

РОЛЬ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 2 В ПАТОГЕНЕЗЕ И ДИАГНОСТИКЕ БЫСТРОПРОГРЕССИРУЮЩЕГО И ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА

Л.А. Казеко*, В.А. Захарова, Е.А. Анфиногенова, Т.А. Летковская

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, Минск

MATRIX METALLOPROTEINASE 2 IN PATHOGENESIS AND DIAGNOSTICS OF RAPIDLY PROGRESSING AND CHRONIC PERIODONTITIS

L.A. Kazeko*, V.A. Zakharova, E.A. Anfinogenova, T.A. Letkovskaya

Belarusian State Medical University, Republic of Belarus, Minsk, Russia

E-mail: stomterap1@bsmu.by

Аннотация

Проанализирован биопсийный материал 71 пациента группы контроля ($n=15$), быстропрогрессирующего ($n=22$), хронического простого ($n=11$) и хронического сложного ($n=23$) пародонтитов. Выявлена прямая (от умеренной до высокой) взаимосвязь позитивности ($\rho_{e-s}=0.45 p<0.05$) и интенсивности эпителиальной и стромальной экспрессии ($\rho_{e-s}=0.56 p<0.05$) матриксной металлопротеиназы 2 между собой, а также с выраженностю межэпителиальной инфильтрации лейкоцитами ($\rho_s=0.53 p<0.05$). Показано, что позитивность стромальной экспрессии матриксной металлопротеиназы 2 при умеренной ее интенсивности является наиболее эффективным параметром в разграничении быстропрогрессирующего и хронического сложного пародонтитов, которые на стадии манифестации заболевания наиболее трудно поддаются дифференциальной диагностике с использованием только клинико-рентгенологических методов исследования.

Ключевые слова: пародонтит, иммуногистохимия, экспрессия, матриксная металлопротеиназа 2.

Abstract

Biopsy material from 71 patient was analyzed: control group ($n=15$), group with rapidly progressing periodontitis ($n=22$), group with chronic simple periodontitis ($n=11$) and group with chronic complex periodontitis ($n=23$). There was revealed a direct relationship of positivity (from moderate to high) ($\rho_{e-s}=0.45 p<0.05$) and intensity of epithelial and stromal expression ($\rho_{e-s}=0.56 p<0.05$) of matrix metalloproteinase-2 between themselves as well as the markedness of interepithelial leukocyte infiltration ($\rho_s=0.53 p<0.05$). The stromal positivity of matrix metalloproteinase -2 expression under moderate intensity has been shown to be the most effective parameter in differentiation of rapidly progressing and chronic complex periodontitis because it is very difficult to differentiate between them at the manifestation stage when using only clinical and radiological diagnostic tools.

Key words: periodontitis, immunohistochemistry, expression, matrix metalloproteinase-2.

Ссылка для цитирования: Казеко Л.А., Захарова В.А., Анфиногенова Е.А., Летковская Т.А. Роль матриксной металлопротеиназы 2 в патогенезе и диагностике быстропрогрессирующего и хронических форм периодонтитов. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2020; 2: 69-77.

Матрикные металлопротеиназы (ММП) представляют группу ферментов, отвечающих за деградацию большинства белков внеклеточного матрикса во время эмбриогенеза, роста, репродукции, а также участвующих в процессах ангиогенеза и регенерации. Экспрессия ММП и определяемые ими эффекты в тканях взрослого человека обычно недостаточно выражены. Значительно возрастающая концентрация различных ММП при ряде патологических состояний может привести к выраженной деструкции тканей при воспалительных заболеваниях, а также уча-

ствовать в росте и метастазировании опухолей. Данные литературы свидетельствуют о том, что ММП играют важную роль в разрушении тканей пародонта [1,2]. Установлена прямая взаимосвязь между уровнем ММП в десневой и ротовой жидкостях с таковым в ткани десны у пациентов с пародонтитом [3]. ММП-2 (желатиназа-А, 72 кДа желатиназа, коллагеназа типа IV) –фермент, который разрушает коллаген IV и V типов, денатурированный коллаген и эластин, синтезируется в основном фибробластами, а также остеобластами, одонтобластами; активность зависит от

содержания в клетках микроэлементов кальция (Ca) и цинка (Zn) [4]. ММП-2 (желатиназа-А) и ММП-9 (желатиназа-В) имеют общие субстраты, но обладают различной активностью в отношении ряда макромолекул экстрацеллюлярного матрикса. ММП-2 разрушает фибронектин и ламминин, а коллаген III типа и α 2 цепи коллагена I типа разлагаются только ММП-9. Желатиназы расщепляют рецепторы фактора роста фибробластов I типа и интерлейкина (ил)-2 типа α [5].

