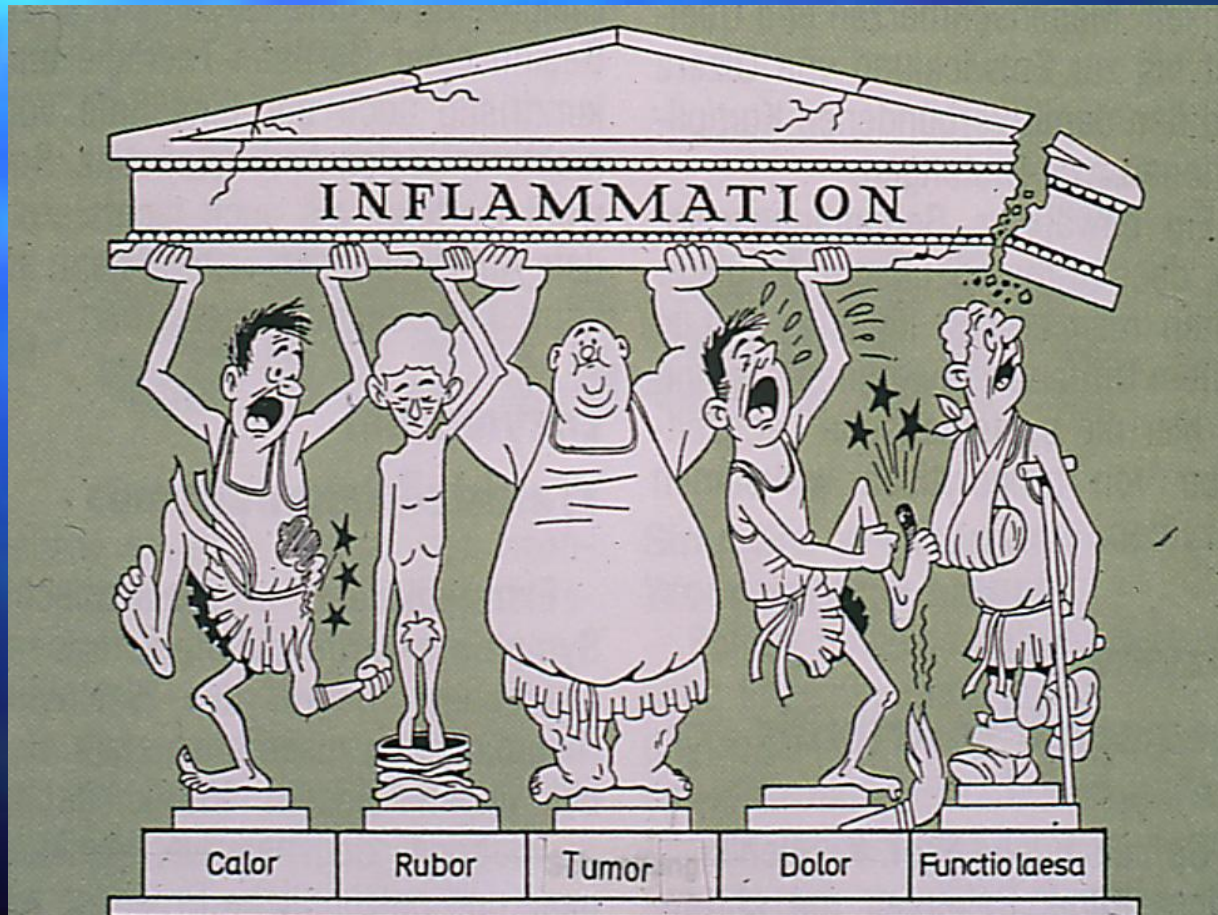


Vliv lokálně aplikovaných proteolytických enzymů na onemocnění měkkých tkání dutiny ústní a parodontu.

Martin Wald

Chirurgická klinika 2.LF UK a FN Motol

Zánět je „unikátní“ **fyziologický proces**, kterým organismus udržuje homeostázu vnitřního prostředí (*low grade inflammation*), nebo reaguje na exogenní resp. endogenní poškození všemi klinickými známkami akutní zánětlivé reakce.



Vyvolávající příčiny zánětlivé reakce

- mechanické (trauma, tlak)
- fyzikální (popálení, ozáření)
- chemické (poleptání)
- endogenní (krevní výron, nekróza, apod.)
- biologické (bakterie, plísně, viry, paraziti)
- imunoalterační (imunokomplexy)



Co je úkolem zánětlivé reakce ?

