اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز در مایع شیار لثه‌ای بیماران پریودنتال

دکتر دردی قوجق*- دکتر بابک عموئیان**- دکتر پریسا ذبیحی***

* دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی‌وبیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل

** استادیار گروه آموزشی پریودنتیکس، دانشکدهٔ دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل

*** دندانپزشک

Title: An evaluation on elastase enzyme activity in gingival crevicular fluid in periodontitis

Authors: Qujeq D. Associate Professor*, Amoeian B. Assistant Professor**, Zabihi P. Dentist

Address: *Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences

**Dept. of Periodontics, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences

Statement of Problem: Changes in protein levels, host calls enzymes and inflammatory mediators in gingival crevicular Fluid (GCF) are considered as diagnostic indicators of Periodontitis.

Purpose: he aim of the present study was to measure the elastase enzyme activity in gingival crevicular Fluid among patients with periodontitis.

Material and Methods: In this study, 52 periodontitis patients (experimental group) and 51 healthy subjects without any gingival inflammatio (control group) were participated. Subjects of the periodontitis group showed pockets of 4-5 mm depth without gingival enlargement and recession or pockets of 1-2 mm depth with gingival recession. For enzyme activity measurement, 100µl of gingival fluid of each sample was mixed with 100µl of enzyme substrate on the tube. The mixture was incubated at 34°c for 1h with a buffer solution of 1ml volume and absorbance was read at 410nm with spectrophotometer. The enzyme activity differences between two groups were analyzed by student t test.

Results: The elastase enzyme activity in gingival crevicular fluid in subjects with periodontium destruction and control subjects was 153±11.3 and 52.7±10.4 enzyme unit in ml per minute, respectively. The difference between groups was statistically significant ($P<0.05$).

Conclusion: Based on the findings of this study, the measurement of elastae enzyme activity could be a useful indication of tissue changes that may ultimately manifest clinically as periodontitis.

Keywords: Gingival crevicular fluid; Elastase; Periodontal disease

Journal of Dentistry. Tehran University of Medical Sciences (Vol. 16; No.1; 2003)

چکیده

بیان مسأله: تغییرات میزان پروتئین‌ها، آنزیم‌های سلول‌های میزبان و مدیاتورهای التهابی در مایع شیار لثه‌ای از شاخصهای تشخیصی پریودنتیت هستند.

هدف: مطالعه حاضر با هدف اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز در مایع شیار لثه‌ای بیماران پریودنتال انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه شاهد- موردی، ۵۲ بیمار مبتلا به پریودنتیت (گروه مورد) با عمق پاکت ۵-۴ میلیمتر بدون افزایش حجم یا تحلیل لثه و یا عمق پاکت ۲-۱ میلیمتر همراه با تحلیل لثه به اندازه ۴-۳ میلیمتر و ۵۱ نفر بدون التهاب لثه (گروه شاهد) مورد مطالعه قرار گرفتند و از شیار لثه‌ای هر دوگروه نمونه‌برداری شد. برای‌اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه تهیه شده از شیار لثه‌ای با مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترای آنزیم مخلوط گردید و به لوله آزمایش انتقال داده شد. مخلوط بدست آمده به

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]

همراه بافر به حجم ۱ میلی لیتر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت انکوبه شد و جذب نوری هر یک در طول ۴۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. پس از به دست آوردن مقادیرفعالیت آنزیمی، اختلاف بین دو گروه با استفاده از آزمون آماری Student t تحلیل گردید.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم الاستاز در مایع شیار لثه‌ای در افرادی که تخریب پریودنشیم داشتند برابر با۱۱/۳±۱۵۳/۸ و در گروه شاهد برابر با ۱۰/۴±۵۲/۷ واحد آنزیمی در میلی‌لیتر در دقیقه بود و اختلاف نتایج دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه می‌توان چنین نتیجه گرفت که اندازه‌گیری فعالیت الاستاز می‌تواند شاخص خوبی برای بررسی پریودنتیت باشد.