ММП-2, в отличие от ММП-9, способна расщеплять нативный коллаген I типа, который является компонентом десневого соединительнотканного матрикса. Повышенные уровни ММП-2 и ММП-9 были обнаружены в десневой жидкости, а также в ткани десны пациентов с пародонтитами и периимплантитами. Результаты исследований свидетельствуют, что ММП-2, -9, -13 и -14 являются ключевыми ферментами при болезнях пародонта. Активность и функции ММП-2, -9 позволяют предположить, что эти ферменты синергически управляют разрушением и ремоделированием тканей пародонта. Повышение уровней ММП-9 и ММП-8 обладает диагностическим потенциалом при хроническом пародонтите, протекающем бессимптомно апикальном периодоните, а определение уровня ММП-2 в десневой жидкости имеет диагностическое значение только при хроническом процессе в пародонте [6].

Учитывая роль ММП-2 и ММП-9 как в ремоделировании, так и в разрушении внеклеточного матрикса, было сделано предположение, что

генетические изменения, влияющие на транскрипцию или функцию ферментов, способствуют предрасположенности к хроническому пародонтиту [7].

Исследование особенностей экспрессии ММП имеет важное значение в понимании механизмов патогенеза воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта и может быть использовано как при прогнозировании течения заболевания, так и при разработке патогенетически обоснованной терапии [1].

Цель работы – установить значение ММП-2 для дифференциальной диагностики различных форм пародонтита на этапе манифестиации заболевания путем морфометрической оценки характера ее экспрессии в биопсийном материале десны.

Материалы и методы

Критериями включения в исследование явились клинико-рентгенологические признаки деструкции пародонта, отсутствие соматической патологии, способной повлиять на состояние пародонта, и возраст пациентов 18–35 в группе для быстропрогрессирующего пародонтита и 36–60 лет в группе хронического (простого, протекающего без окклюзионной травмы, и сложного, протекающего с окклюзионной травмой) пародонтита. Клинико-инструментальное и лабораторное обследование и лечение пациентов с патологией пародонта выполнено на базе 1-й кафедры терапевтической стоматологии учреждения образования «Белорусский государствен-

Таблица 1

Общая клинико-рентгенологическая характеристика обследуемых групп пациентов с патологией пародонта

Признаки*	БПП1	ХПП2	ХСП3	p (χ^2 , Fisher test)
Число пациентов	22/71 (31.0%)	11/71 (15.5%)	23/71 (32.4%)	$p_{1-2}=0.029$ $p_{2-3}=0.018$
Клинические признаки				
Пародонтальные карманы: 4–5 мм >6 мм	14/22 (63.6%) 8/22 (36.4%)	7/11 (63.6%) 4/11 (36.4%)	15/23 (65.2%) 8/23 (34.8%)	NA NA
Утеря прикрепления: LA «I» LA «II»	15/22 (68.2%) 7/22 (31.8%)	7/11 (63.6%) 4/11 (36.4%)	16/23 (69.6%) 7/23 (30.4%)	NA NA
Рецессия десны	12/22 (54.5%)	7/11 (63.6%)	14/23 (60.9%)	NA
Поражение фуркации I-II ст	3/22 (13.6%)	2/11 (18.2%)	4/23 (17.4%)	NA
Подвижность зубов I-II ст	2/22 (9.1%)	1/11 (9.1%)	3/23 (13.0%)	NA
Данные panoramicной рентгенографии и/или компьютерной томографии				
Резорбция костной ткани горизонтальная I-II ст вертикальная I-II ст	6/22 (27.3%) 15/22 (68.2%)	8/11 (72.7%) 1/11 (9.1%)	5/23 (21.7%) 17/23 (73.9%)	$p_{1-2}=0.024$ $p_{2-3}=0.008$ $p_{1-3}=0.002$ $p_{2-3}=0.0006$

*- Показатели (номинативные данные – абсолютные числа и доли в %).

ный медицинский университет» в ГУ «Республиканская клиническая стоматологическая поликлиника», результаты представлены в табл. 1.

Согласно представленным данным, группы исследования были сопоставимы по клиническим признакам, но отличались по характеру резорбции костной ткани с преобладанием горизонтального типа при хроническом простом пародонтите и вертикального – при хроническом сложном и быстропрогрессирующем пародонтиях, которые являются наиболее трудно дифференцируемыми на стадии манифестации заболевания.

Всем пациентам проводили профессиональную гигиену и закрытый кюретаж, во время которого выполняли биопсию десны с последующим морфологическим исследованием на кафедре патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Морфологическое исследование включало оценку наблюдений группы контроля (предимплантационные биопсии десны у пациентов без патологии пародонта) и групп патологии пародонта при стандартном окрашивании гистологических микропрепараторов гематоксилином и эозином и с использованием иммуногистохимического (ИГХ) метода с моноклональными антителами к ММП-2. Отработка протокола ИГХ-окрашивания включала выбор оптимального режима демаскировки антигена, разведения первичных моноклональных антител к ММП-2, визуализирующей системы, времени экспозиции хромогена.

