo glucocorticoids regulate cyclooxygenase-2 but not cyclooxygenase-1 in peritoneal macrophages. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994 Sep;270(3):1340-4.

Masuda S, Murakami M, Ishikawa Y, Ishii T, Kudo I. Diverse cellular localizations of secretory phospholipase A2 enzymes in several human tissues. *Biochim Biophys Acta.* 2005 Oct 1;1736(3):200-10. Epub 2005 Sep 7.

Masuda S, Murakami M, Matsumoto S, Eguchi N, Urade Y, Lambeau G, Gelb MH, Ishikawa Y, Ishii T, Kudo I. Localization of various secretory phospholipase A2 enzymes in male reproductive organs. *Biochim Biophys Acta.* 2004 Nov 8;1686(1-2):61-76.

Masuda S, Murakami M, Mitsuishi M, Komiyama K, Ishikawa Y, Ishii T, Kudo I. Expression of secretory phospholipase A2 enzymes in lungs of humans with pneumonia and their potential prostaglandin-synthetic function in human lung-derived cells. *Biochem J.* 2005 Apr 1;387(Pt 1):27-38.

Masuda S, Murakami M, Takanezawa Y, Aoki J, Arai H, Ishikawa Y, Ishii T, Arioka M, Kudo I. Neuronal expression and neuritogenic action of group X secreted phospholipase A2. *J Biol Chem.* 2005 Jun 17;280(24):23203-14. Epub 2005 Mar 21.

Masuda S, Yamamoto K, Hirabayashi T, Ishikawa Y, Ishii T, Kudo I, Murakami M. Human group III secreted phospholipase A2 promotes neuronal outgrowth and survival. *Biochem J.* 2008 Jan 15;409(2):429-38.

Matheson NR, Wong PS, Travis J. Isolation and properties of human neutrophil myeloperoxidase. *Biochemistry.* 1981 Jan 20;20(2):325-30.

Mathis SP, Jala VR, Lee DM, Haribabu B. Nonredundant roles for leukotriene B4 receptors BLT1 and BLT2 in inflammatory arthritis. *J Immunol.* 2010 Sep 1;185(5):3049-56.

Matsuzawa A, Murakami M, Atsumi G, Imai K, Prados P, Inoue K, Kudo I. Release of secretory phospholipase A2 from rat neuronal cells and its possible function in the regulation of catecholamine secretion. *Biochem J.* 1996 Sep 1;318 ( Pt 2):701-9.

Maynard CL, Weaver CT. Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation. *Immunol Rev.* 2008 Dec;226:219-33.

McCoy JM, Wicks JR, Audoly LP. The role of prostaglandin E2 receptors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2002 Sep;110(5):651-8.

McDonald JS, Cavanaugh PF, Pavelic LJ, Limardi RJ, Gluckman JL, Pavelic ZP. Prostaglandin H synthase isoenzyme distribution in the gingival tissue of patients with periodontitis: pronounced expression adjacent to gram-positive bacteria. *Inflammopharmacology.* 1997;5(2):109-18.

McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. *J Periodontol.* 1999 Jan;70(1):49-56.



McMullen TW, Li J, Sheffield PJ, Aoki J, Martin TW, Arai H, Inoue K, Derewenda ZS. The functional implications of the dimerization of the catalytic subunits of the mammalian brain platelet-activating factor acetylhydrolase (Ib). *Protein Eng.* 2000 Dec;13(12):865-71.

Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006 Aug;77(8):1289-303.

Meisel P, Carlsson LE, Sawaf H, Fanghaenel J, Greinacher A, Kocher T. Polymorphisms of Fc gamma-receptors RIIa, RIIIa, and RIIIb in patients with adult periodontal diseases. *Genes Immun.* 2001 Aug;2(5):258-62.

Memon RA, Fuller J, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. In vivo regulation of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase during the acute phase response. *Am J Physiol.* 1999 Jul;277(1 Pt 2):R94-103.

Michalowicz BS, Diehl SR, Gunsolley JC, Sparks BS, Brooks CN, Koertge TE, Califano JV, Burmeister JA, Schenkein HA. Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J Periodontol.* 2000 Nov;71(11):1699-707.

Michalowicz BS, Gustafsson A, Thumbigere-Math V, Buhlin K. The effects of periodontal treatment on pregnancy outcomes. *J Periodontol.* 2013 Apr;84(4 Suppl):S195-208.

Minami T, Tojo H, Shinomura Y, Matsuzawa Y, Okamoto M. Increased group II phospholipase A2 in colonic mucosa of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut.* 1994 Nov;35(11):1593-8

Mirtti T, Laine VJ, Hiekkanen H, Hurme S, Rowe O, Nevalainen TJ, Kallajoki M, Alanen K. Group IIA phospholipase A as a prognostic marker in prostate cancer: relevance to clinicopathological variables and disease-specific mortality. *APMIS.* 2009 Mar;117(3):151-61.

Mitsuishi M, Masuda S, Kudo I, Murakami M. Group V and X secretory phospholipase A2 prevents adenoviral infection in mammalian cells. *Biochem J.* 2006 Jan 1;393(Pt 1):97-106.

Mitsuishi M, Masuda S, Kudo I, Murakami M. Human group III phospholipase A2 suppresses adenovirus infection into host cells. Evidence that group III, V and X phospholipase A2s act on distinct cellular phospholipid molecular species. *Biochim Biophys Acta.* 2007 Nov;1771(11):1389-96. Epub 2007 Oct 10.

Miyauchi M, Ijuhin N, Nikai H, Takata T, Ito H, Ogawa I. Effect of exogenously applied prostaglandin E2 on alveolar bone loss--histometric analysis. *J Periodontol.* 1992 May;63(5):405-11.

Miyaura C, Inada M, Suzawa T, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ichikawa A, Narumiya S, Suda T. Impaired bone resorption to prostaglandin E2 in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice. *J Biol Chem.* 2000 Jun 30;275(26):19819-23.

Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor-alpha in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 1999 Jun;44(6):535-9.

Montebugnoli L, Servidio D, Miaton RA, Prati C, Tricoci P, Melloni C, Melandri G: Periodontal health improves systemic inflammatory and haemostatic status in subjects with coronary heart disease. *J Clin Periodontol*. 2005 Feb;32(2):188-92.

Moraitis D, Du B, De Lorenzo MS, Boyle JO, Weksler BB, Cohen EG, Carew JF, Altorki NK, Kopelovich L, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Levels of cyclooxygenase-2 are increased in the oral mucosa of smokers: evidence for the role of epidermal growth factor receptor and its ligands. *Cancer Res*. 2005 Jan 15;65(2):664-70.