کلید واژه‌ها: مایع شیار لثه‌ای؛ الاستاز؛ بیماری پریودنتیت

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران (دوره ۱۶، شماره ۳، سال ۱۳۸۲)

مقدمه

التهاب بافتهای اطراف دندان، اختلالی است که به بررسی میزان تخریب بافت پریودنشیم مربوط می‌شود. معمولاً تخریب بافت پریودنشیم توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پروتئازهای فعال درطی واکنش بین باکتری و سیستم دفاعی بدن ایجاد می‌شود (۲،۱). آنزیم الاستاز یک سرین پروتئاز است که در گرانول‌های گرانولوسیت‌های نوتروفیلی ذخیره می‌شود؛ این آنزیم، الاستین و برخی پروتئین‌های مهم ساختمانی را در بافتهای پوشاننده، نگهدارنده دندان، بافت پریودنشیم، لثه و استخوان فک تجزیه می‌نماید؛ همچنین الاستاز می‌تواند کلاژن و پروتوگلیکان‌های غشای پایه را نیز تجزیه نماید. به طورکلی الاستاز فعال، در طی مراحل فاگوسیتوز پس ازنکروزسلولی آزاد می‌شود. رها شدن مقدار زیاد الاستاز، سبب تخریب بافت می‌گردد. الاستاز آزادشده در داخل بافت توسط دو مهارکننده به نام آلفا- یک آنتی تریپسین و آلفا- دو – ماکروگلوبین مهار می‌گردد. آلفا- یک آنتی تریپسین، پروتئازی است که به مقدار زیاد در مایع شیار لثه‌ای وجود دارد و نقش آن کنترل فعالیت آنزیم الاستار نروتروفیلی است. مقدار آلفا- یک آنتی تریپسین معمولاً برای کنترل فعالیت پروتئاز آزاد درافراد نرمال کافی است. در شرایطی که در مایع شیار لثه‌ای مقدار رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پروتئازها افزایش یابد، ممکن است آلفا یک آنتی تریپسین غیر فعال گردد و در نتیجه به مدت طولانی در مایع شیار لثه‌ای پایدار باقی بماند (۳،۲،۱). طبق مطالعات انجام‌شده توسط محققان، افزایش فعالیت الاستاز در مایع شیار لثه‌ای نشانگر پیشرفت پریودنتیت است (۴،۲،۱). از جمله روشهای موجود برای تشخیص پریودنتیت می‌توان به رادیوگرافی و میزان تخریب بافت پریودنشیم اشاره کرد. این دو روش گذشته‌نگر و غیرحساس می‌باشند؛ زیرا زمانی توانایی تشخیص دارد که حداقل چند میلی‌متر ارتباط بین بافت و دندان تخریب شده و از بین رفته باشد. بررسی کمّی ترکیبات در مایع شیار لثه‌ای (GCF) برای شناسایی محلهایی که احتمالاً ارتباط بین لثه و دندان از بین رفته است، مناسب‌تر می‌باشد (۶-۲). یکی از این ترکیبات که در سالهای اخیر مورد توجه بسیاری قرار گرفته، آنزیم الاستاز است. نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که فعالیت الاستاز در پریودنتیت تغییر می‌یابد (۱۰-۶)؛ در طول التهاب لثه‌ای یا ژنژیویت تجربی نیز فعالیت الاستاز افزایش می‌یابد (۱۱). علاوه بر این، کاهش در فعالیت الاستاز مایع شیار لثه‌ای بعد از درمان بیماران با التهاب لثه‌ای مشاهده شده است (۱۲). نتایج مطالعه گذشته‌نگر بیماران با ژنژیویت درمان نشده نشان داده است که الاستاز مایع شیار لثه‌ای در محلهایی که از دست دادن پیوستگی بین

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]