Для морфометрического анализа выполняли полнослайдовое сканирование ИГХ-препараторов с применением цифрового слайд-сканера MoticEasyScan с последующим программным анализом изображений в AperioImageScope v12.4.0.5043. Производили выделение 4–6 случайных непересекающихся полей зрения (цифровое увеличение $\times 8$), с анализом ИГХ окрашивания в поле зрения в целом (которое включало эпителиальный и стромальный компонент в равных пропорциях), а также в эпителиальном и стромальном компонентах десны отдельно. Цифровой результат программной оценки интенсивности экспрессии имел обратную взаимосвязь с данными визуальной оценки. Для анализа исследуемых групп по характеру экспрессии ММП-2 с использованием программы AperioImageScope рассчитывали следующие параметры ($\times 8$): позитивность (отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$); долю пик-

селей с высокой и умеренной интенсивностью (отношение числа позитивных пикселей с высокой и умеренной интенсивностью к общему числу позитивных и негативных пикселей $\times 100\%$); общий индекс интенсивности ИГХ-реакции (отношение суммы интенсивностей позитивных и негативных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей).

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0 с вычислением медианы (Me), интерквартильного (IQR) и 95% доверительного интервалов (ДИ), максимального и минимального значения. Для оценки характера распределения полученных данных использовали критерий Шапиро – Уилка (W). Сравнение независимых выборок по количественным признакам осуществляли с использованием дисперсионного анализа непараметрических данных ANOVA и определением критериев Краскела – Уоллиса (Н-критерий) для трех и более выборок и Манна – Уитни (U -критерий) с целью парного сравнения выборок. Корреляционные взаимосвязи между анализируемыми признаками вычисляли с использованием рангового коэффициента корреляции непараметрических данных Спирмена (ρ). Уровень статистической значимости – $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Проанализирован биопсийный материал 71 пациента: группы контроля ($n=15$), быстропрогрессирующего ($n=22$), хронического простого ($n=11$) и хронического сложного ($n=23$) пародонтитов. Результаты морфологического исследования биопсийного материала десен групп исследования и контроля представлены в табл. 2. При этом не выявлено статистически значимых различий по морфологическим и гендерному признакам между группами пародонтитов. В группе контроля не имелось признаков альтеративных изменений эпителиального компонента, нарушений кровообращения и инфильтрации сегментоядерными лейкоцитами сосочкового и сетчатого слоев десны, но по доле случаев с очаговой инфильтрацией ($p^{0-1}=0.37$; $p^{0-2}=0.28$; $p^{0-3}=0.056$) и инфильтраций единичными мононуклеарными лейкоцитами ($p^{0-1}=0.26$; $p^{0-2}=0.35$; $p^{0-3}=0.44$) собственной пластинки десны не обнаружено отличий от таковых групп пародонтитов.

Экспрессия ММП-2 выявлялась в виде цито-плазматического и мембранных окрашивания эпителиальных клеток, клеток воспалительного инфильтрата, фибробластов и эндотелиальных

Таблица 2

Общая морфологическая характеристика обследуемых групп пациентов с патологией пародонта

Признаки*	Группа контроля ⁰	БПП1	ХПП2	ХСП3
Число пациентов	15/71 (21.1%)	22/71 (31.0%)	11/71 (15.5%)	23/71 (32.4%)
Возраст – Me [IQR]	///	33 [26:35]	41 [34:55]	40 [32:53]
Пол – М:Ж, %	26.7:73.3	54.5:45.5	40:60	63.6:36.4
Морфологические признаки				
Десквамация эпителия	0/15 (0%)	6/22 (27.3%)	1/11 (9.1%)	5/23 (21.7%)
Гидропическая дистрофия	0/15 (0%)	5/22 (22.7%)	2/11 (18.2%)	7/23 (30.4%)
Эрозирование	0/15 (0%)	6/22 (27.3%)	1/11 (9.1%)	6/23 (26.1%)
Акантоз	2/15 (13.3%)	13/22 (59.1%)	6/11 (54.5%)	15/23 (65.2%)
Гипертрофия коллагеновых волокон	0/15 (0%)	9/22 (40.9%)	5/11 (45.5%)	15/23 (65.2%)
Кровоизлияния:				
точечные	0/15 (0%)	0/22 (0%)	1/11 (9.1%)	2/23 (8.7%)
сливные	0/15 (0%)	6/22 (27.3%)	1/11 (9.1%)	5/23 (21.7%)
массивные	0/15 (0%)	2/22 (9.1%)	1/11 (9.1%)	1/23 (4.3%)
Мононуклеарная инфильтрация:				
отдельные клетки	2/15 (13.3%)	7/22 (31.8%)	4/11 (36.4%)	6/23 (26.1%)
очаговая	1/15 (6.7%)	5/22 (22.7%)	3/11 (27.3%)	9/23 (39.1%)
диффузная	0/15 (0%)	12/22 (54.5%)	3/11 (27.3%)	9/23 (39.1%)
Наличие сегментоядерных лейкоцитов	0/15 (0%)	2/22 (9.1%)	0/11 (0%)	1/23 (4.3%)

*- показатели (Me [IQR]; номинативные данные – абсолютные числа и доли в %)

клеток собственной пластинки десны как в группе контроля, так и в группах пациентов с различными формами пародонтита. При этом выявлена прямая (от умеренной до высокой) взаимосвязь позитивности ($\rho_{e-s}=0.45$, $p<0.05$) и интенсивности эпителиальной и стромальной экспрессии ($\rho_{e-s}=0.56$, $p<0.05$) ММП-2 между собой, а также с выраженностю межэпителиальной инфильтрации лейкоцитами ($\rho_s=0.53$, $p<0.05$).