Morimoto A, Murakami N, Watanabe T. Effect of prostaglandin E2 on thermoresponsive neurones in the preoptic and ventromedial hypothalamic regions of rats. *J Physiol*. 1988 Nov;405:713-25.

Morioka Y, Ikeda M, Saiga A, Fujii N, Ishimoto Y, Arita H, Hanasaki K. Potential role of group X secretory phospholipase A(2) in cyclooxygenase-2-dependent PGE(2) formation during colon tumorigenesis. *FEBS Lett*. 2000 Dec 29;487(2):262-6.

Mounier C, Franken PA, Verheij HM, Bon C. The anticoagulant effect of the human secretory phospholipase A2 on blood plasma and on a cell-free system is due to a phospholipid-independent mechanism of action involving the inhibition of factor Va. *Eur J Biochem*. 1996 May 1;237(3):778-85.

Mounier CM, Hackeng TM, Schaeffer F, Faure G, Bon C, Griffin JH. Inhibition of prothrombinase by human secretory phospholipase A2 involves binding to factor Xa. *J Biol Chem*. 1998 Sep 11;273(37):23764-72.

Mounier CM, Luchetta P, Lecut C, Koduri RS, Faure G, Lambeau G, Valentin E, Singer A, Ghomashchi F, Béguin S, Gelb MH, Bon C. Basic residues of human group IIA phospholipase A2 are important for binding to factor Xa and prothrombinase inhibition comparison with other mammalian secreted phospholipases A2. *Eur J Biochem*. 2000 Aug;267(16):4960-9.

Mounier CM, Wendum D, Greenspan E, Fléjou JF, Rosenberg DW, Lambeau G. Distinct expression pattern of the full set of secreted phospholipases A2 in human colorectal adenocarcinomas: sPLA2-III as a biomarker candidate. *Br J Cancer*. 2008 Feb 12;98(3):587-95.

Moutsopoulos NM, Madianos PN: Low-grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Nov;1088:251-64.

Mühl H, Geiger T, Pignat W, Märki F, van den Bosch H, Vosbeck K, Pfeilschifter J. PDGF suppresses the activation of group II phospholipase A2 gene expression by interleukin 1 and forskolin in mesangial cells. *FEBS Lett*. 1991 Oct 21;291(2):249-52.

Muller-Decker K, Neufang G, Berger I, Neumann M, Marks F, Furstenberger G. Transgenic cyclooxygenase-2 overexpression sensitizes mouse skin for carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Sep 17;99(19):12483-8. Epub 2002 Sep 9.

Muñoz NM, Meliton AY, Arm JP, Bonventre JV, Cho W, Leff AR. Deletion of secretory group V phospholipase A2 attenuates cell migration and airway hyperresponsiveness in immunosensitized mice. *J Immunol.* 2007 Oct 1;179(7):4800-7.

Murakami M, Hara N, Kudo I, Inoue K. Triggering of degranulation in mast cells by exogenous type II phospholipase A2. *J Immunol.* 1993 Nov 15;151(10):5675-84.

Murakami M, Kambe T, Shimbara S, Higashino K, Hanasaki K, Arita H, Horiguchi M, Arita M, Arai H, Inoue K, Kudo I. Different functional aspects of the group II subfamily (Types IIA and V) and type X secretory phospholipase A(2)s in regulating arachidonic acid release and prostaglandin generation. Implications of cyclooxygenase-2 induction and phospholipid scramblase-mediated cellular membrane perturbation. *J Biol Chem.* 1999 Oct 29;274(44):31435-44.

Murakami M, Koduri RS, Enomoto A, Shimbara S, Seki M, Yoshihara K, Singer A, Valentin E, Ghomashchi F, Lambeau G, Gelb MH, Kudo I. Distinct arachidonate-releasing functions of mammalian secreted phospholipase A2s in human embryonic kidney 293 and rat mastocytoma RBL-2H3 cells through heparan sulfate shuttling and external plasma membrane mechanisms. *J Biol Chem.* 2001 Mar 30;276(13):10083-96. Epub 2000 Dec 5.

Murakami M, Kudo I, Inoue K. Molecular nature of phospholipases A2 involved in prostaglandin I2 synthesis in human umbilical vein endothelial cells. Possible participation of cytosolic and extracellular type II phospholipases A2. *J Biol Chem.* 1993 Jan 15;268(2):839-44.

Murakami M, Kudo I, Suwa Y, Inoue K. Release of 14-kDa group-II phospholipase A2 from activated mast cells and its possible involvement in the regulation of the degranulation process. *Eur J Biochem.* 1992 Oct 1;209(1):257-65.

Murakami M, Kudo I. New phospholipase A(2) isozymes with a potential role in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2003 Oct;14(5):431-6. Review.

Murakami M, Kudo I. Phospholipase A2. *J Biochem.* 2002 Mar;131(3):285-92. Review.

Murakami M, Masuda S, Shimbara S, Bezzine S, Lazdunski M, Lambeau G, Gelb MH, Matsukura S, Kokubu F, Adachi M, Kudo I. Cellular arachidonate-releasing function of novel classes of secretory phospholipase A2s (groups III and XII). *J Biol Chem.* 2003 Mar 21;278(12):10657-67. Epub 2003 Jan 8.

Murakami M, Masuda S, Shimbara S, Ishikawa Y, Ishii T, Kudo I. Cellular distribution, post-translational modification, and tumorigenic potential of human group III secreted phospholipase A(2). *J Biol Chem.* 2005 Jul 1;280(26):24987-98. Epub 2005 Apr 29.

Murakami M, Nakatani Y, Atsumi G, Inoue K, Kudo I. Regulatory functions of phospholipase A2. *Crit Rev Immunol.* 1997;17(3-4):225-83. Review.

Murakami M, Shimbara S, Kambe T, Kuwata H, Winstead MV, Tischfield JA, Kudo I. The functions of five distinct mammalian phospholipase A2S in regulating arachidonic acid

release. Type IIa and type V secretory phospholipase A2S are functionally redundant and act in concert with cytosolic phospholipase A2. *J Biol Chem*. 1998 Jun 5;273(23):14411-23.

Murakami M, Taketomi Y, Sato H, Yamamoto K. Secreted phospholipase A2 revisited. *J Biochem*. 2011 Sep;150(3):233-55.

Murakami M, Yoshihara K, Shimbara S, Lambeau G, Gelb MH, Singer AG, Sawada M, Inagaki N, Nagai H, Ishihara M, Ishikawa Y, Ishii T, Kudo I. Cellular arachidonate-releasing function and inflammation-associated expression of group IIF secretory phospholipase A2. *J Biol Chem*. 2002 May 24;277(21):19145-55. Epub 2002 Mar 4.

Nakano T, Arita H. Enhanced expression of group II phospholipase A2 gene in the tissues of endotoxin shock rats and its suppression by glucocorticoid. *FEBS Lett*. 1990 Oct 29;273(1-2):23-6.