دندان و لثه بیش از ۶ ماه بوده، به مقدار زیاد افزایش می‌یابد. این محققان پیشنهاد کرده‌اند که اندازه‌گیری الاستاز در پریودنتیت برای بررسی و ارزیابی پیوستگی بین لثه و دندان بسیار مفید است (۱۳). از طرفی مایع شیار لثه‌ای، یک ماده تراوش یافته التهابی است و حاوی ترکیبات تجزیه شده از بافت پریودنتال است که در اثر پیشرفت پریودنتیت حاصل می‌شود (۱۵،۱۴). مواد زیادی در مایع شیار لثه‌ای قابل‌اندازه‌گیری است که شامل پروتئین‌ها، آنزیم‌های سلول‌های میزبان و مدیاتورهای التهابی که آنها برای تشخیص پریودنتیت قابل استفاده می‌باشند (۱۷،۱۶). اندازه‌گیری پروتئاز مایع شیار لثه‌ای بسیار مناسب است؛ زیرا ارزش کافی برای پیش بینی تشخیص پریودنتیت را دارد (۱۸). مطالعه حاضر با هدف بررسی توزیع و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز در مایع شیار لثه‌ای در بیماران پریودنتال مراجعه‌کننده به بخش پریودنتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه شاهد-موردی نمونه‌برداری از دو گروه افراد بیمار و سالم انجام شد. معیار ورود افراد به گروه مورد داشتن عمق پاکت در حدود ۵-۴ میلیمتر بدون افزایش حجم یا تحلیل لثه یا با عمق پاکت ۲-۱ میلیمتر همراه با تحلیل لثه به اندازه ۴-۳ میلیمتر بود. ۸۰٪ بیماران از بهداشت دهانی ضعیفی برخوردار بودند. تقریبا ۹۲٪ از افراد مورد مطالعه مبتلا به پریودنتیت مزمن و ۸٪ باقیمانده مبتلا به پریودنتیت تهاجمی بودند. در پرونده ۷۰ ٪ از بیماران علاوه بر درمانهای پریو، سایر درمانهای دهان و دندان از قبیل ترمیمی، اندو، پروتز نیز درج شده بود. در ۶۵٪ از بیماران عوامل مستعدکننده به بیماری پریودنتال مثل مصرف سیگار وجود داشت. تنها یک نفر مبتلا به تالاسمی‌ماژور و HBS- Ag مثبت بود و بقیه افراد مشکل سیستمیک نداشتند یا داروی خاصی مصرف نمی‌کردند. میانگین پلاک ایندکس بیماران حدود ۸۰-۷۰ ٪ بود. افرادی که داروهای خاص مصرف می‌کردند و یا مبتلا به بیماری سیستمیک بودند، از مطالعه حذف می‌شدند.

لازم به ذکر است نمونه‌برداری در ۷۰٪ از افراد، قبل از شروع درمان و طی جلسات اول، دوم و سوم انجام شد.

نمونه‌برداری از افراد گروه مورد طی مدت دوازده هفته انجام شد؛ سپس برای انجام آزمایش بعدی مورد استفاده قرار گرفت. تعداد بیماران در گروه مورد ۵۲ نفر (۳۸ نفر مرد با متوسط سنی ۶/۲±۳۱/۴ سال و ۱۴ نفر زن با متوسط سنی ۷/۹±۳۴/۵ سال) بود.

در افراد گروه شاهد نشانه‌هایی از التهاب و تحلیل لثه مشاهده نشد؛ همچنین از لحاظ سن و جنس مشابه گروه مورد بودند. نمونه‌برداری طی مدت دوازده هفته انجام شد؛ سپس برای انجام آزمایش بعدی مورد استفاده قرار گرفت. تعداد افراد این گروه ۵۱ نفر (۲۸ مرد با متوسط سنی ۸/۳±۲۹/۷ سال و ۲۳ زن با متوسط سنی ۵/۶±۳۲/۴ سال) بود. در این افراد از ۴-۲ محل، نمونه‌برداری شد.

در مشاهدات رادیوگرافی این بیماران علاوه بر یافته‌های کلینیکی، علائم خاصی مشاهده نشد. این افراد بیماری سیستمیک خاصی نداشتند و داروی خاصی مصرف نمی‌کردند. در پرونده آنها انجام معالجات پریو جز در حد جرمگیری ساده درج نشده بود؛ هر چند به سایر درمانهای دهان و دندان نیاز داشتند. این افراد از بهداشت دهانی در حد متوسط تا خوب برخوردار بودند.