При визуальной оценке патогистологических препаратов (рис. 1) экспрессия ММП-2 в группе контроля и хронического простого пародонтита характеризовалась преобладанием окрашивания эпителиального компонента (с умеренной и слабой интенсивностью ИГХ-реакции соответственно) и, в меньшей степени окрашиванием эндотелия сосудов и фибробластов собственной пластинки десны. В группах же быстропрогрессирующего и хронического сложного пародонтитов (см. рис. 1) преобладала стромальная экспрессия ММП-2 в фибробластах, клетках воспалительного инфильтрата, эндотелия сосудов, капилляров (от слабой до умеренной интенсивности ИГХ-окрашивания) и в меньшей степени отмечалось окрашивание эпителиального компонента десны с преобладанием слабой интенсивности ИГХ-реакции.

Морфометрический анализ показал, что общая экспрессия ММП-2

(рис. 1-2) во всех наблюдаемых группах патологии пародонта соответствовала умеренно и слабовыраженному ИГХ-окрашиванию с вариабельной позитивностью от 7 до 100% и отсутствием статистически значимых различий по данному показателю, а также индексу интенсивности ИГХ реакции, между исследуемыми группами (за исключением значимо более низкого показателя общей позитивности в группе хронического сложного пародонтита по сравнению с хроническим простым – 63 и 72% соответственно).

Программный анализ стромального компонента десны (рис. 1, 4) выявил статистически значимо большую интенсивность экспрессии ММП-2 во всех группах пародонтитов по сравнению с группой контроля с преобладанием умеренно выраженной и слабовыраженной интенсивности ИГХ-окрашивания соответственно, которая коррелировала с характером и выраженностью лимфогистиоцитарной инфильтрации и наличием в инфильтрате

Позитивность стромальной экспрессии ММП-2 была наибольшей в группе быстропрогрессирующего пародонтита (56.5%) и статистически значимо превышала таковую в группе хронического сложного пародонтита ($U=1915$; $p=0.048$). Отсутствие статистически значимых различий по данному показателю между групп-