Nakano T, Ohara O, Teraoka H, Arita H. Glucocorticoids suppress group II phospholipase A2 production by blocking mRNA synthesis and post-transcriptional expression. *J Biol Chem*. 1990 Jul 25;265(21):12745-8.

Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki S, Kawakami A, Eguchi K, Sasaki H, Sakai H. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-kappaB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Sep 7;275(3):768-75.

Namgaladze D, Morbitzer D, von Knethen A, Brüne B. Phospholipase A2-modified low-density lipoprotein activates macrophage peroxisome proliferator-activated receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Feb;30(2):313-20.

Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev*. 1999 Oct;79(4):1193-226.

Nataraj C, Thomas DW, Tilley SL, Nguyen MT, Mannon R, Koller BH, Coffman TM. Receptors for prostaglandin E(2) that regulate cellular immune responses in the mouse. *J Clin Invest*. 2001 Oct;108(8):1229-35.

Nevalainen TJ, Eerola LI, Rintala E, Laine VJ, Lambeau G, Gelb MH. Time-resolved fluoroimmunoassays of the complete set of secreted phospholipases A2 in human serum. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Apr 15;1733(2-3):210-23.

Nevalainen TJ, Graham GG, Scott KF. Antibacterial actions of secreted phospholipases A2. Review. *Biochim Biophys Acta*. 2008 Jan-Feb;1781(1-2):1-9.

Niessen HW, Krijnen PA, Visser CA, Meijer CJ, Erik Hack C. Type II secretory phospholipase A2 in cardiovascular disease: a mediator in atherosclerosis and ischemic damage to cardiomyocytes? *Cardiovasc Res*. 2003 Oct 15;60(1):68-77. Review.

Niuro H, Otsuka T, Izuhara K, Yamaoka K, Ohshima K, Tanabe T, Hara S, Nemoto Y, Tanaka Y, Nakashima H, Niho Y. Regulation by interleukin-10 and interleukin-4 of cyclooxygenase-2 expression in human neutrophils. *Blood*. 1997 Mar 1;89(5):1621-8.

Nihiro H, Otsuka T, Tanabe T, Hara S, Kuga S, Nemoto Y, Tanaka Y, Nakashima H, Kitajima S, Abe M, et al. Inhibition by interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide-stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood*. 1995 Jun 15;85(12):3736-45.

Nile CJ, Barksby E, Jitprasertwong P, Preshaw PM, Taylor JJ. Expression and regulation of interleukin-33 in human monocytes. *Immunology*. 2010 Jun;130(2):172-80.

Nishikawa M, Yamaguchi Y, Yoshitake K, Saeki Y. Effects of TNF $\alpha$  and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol Res*. 2002 Jun;37(3):167-76.

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 Sep;72(9):1221-7.

Noguchi K, Ishikawa I. The roles of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2007;43:85-101. Review.

Noguchi K, Iwasaki K, Shitashige M, Endo H, Kondo H, Ishikawa I. Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 down-regulates intercellular adhesion molecule-1 expression via EP2/EP4 receptors in interleukin-1 $\beta$ -stimulated human gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2000 Dec;79(12):1955-61. ( $\alpha$ )

Noguchi K, Iwasaki K, Shitashige M, Umeda M, Izumi Y, Murota S, Ishikawa I. Downregulation of lipopolysaccharide-induced intercellular adhesion molecule-1 expression via EP2/EP4 receptors by prostaglandin E2 in human fibroblasts. *Inflammation*. 2001 Apr;25(2):75-81.

Noguchi K, Miyauchi M, Oka H, Komaki M, Somerman MJ, Takata T. Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E(2) upregulates interleukin (IL)-1 $\alpha$ -induced IL-6 generation in mouse cementoblasts. *J Periodontol*. 2007 Jan;78(1):135-40.

Noguchi K, Ruwanpura SM, Yan M, Yoshida N, Ishikawa I. Down-regulation of interleukin-1 $\alpha$ -induced matrix metalloproteinase-13 expression via EP1 receptors by prostaglandin E2 in human periodontal ligament cells. *Oral Microbiol Immunol*. 2005 Feb;20(1):56-9.

Noguchi K, Shitashige M, Ishikawa I. Involvement of cyclooxygenase-2 in interleukin-1 $\alpha$ -induced prostaglandin production by human periodontal ligament cells. *J Periodontol*. 1999 Aug;70(8):902-8. ( $\alpha$ )

Noguchi K, Shitashige M, Watanabe H, Murota S, Ishikawa I. Interleukin-4 and interferon- $\gamma$  inhibit prostaglandin production by interleukin-1 $\beta$ -stimulated human periodontal ligament fibroblasts. *Inflammation*. 1999 Feb;23(1):1-13. ( $\beta$ )

Noguchi K, Yanai M, Shitashige M, Nishihara T, Ishikawa I. Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin production by peripheral blood monocytes stimulated with lipopolysaccharides isolated from periodontopathogenic bacteria. *J Periodontol*. 2000 Oct;71(10):1575-82. ( $\beta$ )

Nomura T, Ishii A, Oishi Y, Kohma H, Hara K. Tissue inhibitors of metalloproteinases level and collagenase activity in gingival crevicular fluid: the relevance to periodontal diseases. *Oral Dis.* 1998 Dec;4(4):231-40.

Nukaga J, Kobayashi M, Shinki T, Song H, Takada T, Takiguchi T, Kamijo R, Hasegawa K. Regulatory effects of interleukin-1beta and prostaglandin E2 on expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in human periodontal ligament cells. *J Periodontol.* 2004 Feb;75(2):249-59.

Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. *Periodontol 2000.* 2003;32:11-23.

Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Red Eagle A, Vats D, Morel CR, Goforth MH, Subramanian V, Mukundan L, Ferrante AW, Chawla A. Alternative M2 activation of Kupffer cells by PPARdelta ameliorates obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab.* 2008 Jun;7(6):496-507.

Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MM, Witteman JC. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2005 Feb 8;111(5):570-5.

Ohm K, Albers HK, Lisboa BP. Measurement of eight prostaglandins in human gingival and periodontal disease using high pressure liquid chromatography and radioimmunoassay. *J Periodontal Res.* 1984 Sep;19(5):501-11.

Ohtsuki M, Taketomi Y, Arata S, Masuda S, Ishikawa Y, Ishii T, Takanezawa Y, Aoki J, Arai H, Yamamoto K, Kudo I, Murakami M. Transgenic expression of group V, but not group X, secreted phospholipase A2 in mice leads to neonatal lethality because of lung dysfunction. *J Biol Chem.* 2006 Nov 24;281(47):36420-33. Epub 2006 Sep 28.