- likvidace vyvolávající příčiny
- lokalizace zánětlivých dějů na místo poškození
- podpora specifické imunitní odpovědi
- destrukce a odstranění poškozené tkáně
- regenerace poškozené tkáně



Sentinelová uzlina



Ve chvíli, kdy jsou vyčerpány možnosti akutní zánětlivé reakce potlačit vyvolávající příčinu a zhojit poškozenou tkáň *ad integrum*, přechází zánět do chronického stadia.

Agresivita vyvolávající příčiny

- virulence mikrobiálním plaku
resp. parodontálních patogenů
- chronická traumatizace
- jejich kombinace

Imunologický stav měkkých tkání

neschopnost dlouhodobě zvládat negativní biologické a fyzikální vlivy mající tendenci narušit integritu slizniční i podslizniční bariéry.

Takto nastolená nová rovnováha je ale obvykle doprovázena různě rychlou tkáňovou destrukcí působenou přetrvávající přítomností vyvolávající příčiny tak i metabolickými produkty vlastní zánětlivé reakce:

- granulocyty, makrofágy,
- prozánětlivé cytokiny, TGF beta
- exprese adhezních molekul (ICAM 1)
- změna poměru Th1/Th2

Chronický zánět

- prozánětlivé cytokiny (IL-1, IL-6, IL-10, TNF alfa) a mediátory (PGE2) způsobují progresi zánětlivé reakce
- gingivální tkáň je poškozována neutrofilními granulocyty a aktivovaným komplementem
- to vede k destrukci gingivální tkáně s tvorbou trhlin ve spojovacím epitelu
- k tvorbě gingiválního chobotu s následnou bakteriální proliferací v subgingivální oblasti
- v důsledku vysoké koncentrace IL-1beta a PGE2 jsou aktivovány osteoklasty s následnou resorpcí kosti

!!! Zatracený otok !!!

- snížené prokrvení/ischemie
- zhoršení lokální obranyschopnosti =
= progrese infekce
- zvýšení tlaku intersticiální tekutiny a její transport a
únik cestou nejmenšího odporu/gingivální chobot
- zvýšené napětí okrajů rány