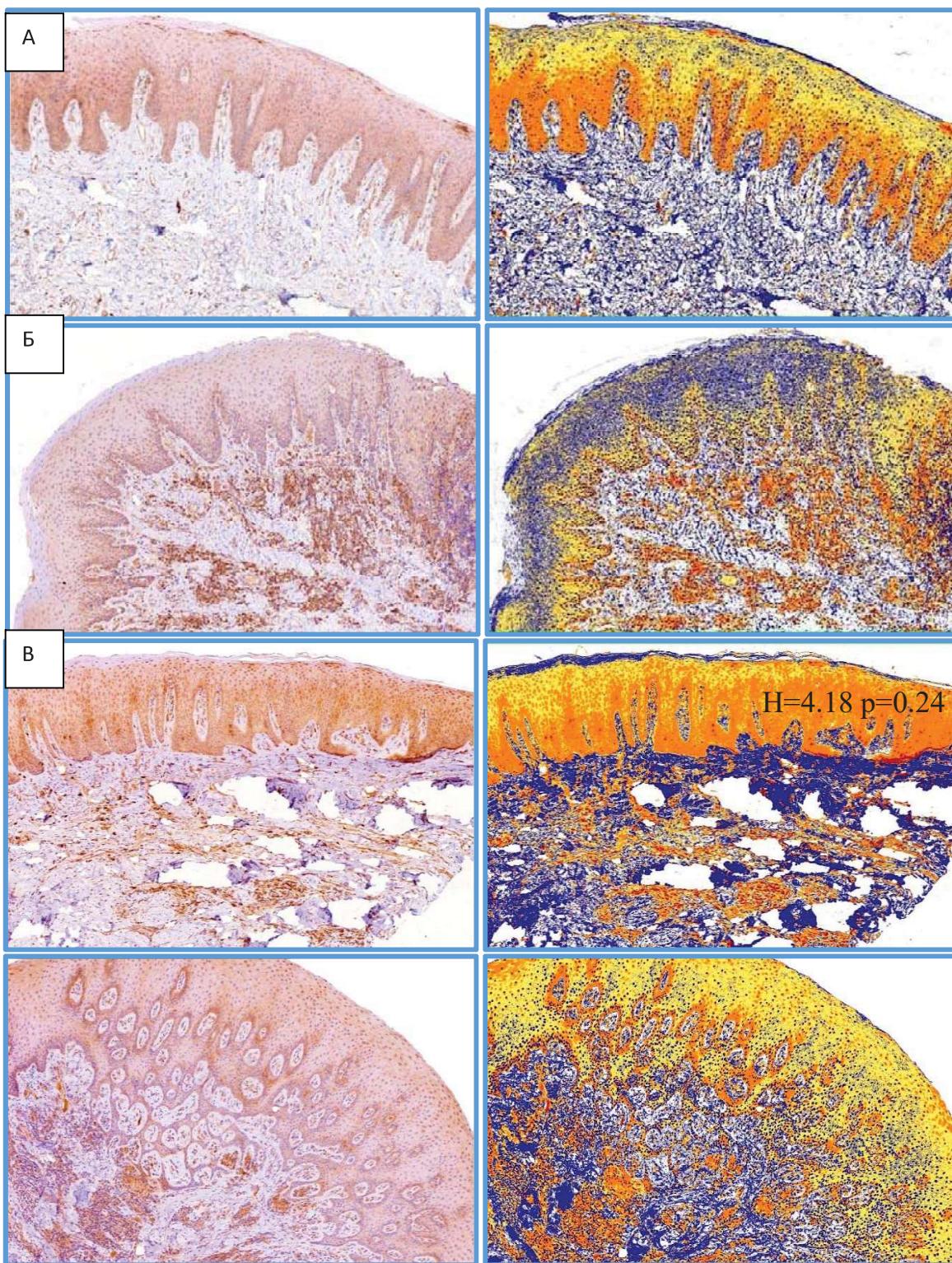
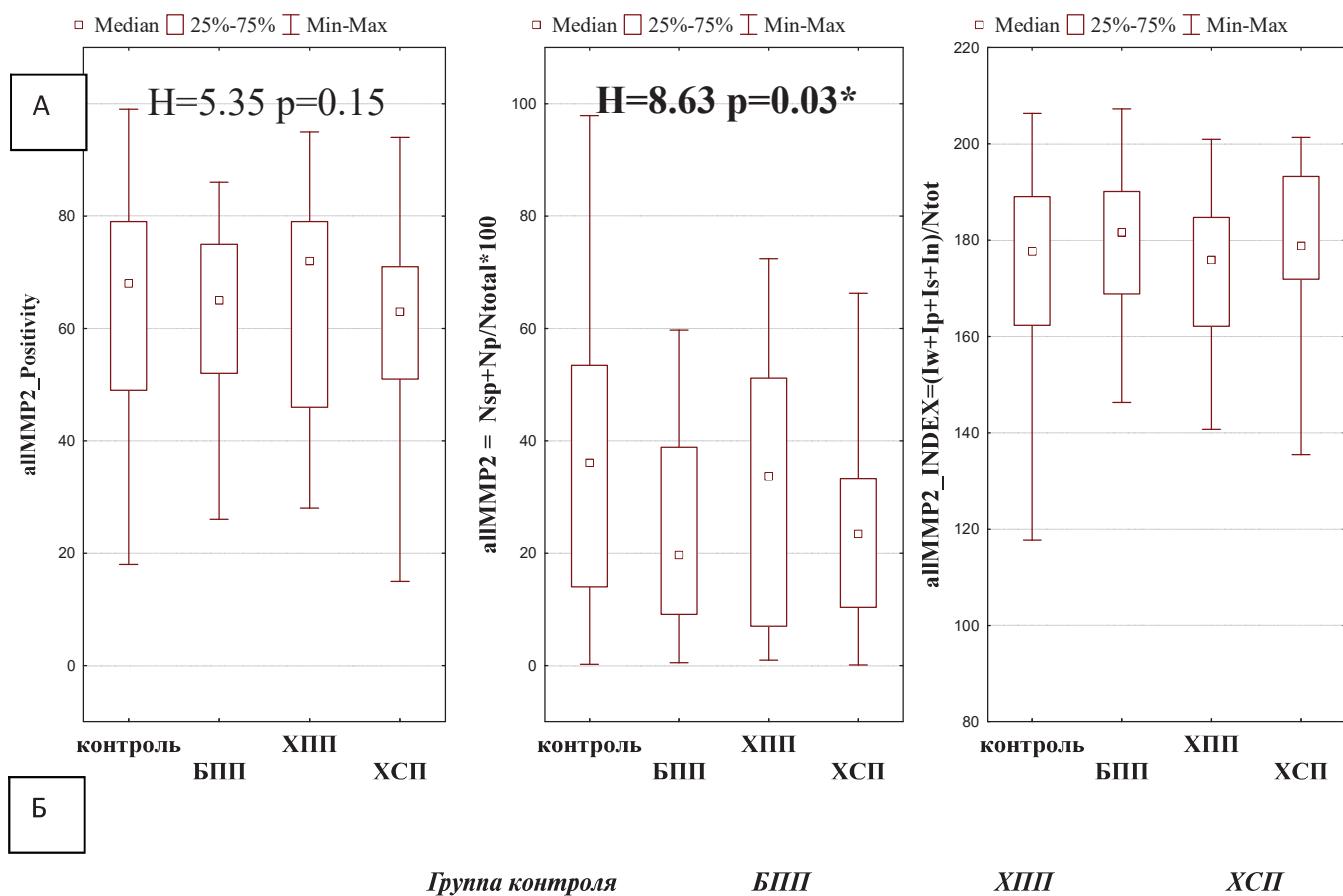


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к ММП-2 и результат морфометрического анализа в AperioImageScope в группе контроля (А), быстропрогрессирующего (Б), хронического простого (В), хронического сложного (Г) пародонтитов; х8 (хромоген – DAB, контроокрашивание гематоксилином Майера).