Oka S, Arita H. Inflammatory factors stimulate expression of group II phospholipase A2 in rat cultured astrocytes. Two distinct pathways of the gene expression. *J Biol Chem.* 1991 May 25;266(15):9956-60.

O'Neill GP, Ford-Hutchinson AW. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. *FEBS Lett.* 1993 Sep 13;330(2):156-60.

Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology.* 2010 Mar;129(3):311-21.

Ortiz P, Bissada NF, Palomo L, Han YW, Al-Zahrani MS, Panneerselvam A, Askari A. Periodontal therapy reduces the severity of active rheumatoid arthritis in patients treated with or without tumor necrosis factor inhibitors. *J Periodontol.* 2009 Apr;80(4):535-40.

Ozçaka O, Biçakci N, Pussinen P, Sorsa T, Köse T, Buduneli N. Smoking and matrix metalloproteinases, neutrophil elastase and myeloperoxidase in chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2011 Jan;17(1):68-76.

Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976 Mar;34(3):235-49.

Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:180-95. Review

Papapanou PN, Abbron A, Verbitsky M, Picolos D, Yang J, Qin J, Fine JB, Pavlidis P: Gene expression signatures in chronic and aggressive periodontitis: a pilot study. *Eur J Oral Sci.* 2004 Jun;112(3):216-23.

Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG: A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008 Apr;35(4):277-90. Epub 2008 Feb 20.

Parwani R, Parwani SR. Does stress predispose to periodontal disease? *Dent Update.* 2014 Apr;41(3):260-4, 267-8, 271-2.

Paulukat J, Bosmann M, Nold M, Garkisch S, Kämpfer H, Frank S, Raedle J, Zeuzem S, Pfeilschifter J, Mühl H. Expression and release of IL-18 binding protein in response to IFN-gamma. *J Immunol.* 2001 Dec 15;167(12):7038-43.

Payne JB, Peluso JF Jr, Nichols FC. Longitudinal evaluation of peripheral blood monocyte secretory function in periodontitis-resistant and periodontitis-susceptible patients. *Arch Oral Biol.* 1993 Apr;38(4):309-17.

Peilot H, Rosengren B, Bondjers G, Hurt-Camejo E. Interferon-gamma induces secretory group IIA phospholipase A2 in human arterial smooth muscle cells. Involvement of cell differentiation, STAT-3 activation, and modulation by other cytokines. *J Biol Chem.* 2000 Jul 28;275(30):22895-904.

Pentland AP, Shapiro SD, Welgus HG. Agonist-induced expression of tissue inhibitor of metalloproteinases and metalloproteinases by human macrophages is regulated by endogenous prostaglandin E2 synthesis. *J Invest Dermatol.* 1995 Jan;104(1):52-7.

Persson GR, Pettersson T, Ohlsson O, Renvert S: High-sensitivity serum C-reactive protein levels in subjects with or without myocardial infarction or periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005 Mar;32(3):219-24.

Persson M, Berglund G, Nelson JJ, Hedblad B. Lp-PLA2 activity and mass are associated with increased incidence of ischemic stroke: a population-based cohort study from Malmö, Sweden *Atherosclerosis.* 2008 Sep;200(1):191-8.

Pettersson C, Fogelstrand L, Rosengren B, Ståhlman S, Hurt-Camejo E, Fagerberg B, Wiklund O. Increased lipolysis by secretory phospholipase A(2) group V of lipoproteins in diabetic dyslipidaemia. *J Intern Med.* 2008 Aug;264(2):155-65.

Pfeilschifter J, Schalkwijk C, Briner VA, van den Bosch H. Cytokine-stimulated secretion of group II phospholipase A2 by rat mesangial cells. Its contribution to arachidonic acid release

and prostaglandin synthesis by cultured rat glomerular cells. *J Clin Invest.* 1993 Nov;92(5):2516-23.

Piconi S, Trabattoni D, Luraghi C, Perilli E, Borelli M, Pacei M, Rizzardini G, Lattuada A, Bray DH, Catalano M, Sparaco A, Clerici M. Treatment of periodontal disease results in improvements in endothelial dysfunction and reduction of the carotid intima-media thickness. *FASEB J.* 2009 Apr;23(4):1196-204.

Piris-Gimenez A, Paya M, Lambeau G, Chignard M, Mock M, Touqui L, Goossens PL. In vivo protective role of human group IIA phospholipase A2 against experimental anthrax. *J Immunol.* 2005 Nov 15;175(10):6786-91.

Pischon N, Hägewald S, Kunze M, Heng N, Christan C, Kleber BM, Müller C, Bernimoulin JP. Influence of periodontal therapy on the regulation of soluble cell adhesion molecule expression in aggressive periodontitis patients. *J Periodontol.* 2007 Apr;78(4):683-90.

Preshaw PM, Lauffart B, Zak E, Jeffcoat MK, Barton I, Heasman PA. Progression and treatment of chronic adult periodontitis. *J Periodontol.* 1999 Oct;70(10):1209-20.

Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol.* 2011 Mar;38 Suppl 11:60-84.

Prud'homme GJ. Pathobiology of transforming growth factor beta in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations. *Lab Invest.* 2007 Nov;87(11):1077-91.

Pruzanski W, Stefanski E, de Beer FC, de Beer MC, Vadas P, Ravandi A, Kuksis A. Lipoproteins are substrates for human secretory group IIA phospholipase A2: preferential hydrolysis of acute phase HDL. *J Lipid Res.* 1998 Nov;39(11):2150-60

Pruzanski W, Vadas P. Phospholipase A2--a mediator between proximal and distal effectors of inflammation. *Immunol Today.* 1991 May;12(5):143-6. Review.

Pruzanski W, Vadas P. Phospholipase A2--a mediator between proximal and distal effectors of inflammation. *Immunol Today.* 1991 May;12(5):143-6. Review.

Puren AJ, Razeghi P, Fantuzzi G, Dinarello CA. Interleukin-18 enhances lipopolysaccharide-induced interferon-gamma production in human whole blood cultures. *J Infect Dis.* 1998 Dec;178(6):1830-4.

Pussinen PJ, Jauhiainen M, Vilkkuna-Rautiainen T, Sundvall J, Vesanen M, Mattila K, Palosuo T, Alfthan G, Asikainen S. Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. *J Lipid Res.* 2004 Jan;45(1):139-47.

Qu XD, Lloyd KC, Walsh JH, Lehrer RI. Secretion of type II phospholipase A2 and cryptdin by rat small intestinal Paneth cells. *Infect Immun.* 1996 Dec;64(12):5161-5.

Rai B, Kharb S, Jain R, Anand SC. Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci.* 2008 Mar;50(1):53-6.



Raines EW, Ferri N Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease. *J Lipid Res.* 2005 Jun;46(6):1081-92.