برای نمونه‌برداری از مخروطهای کاغذی مورد استفاده در درمانهای اندو به اندازه ۳۰ و ۳۵ درجه، لوله‌های آزمایش دورهام به حجم ۰/۳میلی لیتر، آینه دندانپزشکی و پروب پریودنتال استفاده شد.

نمونه‌برداری با استفاده از نوارهای جاذب کاغذی به روش بریل انجام شد؛ ابتدا عمیق‌ترین و مناسب‌ترین پاکت در

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]

بیماران پریودنتال با کنار زدن گونه از طریق آزمایش پروب انتخاب شد. سپس با آینه دندانپزشکی، محل نمونه‌گیری با استفاده از پنبه استریل جدا شد و سرنگ هوا خشک گردید. هر پاکت ۳ بار با بافر فسفات شسته شد؛ سپس نوک فیلتر توسط پنس وارد پاکت شد؛ به نحوی که حداقل فیلتر با یکی از دیواره‌های پاکت در تماس باشد؛ سپس به همان حالت به مدت ۲-۱ دقیقه ثابت نگه داشته شد؛ به نحوی که حداقل ۱ میلی مترطول کاغذ در پاکت قرار داشت؛ بعد به آرامی‌فیلتر از پاکت جدا شد؛ در حالی که مایع شیار لثه‌ای حاصل حدود ۲ میلی لیتراز انتهای کاغذ به حجم تقریبی ۱۰ میلی مولار آغشته شده بود وارد لوله آزمایش گردید. نمونه‌ها با دقت به لوله‌های آزمایش انتقال داده شد؛ به طوری که نوک کاغذ که به نمونه آغشته بود، در ته لوله قرار گرفت؛ سپس در ظرف نمونه با پارافیلم بسته شد و از نمونه‌ها در دمای ۴ درجه در یخچال تا روز انجام آزمایش نگهداری شد.

همه نمونه‌ها و نیز نمونه استاندارد با استفاده از بافر فسفات ۱۰ میلی مولار با pH=۷/۵ تهیه شدند؛ همچنین بافر بیکربنات ۲۰ میلی مولار با pH=۹/۵ مورد استفاده قرار گرفت.

سوبسترا الاستاز (ال- پیروگلوتامیل- ال- پرولیل- ال- والین- پ- نیترو آنیلین با وزن مولکولی ۴۴۵/۵ دالتون) دردی متیل سولفاید در غلظت ۱۰ میلی مول درلیتر تهیه شد و در هنگام آزمایش تا غلظت ۱ میلی مول در لیتر در بافر فسفات رقیق گردید. سوبسترای آلکالین فسفاتاز (پارا- نیترو- فنل فسفات) تا ۵ میلی مول در لیتر در بافر دی اتانل آمین با pH=۹/۸رقیق شد. مقدار پارا- نیترو آنیلین آزاد شده با مقدار پارانیترو آنیلین استاندارد مقایسه گردید. هر یک از نمونه‌های تهیه شده از هر شخص (در هر دو گروه کنترل و بیمار) با بافر فسفات تا حجم ۱ میلی لیتر رقیق شد.

نمونه‌های تهیه‌شده پس از جمع‌آوری در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و محلول رویی جهت انجام آزمایش بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز توتال مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترا اضافه گردید و مخلوط حاصل به همراه بافر به حجم ۱ میلی لیتر در لوله‌های آزمایش در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت انکوبه شد و جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. با توجه به مقادیر جذب نوری هریک از نمونه‌ها و با استفاده از منحنی استاندارد فعالیت آنزیم الاستاز در مایع شیار لثه‌ای محاسبه گردید. پس از اندازه گیری فعالیت الاستاز توتال،فعالیت آنزیم الاستاز با افزودن ۱۰۰ میکرو لیتر از آلفا- یک آنتی تریپسین ۰/۱٪ به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه و انکوباسیون به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مهار شد، پس از آن فعالیت الاستاز در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه گیری شد. مقدار فعالیت مهارشده توسط آلفا- یک آنتی تریپسین به عنوان الاستاز آزاد در نظر گرفته شدوباقی مانده فعالیت الاستاز به عنوان الاستاز مهار شده توسط آلفا-۲- ماکروگلوبولین در نظر گرفته شد.