пами быстропрогрессирующего и хронического простого пародонтита ($U=854$; $p=0.055$) в том числе может быть обусловлено относительно малым количеством случаев хронического простого пародонтита, включенных в исследование.

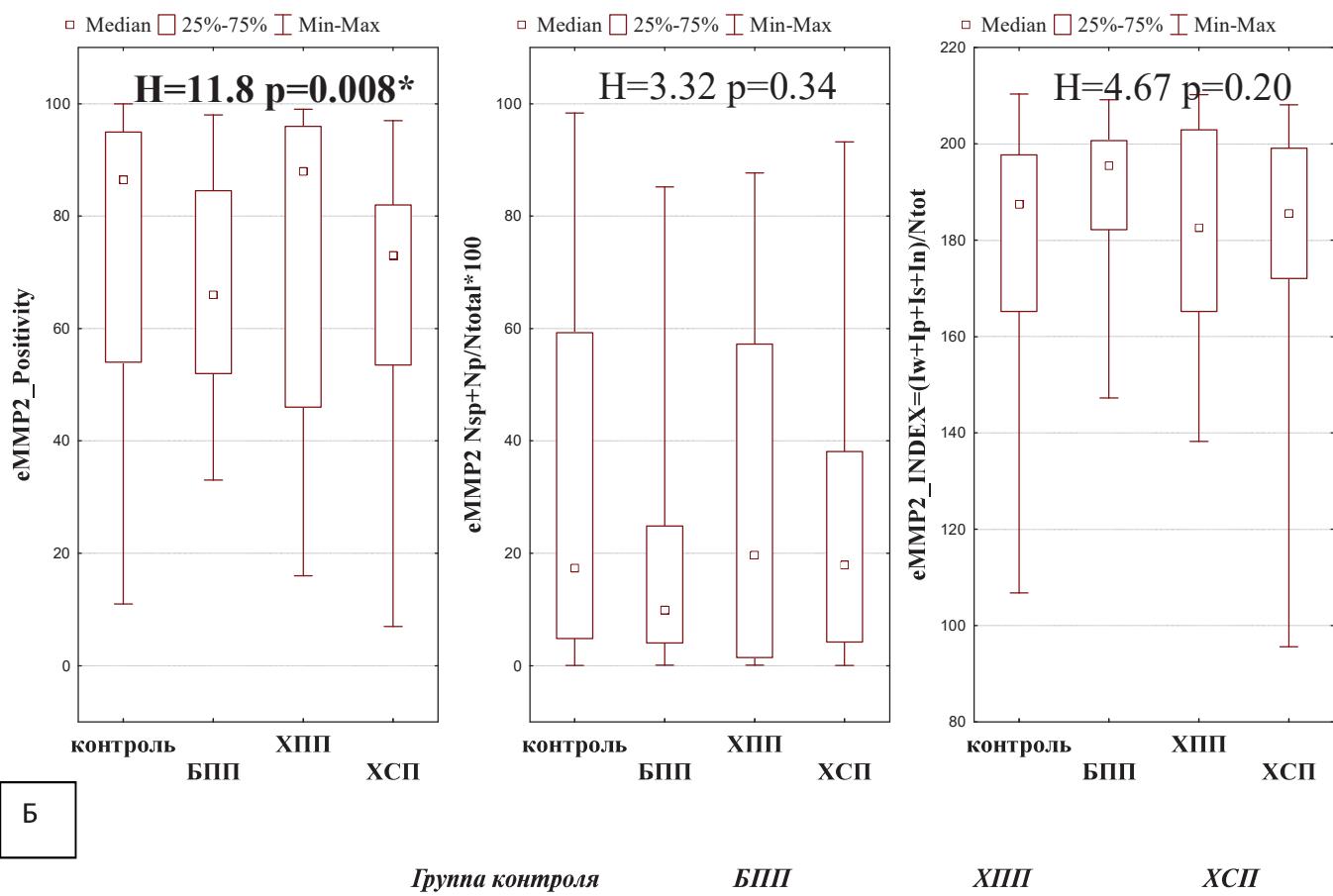
Согласно полученным в данном исследова-

нии результатам, оценка экспрессии ММП-2 отдельно в эпителиальном компоненте, а также комплексная оценка экспрессии ММП-2 в эпителиальном и стромальном компоненте десны имеет наибольшее значение для дифференциальной диагностики именно хронических форм



(А – Краскела-Уоллиса, Б – Манна-Уитни)