Ramfjord SP, Emslie RD, Greene JC, Held AJ, Waerhaug J. Epidemiological studies of periodontal diseases. *Am J Public Health Nations Health.* 1968 Sep;58(9):1713-22.

Rastogi P, Singhal R, Sethi A, Agarwal A, Singh VK, Sethi R. Assessment of the effect of periodontal treatment in patients with coronary artery disease : A pilot survey. *J Cardiovasc Dis Res.* 2012 Apr;3(2):124-7.

Reddy ST, Winstead MV, Tischfield JA, Herschman HR. Analysis of the secretory phospholipase A2 that mediates prostaglandin production in mast cells. *J Biol Chem.* 1997 May 23;272(21):13591-6.

Renvert S, Pettersson T, Ohlsson O, Persson GR: Bacterial profile and burden of periodontal infection in subjects with a diagnosis of acute coronary syndrome. *J Periodontol.* 2006 Jul;77(7):1110-9.

Romanelli R, Mancini S, Laschinger C, Overall CM, Sodek J, McCulloch CA. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect Immun.* 1999 May;67(5):2319-26.

Ronderos M, Pihlstrom BL, Hodges JS. Periodontal disease among indigenous people in the Amazon rain forest. *J Clin Periodontol.* 2001 Nov;28(11):995-1003.

Rosenson RS, Stafforini DM. Modulation of oxidative stress, inflammation, and atherosclerosis by lipoprotein-associated phospholipase A2. *J Lipid Res.* 2012 Sep;53(9):1767-82

Rosenson RS. Lp-PLA(2) and risk of atherosclerotic vascular disease. *Lancet.* 2010 May 1;375(9725):1498-500.

Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol.* 2000;18:217-42. Review.

Rufail ML, Schenkein HA, Barbour SE, Tew JG, van Antwerpen R. Altered lipoprotein subclass distribution and PAF-AH activity in subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Lipid Res.* 2005 Dec;46(12):2752-60.

Russell AL. Periodontal diseases in well- and malnourished populations. A preliminary report. *Arch Environ Health.* 1962 Aug;5:153-7.

Ruwanpura SM, Noguchi K, Ishikawa I. Prostaglandin E2 regulates interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase-3 production in human gingival fibroblasts. *J Dent Res.* 2004 Mar;83(3):260-5.

Saari KM, Aho V, Paavilainen V, Nevalainen TJ. Group II PLA(2) content of tears in normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Feb;42(2):318-20.

Sakata M, Shiba H, Komatsuzawa H, Fujita T, Uchida Y, Yoshino H, Ogawa T, Kawaguchi H, Kurihara H. Osteoprotegerin levels increased by interleukin-1beta in human periodontal ligament cells are suppressed through prostaglandin E(2) synthesized de novo. *Cytokine*. 2002 May 7;18(3):133-9.

Salvi GE, Yalda B, Collins JG, Jones BH, Smith FW, Arnold RR, Offenbacher S. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Periodontol*. 1997 Feb;68(2):127-35.

Sandros J, Karlsson C, Lappin DF, Madianos PN, Kinane DF, Papapanou PN. Cytokine responses of oral epithelial cells to *Porphyromonas gingivalis* infection. *J Dent Res*. 2000 Oct;79(10):1808-14.

Sanz M, Kornman K; Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol*. 2013 Apr;84(4 Suppl):S164-9.

Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral Dis*. 2014 Sep;20(6):538-50.

Sarlon-Bartoli G, Boudes A, Buffat C, Bartoli MA, Piercecchi-Marti MD, Sarlon E, Arnaud L, Bennis Y, Thevenin B, Squarcioni C, Nicoli F, Dignat-George F, Sabatier F, Magnan PE; RISC Study Group. Circulating lipoprotein-associated phospholipase A2 in high-grade carotid stenosis: a new biomarker for predicting unstable plaque. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2012 Feb;43(2):154-9.

Sato H, Isogai Y, Masuda S, Taketomi Y, Miki Y, Kamei D, Hara S, Kobayashi T, Ishikawa Y, Ishii T, Ikeda K, Taguchi R, Ishimoto Y, Suzuki N, Yokota Y, Hanasaki K, Suzuki-Yamamoto T, Yamamoto K, Murakami M. Physiological roles of group X-secreted phospholipase A2 in reproduction, gastrointestinal phospholipid digestion, and neuronal function. *J Biol Chem*. 2011 Apr 1;286(13):11632-48.

Sato H, Kato R, Isogai Y, Saka G, Ohtsuki M, Taketomi Y, Yamamoto K, Tsutsumi K, Yamada J, Masuda S, Ishikawa Y, Ishii T, Kobayashi T, Ikeda K, Taguchi R, Hatakeyama S, Hara S, Kudo I, Itabe H, Murakami M. Analyses of group III secreted phospholipase A2 transgenic mice reveal potential participation of this enzyme in plasma lipoprotein modification, macrophage foam cell formation, and atherosclerosis. *J Biol Chem*. 2008 Nov 28;283(48):33483-97.

Sato H, Taketomi Y, Isogai Y, Miki Y, Yamamoto K, Masuda S, Hosono T, Arata S, Ishikawa Y, Ishii T, Kobayashi T, Nakanishi H, Ikeda K, Taguchi R, Hara S, Kudo I, Murakami M. Group III secreted phospholipase A2 regulates epididymal sperm maturation and fertility in mice. *J Clin Invest*. 2010 May;120(5):1400-14.

Sawada H, Murakami M, Enomoto A, Shimbara S, Kudo I. Regulation of type V phospholipase A2 expression and function by proinflammatory stimuli. *Eur J Biochem*. 1999 Aug;263(3):826-35.