Normální stav

Vzdálenost menší 200 μm

normální funkce buněk

buňka

mezibuněčná tekutina

Žilní systém

Lymfatický
systém

Tepenný systém

Otok

Vzdálenost větší 200 μm

omezená funkce buněk

až zástava a odumírání

buňka

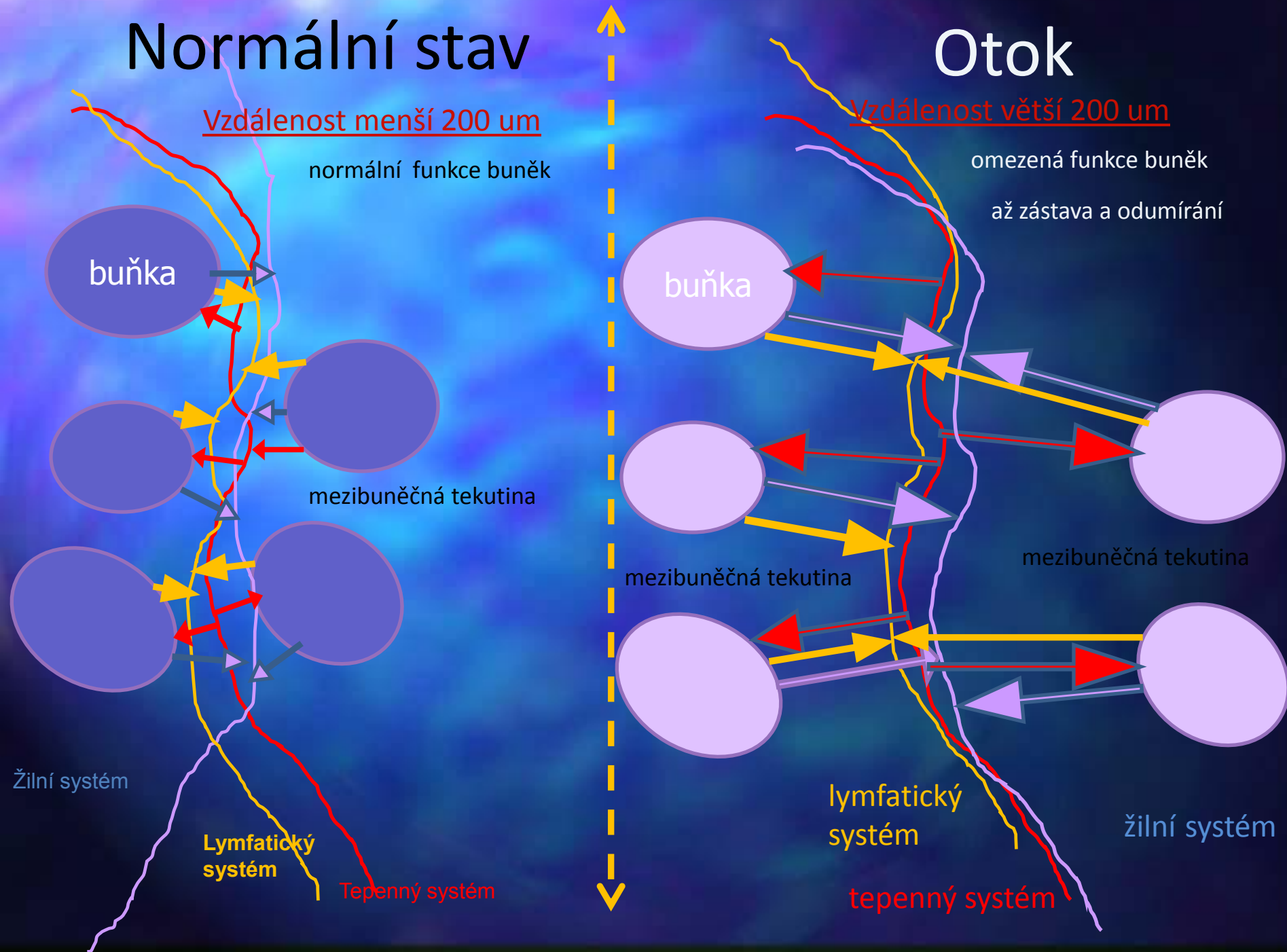
mezibuněčná tekutina

mezibuněčná tekutina

lymfatický
systém

žilní systém

tepenný systém



Imunologický stav měkkých tkání

Jaké jsou možnosti dlouhodobě
zvýšit obranyschopnost
slizniční i podslizniční bariéry?

??? Proteolytické enzymy ???

Agresivita vyvolávající příčiny

Jak snížit virulenci mikrobiálním agens
resp. parodontálních patogenů?

Proteázy

aplikované systémově/lokálně

- Farmakologické účinky jsou dlouhodobě prostudovány *in vitro* a *in vivo*.
- Při lokální ani systémové aplikaci nemají zásadnější nežádoucí účinky.
- Jejich vlivu na zánětlivá onemocnění měkkých tkání dutiny ústní a parodontu zatím nebyla v klinické praxi věnována větší pozornost.

Oro-dental infections

- Since 1960s, proteolytic enzymes have been used in stomatology.
- Varney-Burch used peroral **trypsin** and chymotrypsin in postdental surgery and found that these **enzymes reduced the healing time by 50%** [99, 100].
- Proteolytic enzymes are also found to be useful in dental infections. Used as a mouthwash, the **enzymes help in combating gingivitis and reducing plaque formation in children and young adults** [101, 102].

Skin and soft tissue infections- Adequate debridement of wound and burn areas is essential for prevention and management of infections.

- Experimental runs of enzymes as wound debridement agents have given positive results.
- Papain-urea, papain-urea-chlorophyllin, bromelain, ficin and bacterial collagenase has been extensively investigated for use in wound bed preparation[103-111].
- Bromelain scores over collagenase in efficacy and safety as a wound debridement agent[113].

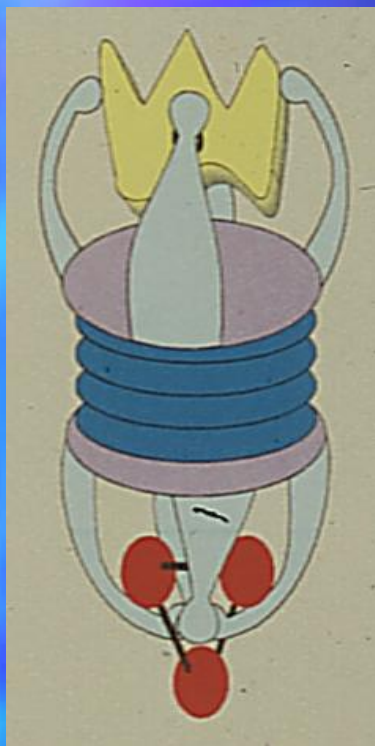
Self-limiting caries therapy with proteolytic agents

Results:

- Lactic acid produced demineralized dentin covered with a surface layer removable by proteolytic enzymes.
- The amount of tissue removed with the current proteolytic agents ranked as follows:
trypsin < pepsin < collagenase < NaOCl.