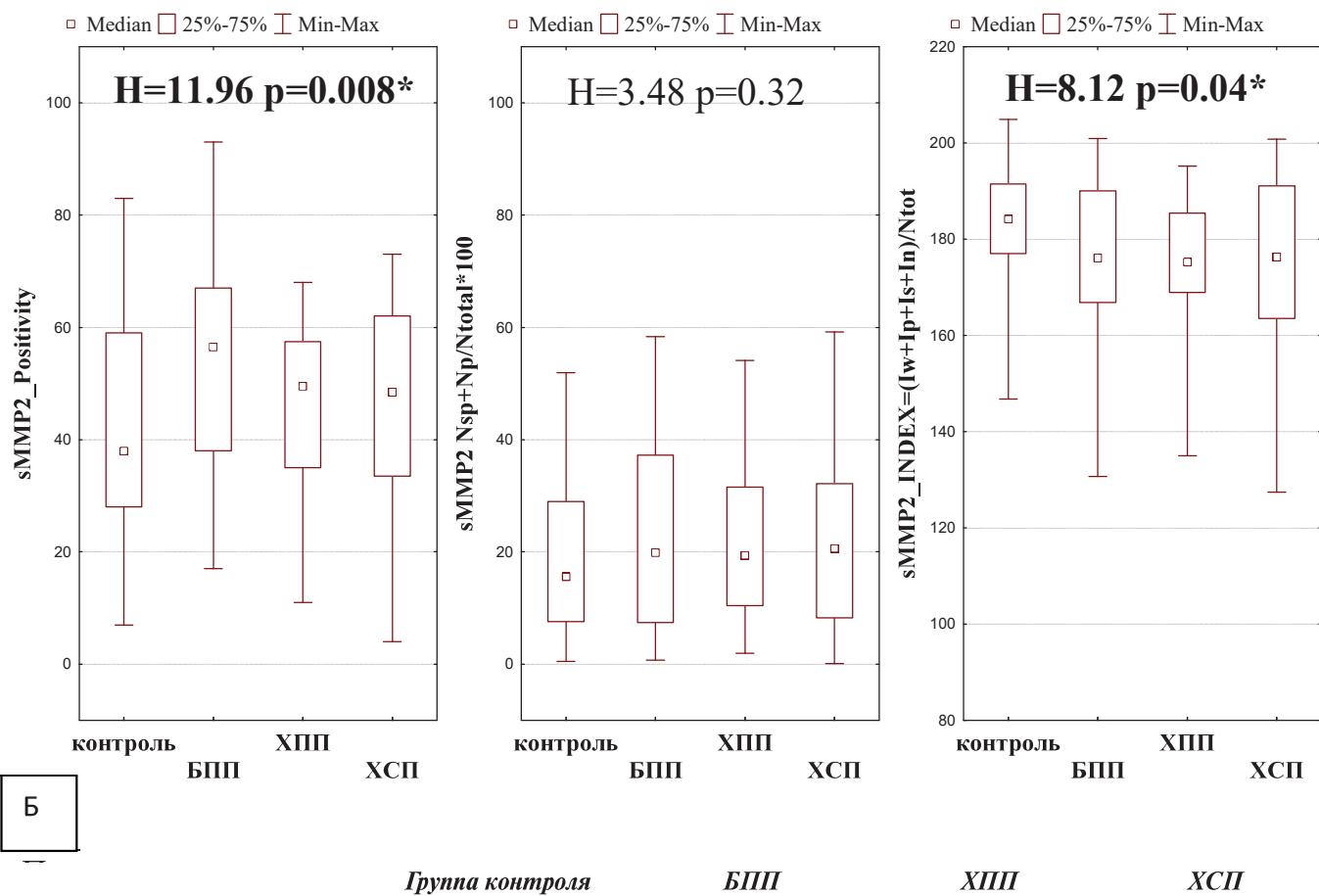
Рис. 2. Анализ позитивности и интенсивности экспрессии ММП-2 в биопсийном материале десны в группах пациентов с различным клиническим течением пародонтита.



Позитивность экспрессии ММП-2				
Me (25-75%), %	86.5 [54-95]	67 [57-865]	88 [46-96]	73 [53.5-82]
Группа контроля		p=0.008*	p=0.83	p=0.004*
БПП			p=0.07	p=0.85
ХПП				p=0.035*
Доля пикселей с высокой и умеренной интенсивностью экспрессии ММП-2				
Me (25-75%), %	17.4 [4.8-59.3]	9.9 [3.8-28.5]	19.7 [1.4-57.2]	17.9 [4.2-38.1]
Группа контроля		p=0.08	p=0.97	p=0.53
БПП			p=0.32	p=0.21
ХПП				p=0.56
Общий индекс интенсивности экспрессии ММП-2				
Me (25-75%)	187 [165-198]	194 [179-201]	183 [165-203]	185 [172-199]
Группа контроля		p=0.05	p=0.88	p=0.87
БПП			p=0.29	p=0.07
ХПП				p=0.96

(А – Краскела – Уоллиса, Б – Манна – Уитни)

Рис. 3. Анализ позитивности и интенсивности экспрессии ММП-2 в эпителиальном компоненте биопсийного материала десны в группах пациентов с различным клиническим течением пародонтита