- Schalkwijk C, Pfeilschifter J, Märki F, van den Bosch H. Interleukin-1 beta- and forskolin-induced synthesis and secretion of group II phospholipase A2 and prostaglandin E2 in rat mesangial cells is prevented by transforming growth factor-beta 2. *J Biol Chem.* 1992 May 5;267(13):8846-51.
- Schalkwijk CG, Vervoordeldonk M, Pfeilschifter J, van den Bosch H. Interleukin-1 beta-induced cytosolic phospholipase A2 activity and protein synthesis is blocked by dexamethasone in rat mesangial cells. *FEBS Lett.* 1993 Nov 1;333(3):339-43.
- Schenkein HA, Loos BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J Periodontol.* 2013 Apr;84(4 Suppl):S51-69.
- Schierano G, Pejrone G, Brusco P, Trombetta A, Martinasso G, Preti G, Canuto RA. TNF-alpha TGF-beta2 and IL-1beta levels in gingival and peri-implant crevicular fluid before and after de novo plaque accumulation. *J Clin Periodontol.* 2008 Jun;35(6):532-8
- Schmitz G, Ruebsaamen K. Metabolism and atherogenic disease association of lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis.* 2010 Jan;208(1):10-8.
- Seeds MC, Jones KA, Duncan Hite R, Willingham MC, Borgerink HM, Woodruff RD, Bowton DL, Bass DA. Cell-specific expression of group X and group V secretory phospholipases A(2) in human lung airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000 Jul;23(1):37-44.
- Seilhamer JJ, Pruzanski W, Vadas P, Plant S, Miller JA, Kloss J, Johnson LK. Cloning and recombinant expression of phospholipase A2 present in rheumatoid arthritic synovial fluid. *J Biol Chem.* 1989 Apr 5;264(10):5335-8.
- Seilhamer JJ, Pruzanski W, Vadas P, Plant S, Miller JA, Kloss J, Johnson LK. Cloning and recombinant expression of phospholipase A2 present in rheumatoid arthritic synovial fluid. *J Biol Chem.* 1989 Apr 5;264(10):5335-8.
- Seilhamer JJ, Randall TL, Yamanaka M, Johnson LK. Pancreatic phospholipase A2: isolation of the human gene and cDNAs from porcine pancreas and human lung. *DNA.* 1986 Dec;5(6):519-27.
- Seinost G, Wimmer G, Skerget M, Thaller E, Brodmann M, Gasser R, Bratschko RO, Pilger E. Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis. *Am Heart J.* 2005 Jun;149(6):1050-4.
- Shankavaram UT, DeWitt DL, Funk SE, Sage EH, Wahl LM. Regulation of human monocyte matrix metalloproteinases by SPARC. *J Cell Physiol.* 1997 Dec;173(3):327-34.
- Shapira L, Stabholz A, Rieckmann P, Kruse N. Genetic polymorphism of the tumor necrosis factor (TNF)-alpha promoter region in families with localized early-onset periodontitis. *J Periodontal Res.* 2001 Jun;36(3):183-6.
- Sharma M. Chemokines and their receptors: orchestrating a fine balance between health and disease. *Crit Rev Biotechnol.* 2010 Mar;30(1):1-22.

Shinohara H, Balboa MA, Johnson CA, Balsinde J, Dennis EA. Regulation of delayed prostaglandin production in activated P388D1 macrophages by group IV cytosolic and group V secretory phospholipase A2s. *J Biol Chem.* 1999 Apr 30;274(18):12263-8.

Shinomiya S, Naraba H, Ueno A, Utsunomiya I, Maruyama T, Ohuchida S, Ushikubi F, Yuki K, Narumiya S, Sugimoto Y, Ichikawa A, Oh-ishi S. Regulation of TNF $\alpha$  and interleukin-10 production by prostaglandins I(2) and E(2): studies with prostaglandin receptor-deficient mice and prostaglandin E-receptor subtype-selective synthetic agonists. *Biochem Pharmacol.* 2001 May 1;61(9):1153-60.

Shridas P, Bailey WM, Boyanovsky BB, Oslund RC, Gelb MH, Webb NR. Group X secretory phospholipase A2 regulates the expression of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in mouse adrenal glands. *J Biol Chem.* 2010 Jun 25;285(26):20031-9.

Silva TA, Garlet GP, Fukada SY, Silva JS, Cunha FQ. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *J Dent Res.* 2007 Apr;86(4):306-19. Review.

Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol.* 2010 Feb;10(2):89-102.

Singer AG, Ghomashchi F, Le Calvez C, Bollinger J, Bezzine S, Rouault M, Sadilek M, Nguyen E, Lazdunski M, Lambeau G, Gelb MH. Interfacial kinetic and binding properties of the complete set of human and mouse groups I, II, V, X, and XII secreted phospholipases A2. *J Biol Chem.* 2002 Dec 13;277(50):48535-49. Epub 2002 Sep 30.

Siribamrungwong M, Puangpanngam K. Treatment of periodontal diseases reduces chronic systemic inflammation in maintenance hemodialysis patients. *Ren Fail.* 2012;34(2):171-5.

Slade GD, Ghezzi EM, Heiss G, Beck JD, Riche E, Offenbacher S. Relationship between periodontal disease and C-reactive protein among adults in the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Arch Intern Med.* 2003 May 26;163(10):1172-9.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998 Feb;25(2):134-44.

Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res.* 2002 Mar;81(3):174-8.

Stafforini DM, McIntyre TM, Carter ME, Prescott SM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor. *J Biol Chem.* 1987 Mar 25;262(9):4215-22.

Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Purification and properties. *J Biol Chem.* 1987 Mar 25;262(9):4223-30.

Steinbrecher UP, Pritchard PH. Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Lipid Res.* 1989 Mar;30(3):305-15.

Streckfus CF, Parsell DE, Streckfus JE, Pennington W, Johnson RB. Relationship between oral alveolar bone loss and aging among African-American and Caucasian individuals. *Gerontology*. 1999;45(2):110-4.

Stremler KE, Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem*. 1991 Jun 15;266(17):11095-103.

Stremler KE, Stafforini DM, Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. An oxidized derivative of phosphatidylcholine is a substrate for the platelet-activating factor acetylhydrolase from human plasma. *J Biol Chem*. 1989 Apr 5;264(10):5331-4.

Sudhir K. Lipoprotein-associated phospholipase A2, vascular inflammation and cardiovascular risk prediction. *Vasc Health Risk Manag*. 2006;2(2):153-6.

Suga H, Murakami M, Kudo I, Inoue K. Participation in cellular prostaglandin synthesis of type-II phospholipase A2 secreted and anchored on cell-surface heparan sulfate proteoglycan. *Eur J Biochem*. 1993 Dec 15;218(3):807-13.

Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal intervention in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Intern Med*. 2011;50(15):1569-74.

Surrel F, Jemel I, Boilard E, Bollinger JG, Payré C, Mounier CM, Talvinen KA, Laine VJ, Nevalainen TJ, Gelb MH, Lambeau G. Group X phospholipase A2 stimulates the proliferation of colon cancer cells by producing various lipid mediators. *Mol Pharmacol*. 2009 Oct;76(4):778-90

Suzuki N, Ishizaki J, Yokota Y, Higashino K, Ono T, Ikeda M, Fujii N, Kawamoto K, Hanasaki K. Structures, enzymatic properties, and expression of novel human and mouse secretory phospholipase A(2)s. *J Biol Chem*. 2000 Feb 25;275(8):5785-93.

Tada K, Murakami M, Kambe T, Kudo I. Induction of cyclooxygenase-2 by secretory phospholipases A2 in nerve growth factor-stimulated rat serosal mast cells is facilitated by interaction with fibroblasts and mediated by a mechanism independent of their enzymatic functions. *J Immunol*. 1998 Nov 1;161(9):5008-15.