مقادیر فعالیت آنزیمی بر حسب میانگین و انحراف معیار به دست آمد و اختلاف بین دو گروه مورد و شاهد با استفاده از آزمون آماری Student t و با اطمینان ۹۵٪ بررسی گردید.

یافته‌ها

در تصویر ۱ منحنی استاندارد اندازه‌گیری فعالیت الاستاز مایع شیار لثه‌ای نشان داده شده است. مقدار فعالیت الاستاز در مایع شیار لثه‌ای در نمونه‌های افراد مبتلا به پریودنتیت نسبت به افراد شاهد (بدون پریودنتیت) بالاتر بود؛ همچنین فعالیت آنزیم الاستاز در مایع شیار لثه‌ای در افرادی که تخریب پریودنشیم داشتند ۱۱/۳±۱۵۳/۸ واحد آنزیمی در میلی‌لیتر در دقیقه نسبت به افراد دیگر گروه شاهد ۱۰/۴±۵۲/۷ واحد آنزیمی در میلی‌لیتر در دقیقه بود که این

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]

اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) (تصویر ۲). درجدول ۱، بررسی کلینیکی و تعیین فعالیت آنزیم الاستاز در محلهایی از نمونه‌های گروه مورد و شاهد و در جدول ۲، فعالیت آنزیم الاستاز توتال، الاستاز آزاد والاستاز مهارشده با آلفا- یک آنتی تریپسین در مایع شیار لثه‌ای نشان داده شده است.

بحث

در گذشته پریودنتیت بر اساس بررسیهای رادیوگرافیکی، از دست دادن آلوئولار استخوان، بررسیهای مدت زمان ضایعه و بررسیهای کلینیکی شامل عمق پاکت و میزان از دست دادن چسبندگی، گسترش التهاب، رسوب میکروبی و حضور اگزودا تشخیص داده می‌شد و بر آن اساس نیز درمان می‌گردید. مطالعات طولانی مدت و پیگیری آن و نیز بازنگری این بیماران در سالهای اخیر نشان داده است که این روشها برای تشخیص پریودنتیت و همچنین برای درمان آن مناسب نمی‌باشد و پاکت‌های پریودنتال از نظر بیماری، می‌تواند فعال و یا غیرفعال باشد. این روشها نمی‌توانند محلهای فعال و غیرفعال را از هم افتراق دهند؛ به همین دلیل روشی بهتر برای تشخیص محلهای فعال و غیرفعال از نظر بیماری مورد نیاز است. محققان نشان داده‌اند که بررسی کمّی تغییر ترکیبات در مایع شیار لثه‌ای برای شناسایی محلهایی که ارتباط بین لثه و دندان از بین رفته است، مناسب‌تر است (۶-۲).

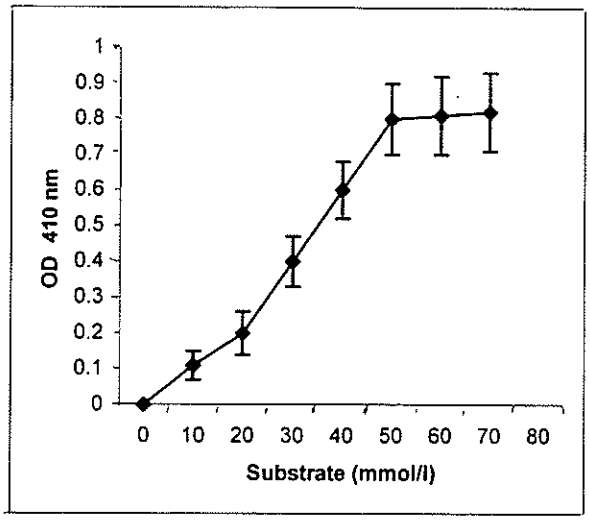
جدول ۱- بررسی کلینیکی و تعیین فعالیت الاستاز در نمونه‌های گروه مورد و شاهد