CLINICAL SIGNIFICANCE

- These experiments demonstrated the potential of proteolytic enzymes to remove carious tissue. NaOCl had a similar effect.
- Summarizing these results together with additional information from the literature, the enzymatic approach and NaOCl have the potential to preserve tooth tissue.
- The specificity of enzyme action makes enzymes an attractive alternative to chemo-mechanical therapy.



Dvojitý efekt proteáz
při onemocnění
parodontu



Klinické efekty proteáz

- protizánětlivý efekt^(5, 13)
- antiedématozní a edémprotektivní účinky^(6, 8, 10, 11, 12, 13)
- fibrinolytický a trombolytický efekt⁽⁴⁾ zprůchodnění mikrocirkulace
- omezení agregace erytrocytů i trombocytů⁽²⁾ zlepšení fluidity
- zlepšení reologických vlastností krve, lymfy
a intersticiálního prostoru⁽²⁾
- efekt vehikula^(1, 3, 9) zvýšení prostupnosti jiných látek do tkání a tělních tekutin
- analgetický účinek^(7, 10, 11, 12)

Ošetření edémů v zubní ordinaci proteolytickými enzymy

Vinzenz K.: Ödembehandlung bei zahnchirurgischen Eingriffen mit proteolytischen Enzymen. Chirurgische Zahnheilkunde 7: 1053–1064, 1991. S-5

Popis studie:

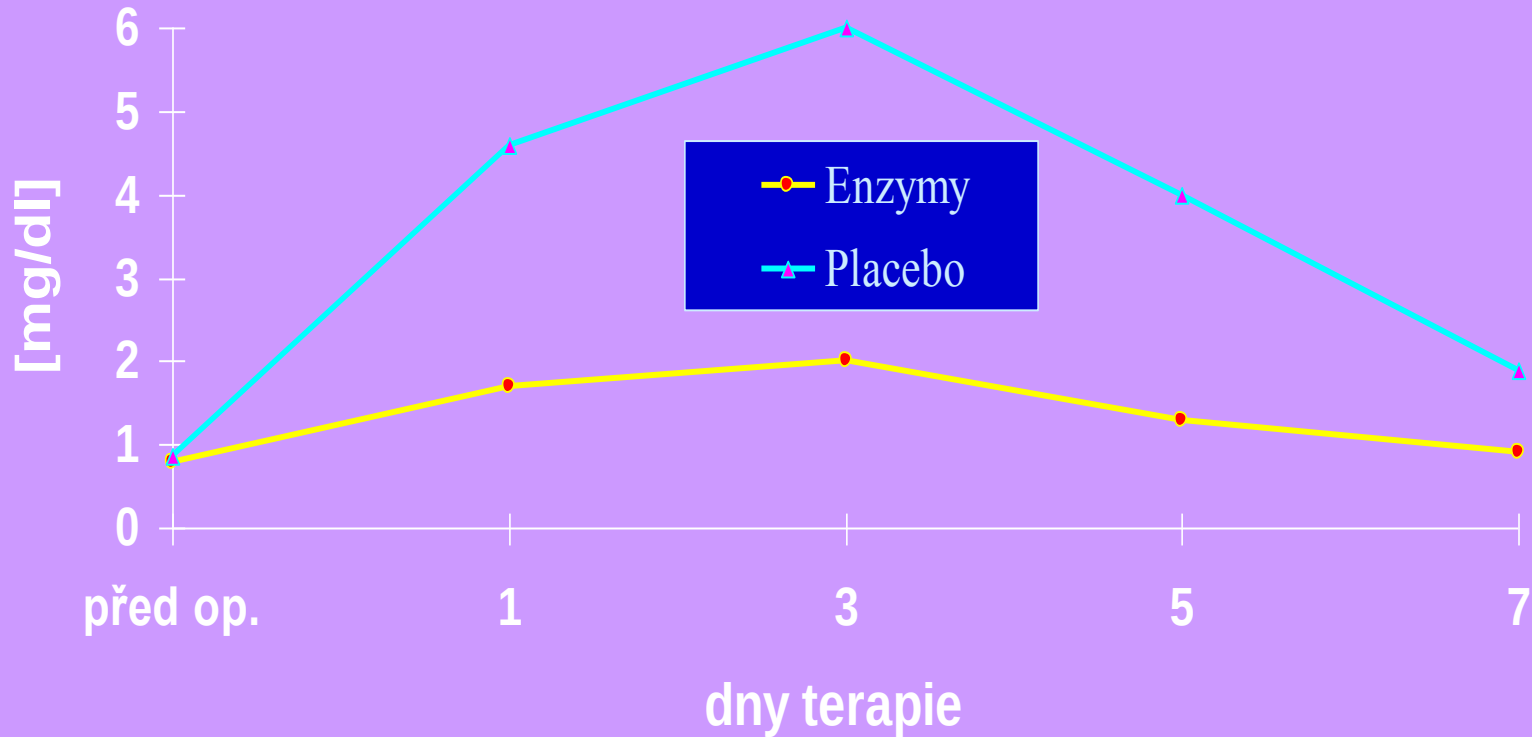
80 pacientů indikovaných k extrakci retinovaných zubů moudrosti z dolní čelisti bylo zařazeno do randomizované dvojité zaslepené klinické studie. Byly sledovány subjektivní obtíže (potíže při polykání, bolestivost a zvětšení lymfatických uzlin), průběh hojení rány, vzdálenost hrany řezáků a odchylka střední linie při maximálním otevření úst, tloušťka mukoperiostálního laloku, laboratorní markery zánětu - CRP, FW, alfa1-antitrypsin.