Takasaki J, Kawauchi Y, Yasunaga T, Masuho Y. Human type II phospholipase A2-induced Mac-1 expression on human neutrophils. *J Leukoc Biol*. 1996 Aug;60(2):174-80.

Takayama K, García-Cardena G, Sukhova GK, Comander J, Gimbrone MA Jr, Libby P. Prostaglandin E2 suppresses chemokine production in human macrophages through the EP4 receptor. *J Biol Chem*. 2002 Nov 15;277(46):44147-54.

Takayama K, Hara S, Kudo I, Inoue K. Detection of 14-kDa group II phospholipase A2 in human seminal plasma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991 Aug 15;178(3):1505-11. Kallajoki M1, Alanen KA, Nevalainen M, Nevalainen TJ. Group II phospholipase A2 in human male reproductive organs and genital tumors. *Prostate*. 1998 Jun 1;35(4):263-72.

Takigawa M, Takashiba S, Takahashi K, Arai H, Kurihara H, Murayama Y. Prostaglandin E2 inhibits interleukin-6 release but not its transcription in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1 beta or tumor necrosis factor-alpha. *J Periodontol.* 1994 Dec;65(12):1122-7.

Tauber AI, Borregaard N, Simons E, Wright J. Chronic granulomatous disease: a syndrome of phagocyte oxidase deficiencies. *Medicine (Baltimore).* 1983 Sep;62(5):286-309. Review.

Taylor B, Tofler G, Morel-Kopp MC, Carey H, Carter T, Elliott M, Dailey C, Villata L, Ward C, Woodward M, Schenck K. The effect of initial treatment of periodontitis on systemic markers of inflammation and cardiovascular risk: a randomized controlled trial. *Eur J Oral Sci.* 2010 Aug;118(4):350-6.

Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol.* 2013 Apr;84(4 Suppl):S113-34.

Teles R, Wang CY. Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease. *Oral Dis.* 2011 Jul;17(5):450-61.

Teng YT. Protective and destructive immunity in the periodontium: Part 2--T-cell-mediated immunity in the periodontium. *J Dent Res.* 2006 Mar;85(3):209-19. Review.

Thomas EL. Myeloperoxidase, hydrogen peroxide, chloride antimicrobial system: nitrogen-chlorine derivatives of bacterial components in bactericidal action against *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 1979 Feb;23(2):522-31.

Thwin MM, Douni E, Arjunan P, Kollias G, Kumar PV, Gopalakrishnakone P. Suppressive effect of secretory phospholipase A2 inhibitory peptide on interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase production in rheumatoid synovial fibroblasts, and its antiarthritic activity in hTNFtg mice. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(5):R138

Tischfield JA. A reassessment of the low molecular weight phospholipase A2 gene family in mammals. *J Biol Chem.* 1997 Jul 11;272(28):17247-50. Review.

Tojo H, Ono T, Kuramitsu S, Kagamiyama H, Okamoto M. A phospholipase A2 in the supernatant fraction of rat spleen. Its similarity to rat pancreatic phospholipase A2. *J Biol Chem.* 1988 Apr 25;263(12):5724-31.

Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P, Deanfield J. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med.* 2007 Mar 1;356(9):911-20.

Touqui L, Alaoui-El-Azher M. Mammalian secreted phospholipases A2 and their pathophysiological significance in inflammatory diseases. *Curr Mol Med.* 2001 Dec;1(6):739-54. Review.

Triggiani M, Granata F, Giannattasio G, Marone G. Secretory phospholipases A2 in inflammatory and allergic diseases: not just enzymes. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Nov;116(5):1000-6.

- Triggiani M, Granata F, Oriente A, De Marino V, Gentile M, Calabrese C, Palumbo C, Marone G. Secretory phospholipases A2 induce beta-glucuronidase release and IL-6 production from human lung macrophages. *J Immunol*. 2000 May 1;164(9):4908-15.
- Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2003 Feb;3(2):133-46. Review.
- Tsai CC, Hong YC, Chen CC, Wu YM. Measurement of prostaglandin E2 and leukotriene B4 in the gingival crevicular fluid. *J Dent*. 1998 Mar;26(2):97-103.
- Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl*. 2002 Dec;3(4):57-68.
- Tuominen R, Reunanen A, Paunio M, Paunio I, Aromaa A. Oral health indicators poorly predict coronary heart disease deaths. *J Dent Res*. 2003 Sep;82(9):713-8.
- Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol* 2000. 2003;31:77-104.
- Valentin E, Ghomashchi F, Gelb MH, Lazdunski M, Lambeau G. Novel human secreted phospholipase A(2) with homology to the group III bee venom enzyme. *J Biol Chem*. 2000 Mar 17;275(11):7492-6.
- Valentin E, Ghomashchi F, Gelb MH, Lazdunski M, Lambeau G. On the diversity of secreted phospholipases A(2). Cloning, tissue distribution, and functional expression of two novel mouse group II enzymes. *J Biol Chem*. 1999 Oct 29;274(44):31195-202. Erratum in: *J Biol Chem* 2000 Jan 21;275(3):2246.
- Valentin E, Koduri RS, Scimeca JC, Carle G, Gelb MH, Lazdunski M, Lambeau G. Cloning and recombinant expression of a novel mouse-secreted phospholipase A2. *J Biol Chem*. 1999 Jul 2;274(27):19152-60.
- Valentin E, Singer AG, Ghomashchi F, Lazdunski M, Gelb MH, Lambeau G. Cloning and recombinant expression of human group IIF-secreted phospholipase A(2). *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Dec 9;279(1):223-8.
- Van Dyke TE, Hoop GA. Neutrophil function and oral disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1990;1(2):117-33.
- Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):82-90. Review.
- Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol*. 2013 Apr;40 Suppl 14:S1-7.
- Van Dyke TE. Control of inflammation and periodontitis. *Periodontol* 2000. 2007;45:158-66. Review.