متغیرها	گروه کنترل	گروه بیمار
فعالیت الاستاز	۵۲/۷ ± ۱۰/۴	۱۵۳/۸ ± ۱۱/۳
عمق پروب (میلی متر)	۳/۴ ± ۰/۶۲	۷/۲ ± ۰/۶۵

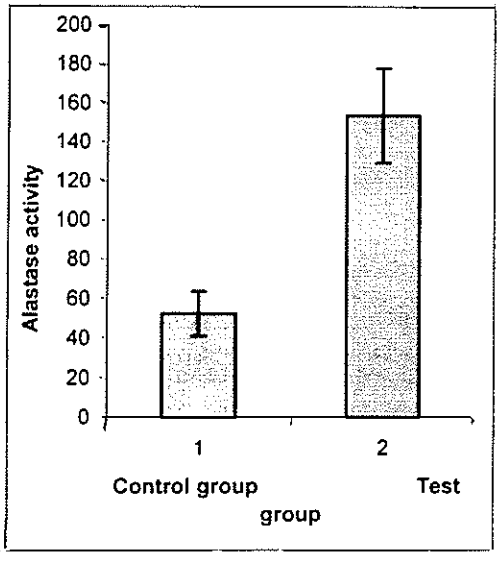
برحسب واحد آنزیمی‌در میلی لیتر در دقیقه است.

جدول ۲- فعالیت آنزیم الاستاز توتال، الاستاز آزاد و الاستاز مهارشده با آلفا- یک آنتی تریپسین در مایع شیار لثه‌ای

متغیرها	مقدار فعالیت آنزیمی (واحد آنزیمی‌درمیلی لیتر در دقیقه)
الاستاز توتال	۹۶/۳ ±۸/۴
الاستاز آزاد	۲۱/۴ ± ۴/۹
الاستاز مهارشده با آلفا-یک آنتی تریپسین	۵۶/۹ ±۵/۶



تصویر ۱- منحنی استاندارد اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز مایع شیار لثه‌ای



تصویر ۲- مقایسه فعالیت آنزیم الاستاز مایع شیار لثه‌ای در افراد گروه شاهد

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]

یکی از عواملی که در سالهای اخیر خیلی مورد توجه قرار محققان گرفته، آنزیم الاستاز است؛ پروتئازی که در مایع شیار لثه‌ای وجود دارد و در داخل پاکت‌های پریودنتال قرار می‌گیرد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مقدار فعالیت الاستاز در محلهای همراه با تخریب بافت، بالا و مقدار زیادی از این الاستاز به صورت آزاد است. بر خلاف این یافته برخی از محققان، وجود الاستاز آزاد را در مایع شیار لثه‌ای گزارش نداده‌اند؛ این اختلاف نظر شاید به دلیل اختلاف روش اندازه‌گیری و تفاوت در حساسیت و دقت درروش‌اندازه‌گیری فعالیت آنزیم الاستاز و یا مربوط به شرایط استخراج و خالص‌سازی آن آنزیم باشد (۱۹). از طرفی نفوذ پلاسما به مایع شیار لثه‌ای فعالیت آنزیم الاستاز را در مایع شیار لثه‌ای مهار می‌نماید؛ بنابراین ممکن است روش تهیه نمونه نیز دلیل دیگر اختلاف یافته‌های مطالعه حاضر با نتایج سایر محققان باشد. اگر چه ممکن است الاستاز اثرات مفیدی بر تغییرات طبیعی بافتها داشته باشد و بر علیه عفونتها فعال باشد، اما مقدار زیاد آن می‌تواند سبب تخریب بافت شود. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم الاستاز در محلهایی همراه با تخریب بافت بالا است و این آنزیم در این محل فعالیت بیشتری دارد؛ بنابراین می‌تواند سبب تخریب پروتئین‌های مهم بافتهای بدن از جمله سبب تخریب کلاژن و الاستین شود. این یافته‌ها با نتایج سایر محققان منطبق و قابل مقایسه است (۱۷،۶،۳)؛ طبق نتایج این تحقیق افزایش فعالیت آنزیم الاستاز با افزایش‌اندازه عمق مطلق پاکت و میزان پریودنشیم هماهنگی دارد؛ بنابراین با توجه به محدودیتهای این مطالعه، می‌توان چنین نتیجه گرفت که افزایش فعالیت آنزیم الاستاز مایع شیار لثه‌ای با پیشرفت بیماری پریودنتال همراه و هماهنگ است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل در قالب پایان نامه به انجام رسید که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از مدیریت و کارکنان محترم بخش بیوشیمی- بیوفیزیک دانشگاه به دلیل فراهم‌کردن امکانات و تجهیزات لازم برای انجام آزمایشها سپاسگزاری می‌گردد.