Позитивность экспрессии ММП2				
Ме (25-75%), %	38 [28-59]	56.5 [37-64]	49.5 [35-57.5]	48.5 [33.5-62]
Группа контроля		<i>p=0.001*</i>	<i>p=0.26</i>	<i>p=0.13</i>
БПП			<i>p=0.055</i>	<i>p=0.048*</i>
ХПП				<i>p=0.79</i>
Доля пикселей с высокой и умеренной интенсивностью экспрессии ММП2				
Ме (25-75%), %	15.6 [7.6-29]	22.2 [7.4-37.1]	19.4 [10.4-31.5]	20.6 [8.3-32.2]
Группа контроля		<i>p=0.07</i>	<i>p=0.27</i>	<i>p=0.29</i>
БПП			<i>p=0.48</i>	<i>p=0.43</i>
ХПП				<i>p=0.91</i>
Общий индекс интенсивности экспрессии ММП2				
Ме (25-75%)	184 [177-191]	176 [166-188]	175 [169-185]	176 [163-191]
Группа контроля		<i>p=0.04*</i>	<i>p=0.004*</i>	<i>p=0.053</i>
БПП			<i>p=0.43</i>	<i>p=0.91</i>
ХПП				<i>p=0.52</i>

(А – Краскела-Уоллиса, Б – Манна-Уитни)

Рис. 4. Анализ позитивности и интенсивности экспрессии ММП-2 в стромальном компоненте биопсийного материала десны в группах пациентов с различным клиническим течением пародонтита

пародонтита между собой с определением показателей позитивности и доли высоко и умеренно позитивных пикселей. При этом выявлено, что в группах с быстропрогрессирующим и хроническим сложным пародонтитом параметры эпителиальной экспрессии ММП-2 характеризуются статистически значимо меньшими Me по сравнению с таковыми при хроническом простом пародонтите. В то же время отсутствует однозначное объяснение умеренно выраженной эпителиальной экспрессии ММП-2 при отсутствии воспаления и альтеративных изменений собственной пластинки и эпителия десны, в том числе в группе контроля, которую в ряде случаев можно расценить как аберрантную или связанную с другими заболеваниями полости рта.

Характер стромальной экспрессии ММП-2 характеризуется наибольшей площадью и интенсивностью ИГХ-реакции в фибробластах, клетках воспалительного инфильтрата и эндотелии капилляров в группе пациентов с быстропрогрессирующим пародонтитом, которая превышала таковую в группе хронического сложного пародонтита и может являться одним из сегментоядерных лейкоцитов ($\rho=0.53$ и $\rho=0.68$ соответственно; $p<0.05$).

патогенетических звеньев прогрессирующего разрушения и неэффективной регенерации пародонта и резорбции костной ткани челюстей.

Заключение

Проведенный анализ характера экспрессии ММП-2 в биопсийном материале десен пациентов с патологией пародонта показал, что наиболее информативным с точки зрения диагностики и определения характера течения пародонтита является изолированное исследование стромального компонента десны, в то время как оценка характера экспрессии ММП-2 в

эпителиальном компоненте менее информативна. Показатель позитивности стромальной экспрессии ММП-2 при умеренной ее интенсивности является наиболее эффективным в разграничении быстропрогрессирующего и хронического сложного пародонтитов, которые наиболее трудно поддаются дифференциальной диагностике на стадии манифестации заболевания с использованием клинико-лабораторных и лучевых методов исследования.

Литература

1. Жигулева В. В., Румянцев В. А. Матриксные металлопротеиназы при пародонтите //Вестник ТвГУ. Серия» Химия. – 2016. – №. 3. – С. 134-144. [Zhigulina V.V., Rumyantsev V.A. Matrix metalloproteinases in periodontal disease //Vestnik Tver State University. Series: Chemistry). – 2016. – №. 3. – P. 134-144. In Russian].
2. Sorsa T. et al. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation //Annals of medicine. – 2006. – V. 38. – №. 5. – С. 306-321. doi: 10.1080/07853890600800103.
3. Leppilahti J. M. et al. Matrix metalloproteinases and myeloperoxidase in gingival crevicular fluid provide site specific diagnostic value for chronic periodontitis //Journal of clinical periodontology. – 2014. – V. 41. – №. 4. – P. 348-356. doi: 10.1111/jcpe.12223.
4. Yu M. et al. Calcium influx inhibits MT1-MMP processing and blocks MMP-2 activation //FEBS letters. – 1997. – V. 412. – №. 3. – P. 568-572. doi: 10.1016/s0014-5793(97)00849-1.
5. Gonçalves R. P. et al. Detection of MMP-2 and MMP-9 salivary levels in patients with chronic periodontitis before and after periodontal treatment //Revista Odonto Ciéncia. – 2009. – V. 24. – №. 3. – P. 264-269.
6. Baega M. et al. Diagnostic accuracy for apical and chronic periodontitis biomarkers in gingival crevicular fluid: an exploratory study //Journal of clinical periodontology. – 2016. – V. 43. – №. 1. – P. 34-45. doi: 10.1111/jcpe.12479.
7. Chen D. et al. MMP-2, MMP-9 and TIMP-2 gene polymorphisms in Chinese patients with generalized aggressive periodontitis //Journal of clinical periodontology. – 2007. – V. 34. – №. 5. – P. 384-389. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01071.x