- Van Dyke TE. The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8 Suppl):1601-8
- Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol.* 1990;8:253-78. Review.
- Verheij HM, Slotboom AJ, de Haas GH. Structure and function of phospholipase A2. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1981;91:91-203. Review.
- Verma RP, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical-biological functions and (Q)SARs. *Bioorg Med Chem.* 2007 Mar 15;15(6):2223-68.
- Vidal F, Figueredo CM, Cordovil I, Fischer RG. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. *J Periodontol.* 2009 May;80(5):786-91.
- Vieira CL, Cury PR, Miname MH, Martinez LR, Bortolotto LA, Giuliano IB, Santos RD, Caramelli B. Severe periodontitis is associated with diastolic blood pressure elevation in individuals with heterozygous familial hypercholesterolemia: a pilot study. *J Periodontol.* 2011 May;82(5):683-8.
- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003 May 2;92(8):827-39. Review.
- von Allmen CE, Schmitz N, Bauer M, Hinton HJ, Kurrer MO, Buser RB, Gwerder M, Muntwiler S, Sparwasser T, Beerli RR, Bachmann MF. Secretory phospholipase A2-IIID is an effector molecule of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jul 14;106(28):11673-8.
- Wan YY, Flavell RA. Regulatory T cells, transforming growth factor-beta, and immune suppression. *Proc Am Thorac Soc.* 2007 Jul;4(3):271-6. Review.
- Wan YY, Flavell RA. 'Yin-Yang' functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation. *Immunol Rev.* 2007 Dec;220:199-213. Review
- Wardlow ML, Cox CP, Meng KE, Greene DE, Farr RS. Substrate specificity and partial characterization of the PAF-acylhydrolase in human serum that rapidly inactivates platelet-activating factor. *J Immunol.* 1986 May 1;136(9):3441-6.
- Ware CF. The TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Jun-Aug;14(3-4):181-4.
- Ware CF. The TNF Superfamily-2008. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008 Jun-Aug;19(3-4):183-6.
- Watrous DA, Andrews BS. The metabolism and immunology of bone. *Semin Arthritis Rheum.* 1989 Aug;19(1):45-65.
- Weaver CT. Th17: The ascent of a new effector T-cell subset. Preface. *Eur J Immunol.* 2009 Mar;39(3):634-6.



Webb NR. Secretory phospholipase A2 enzymes in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol*. 2005 Jun;16(3):341-4. Review.

Weinrauch Y, Elsbach P, Madsen LM, Foreman A, Weiss J. The potent anti-Staphylococcus aureus activity of a sterile rabbit inflammatory fluid is due to a 14-kD phospholipase A2. *J Clin Invest*. 1996 Jan 1;97(1):250-7.

Williams CS, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*. 1999 Dec 20;18(55):7908-16.

Wilson SG, Adam G, Langdown M, Reneland R, Braun A, Andrew T, Surdulescu GL, Norberg M, Dudbridge F, Reed PW, Sambrook PN, Kleyn PW, Spector TD. Linkage and potential association of obesity-related phenotypes with two genes on chromosome 12q24 in a female dizygous twin cohort. *Eur J Hum Genet*. 2006 Mar;14(3):340-8.

Winkler K, Hoffmann MM, Winkelmann BR, Friedrich I, Schäfer G, Seelhorst U, Wellnitz B, Wieland H, Boehm BO, März W. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts 5-year cardiac mortality independently of established risk factors and adds prognostic information in patients with low and medium high-sensitivity C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Clin Chem*. 2007 Aug;53(8):1440-7

Wong PK, Campbell IK, Egan PJ, Ernst M, Wicks IP. The role of the interleukin-6 family of cytokines in inflammatory arthritis and bone turnover. *Arthritis Rheum*. 2003 May;48(5):1177-89. Review.

Wright GW, Ooi CE, Weiss J, Elsbach P. Purification of a cellular (granulocyte) and an extracellular (serum) phospholipase A2 that participate in the destruction of Escherichia coli in a rabbit inflammatory exudate. *J Biol Chem*. 1990 Apr 25;265(12):6675-81.

Xiao CY, Hara A, Yuhki K, Fujino T, Ma H, Okada Y, Takahata O, Yamada T, Murata T, Narumiya S, Ushikubi F. Roles of prostaglandin I(2) and thromboxane A(2) in cardiac ischemia-reperfusion injury: a study using mice lacking their respective receptors. *Circulation*. 2001 Oct 30;104(18):2210-5.

Yamamoto K, Taketomi Y, Isogai Y, Miki Y, Sato H, Masuda S, Nishito Y, Morioka K, Ishimoto Y, Suzuki N, Yokota Y, Hanasaki K, Ishikawa Y, Ishii T, Kobayashi T, Fukami K, Ikeda K, Nakanishi H, Taguchi R, Murakami M. Hair follicular expression and function of group X secreted phospholipase A2 in mouse skin. *J Biol Chem*. 2011 Apr 1;286(13):11616-31.

Yan M, Noguchi K, Ruwanpura SM, Ishikawa I. Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin (PG) E2 downregulates matrix metalloproteinase-3 production via EP2/EP4 subtypes of PGE2 receptors in human periodontal ligament cells stimulated with interleukin-1alpha. *J Periodontol*. 2005 Jun;76(6):929-35.

Yano T, Fujioka D, Saito Y, Kobayashi T, Nakamura T, Obata JE, Kawabata K, Watanabe K, Watanabe Y, Mishina H, Tamaru S, Kugiyama K. Group V secretory phospholipase A2 plays a pathogenic role in myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2011 May 1;90(2):335-43.

Yokoyama K, Kudo I, Inoue K. Phospholipid degradation in rat calcium ionophore-activated platelets is catalyzed mainly by two discrete secretory phospholipase As. *J Biochem.* 1995 Jun;117(6):1280-7.

Yost CC, Weyrich AS, Zimmerman GA. The platelet activating factor (PAF) signaling cascade in systemic inflammatory responses. *Biochimie.* 2010 Jun;92(6):692-7.

Yucel-Lindberg T, Ahola H, Carlstedt-Duke J, Mod er T. Involvement of tyrosine kinases on cyclooxygenase expression and prostaglandin E2 production in human gingival fibroblasts stimulated with interleukin-1beta and epidermal growth factor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Apr 13;257(2):528-32.

Yucel-Lindberg T, Ahola H, Nilsson S, Carlstedt-Duke J, Mod er T. Interleukin-1 beta induces expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human gingival fibroblasts. *Inflammation.* 1995 Oct;19(5):549-60.

Zhang YH, Heulsmann A, Tondravi MM, Mukherjee A, Abu-Amer Y. Tumor necrosis factor-alpha (TNF) stimulates RANKL-induced osteoclastogenesis via coupling of TNF type 1 receptor and RANK signaling pathways. *J Biol Chem.* 2001 Jan 5;276(1):563-8.

Zhou J, Zou S, Zhao W, Zhao Y. Prostaglandin E2 level in gingival crevicular fluid and its relation to the periodontal pocket depth in patients with periodontitis. *Chin Med Sci J.* 1994 Mar;9(1):52-5.

Zhou SY, Xiao WM, Ouyang XY. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and serum lipid levels in subjects with chronic periodontitis and hyperlipidemia. *Chin J Dent Res.* 2012;15(1):25-9.

Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity.* 2000 Feb;12(2):121-7. Review.

Ματζαβίνος Ζ., Βρότσος Ι. Κλινική Περιοδοντολογία. 1<sup>η</sup> Έκδοση, Αθήνα, Λίτσας 2002: 147-153