منابع:

1 - Figueredo C, Gustafsson A. Activity and inhibition of elastase in GCF. J Clin Periodontol 1998; 25: 531-35.

2 - Armitay GC. Diagnosing periodontal disease and moni toring the respons to periodontal therapy. In perspective of oral antimicrobial therapeutics Littleton, MA: PSG; 1987: 47-60.

3 - Johnson NW. Crevicular fluid- based diagnostic tests Curr. Opin Dent 1991; 1: 52-65.

4- Ranney RR. Diagnosis of periodontal disease. Adv Dent Res 1991; 1: 25-36.

5 - Lamster IB, Karabin SD. Periodontal disease activity. Curr Opin Dent 1992; 2: 39-53.

6- Armitage CC. Diagnostic test for periodontal disease. Curr Opin Dent 1992; 2: 53-62.

7 - Kunimatsu K, Chimaru E, Kato L. Granul ocyte medullasin levels in gingival -crevicular fluid from chronic adult periodontitis patients and experimental gigivitis subjects. J Periodont Res 1990; 25: 352-57.

8- Zafiropovlos GK. Flores- de- Jacoby L, Todt G, Kolb G, Havemeann K, Tatakis DN. Gingival crevicular fluid elastase- inhibitor complex: Correlation with clinical indices and subgingival flora. J Periodont Res 1991; 26: 24-32.

9- Eley BM, Cox SW. Cathepsin B/L elastasc, trypsine, trypsin- and dipeptidyl peptidase IV- like activities in gingival crevicular fluid: Corredlation with clinical parameters in untreated chronic periodontitis patients. J Periodont Res 1992; 27:62-69.

10- Gustafson A, Asman B, Bergstrom K, Soder P. Granulocyte elastase in gingival crevicular fluid. A possible

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]

discriminator between gingivitis and periodontitis. J Clin Periodontol 1992; 19: 535-40.

11- Darany DG, Beck FM, Walters JD. The relationship of gingival fluid leukoeyte elastase activity to gingval fluid flow rate. J Periodontol 1992; 63: 743-47.

12- Giannopoulou C, Andersen E, Demeurisse C, Cimasoni G. Neutrophil elastase and its inhibitors in human gingival creviculer flouid during experimental gingivitis. J Dent Res 1992; 17: 359-63.

13- Eley BM, Con SW, Gathepsin BL. Elastase trypsin and dipeptidyl peptidase IV-like.activities in gingival crevicular fluid: A comparision of levels before and after periodontal surgery in chronic periodontitis patients. J Periodontol 1992; 63: 412-17.

14- Loe H, Holm-Pederson P. Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingiva. Periodontics 1965; 3: 171-75.

15- Cimasoni G. Crevicular fluid updated. Monogr Oral Sci. 1983; 12: III-VII, 1-152.

16- Last KS, Stanburg JB, Embery G. Glycosaminogly cans in human gingival crevicular as indicators of active periodontal disease. Arch Oral Biol 1985; 30: 275-78.

17- Offenbacher S, Odle BM, Van Dyke TE. The use of crevicular fluid prostaglandin E2 level as a predictor of periodontal attachment Loss. J Periodont Res 1986; 21: 101-12.

18- MC Culloch C. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicotors of periodontitis. J Clin Periodontol 1994; 21: 497-506.

19- Giannopoulou C, Andersen E, Demeuris S, Cimasoni G. Neutrophil elastase and its inhibitors in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. J Dent Res 1992; 71: 359-63.

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2025-04-19]