Přípravek s obsahem proteolytických enzymů včetně trypsinu a bromelainu užívali 2 dny před a 7 dnů po výkonu. Placebo - stejný režim.

Výsledky:

- **Rozdíly naměřených hodnot** mezi pacienty užívajícími verum a placebo skupinou byly **statisticky významné ve prospěch enzymové skupiny.**
- **Hodnoty CRP, FW a alfa1antitrypsinu** vykazovaly v enzymové skupině **menší vzestup** (nižší úroveň systémové zánětlivé reakce) a **rychlejší normalizaci.**
- **Rychleji probíhalo hojení rány** a vyskytlo se **méně komplikací.**

C-reaktivní protein

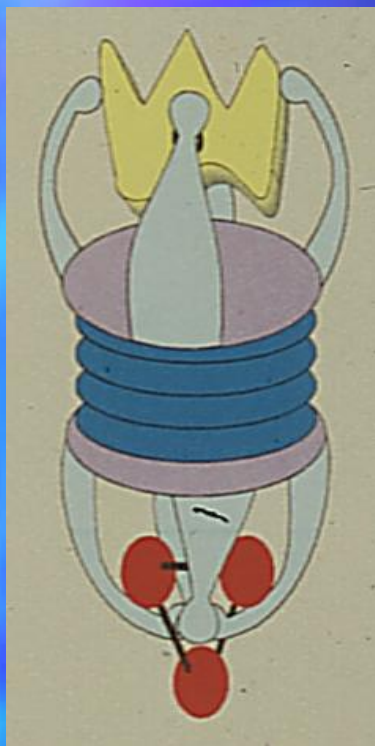


80 pacientů s extrakcí „zubu moudrosti“ dostávalo
2 dny před operací a 7 dní po operaci
směs proteolytických enzymů p.o. nebo placebo
Vinzenz (1991)

Ovlivnění imunokompetence vlastních tkání (imunomodulace)

- stimulace a regulace aktivity složek buněk specifické i nespecifické imunity
makrofágy, granulocyty, NK buňky, T lymfocyty
- regulace produkce a degradace cytokinů
TNF α , TGF β , INF, IL
- regulace exprese adhezních molekul
CD4, CD44, CD54, CD80, CD 106
- vliv na clearance patogenních imunokomplexů

1. Barsom S *et al.* Zur Behandlung von Zystitiden und Zystopyelitiden mit hydrolytischen Enzymen. *Erfahrungsheilkunde*. 1983;32(3):125-129.
2. Ernst E. Oral therapy with proteolytic enzymes: Effects on hemorheological parameters. *Perfusion* 1994;12:440-1.
3. Förstl M *et al.* Zkušenosti s enzymoterapií v rámci komplexní léčby urogenitálních infekcí *Chlamydia trachomatis*. *Urologie pro praxi*. 2006;5:243-245.
4. Guggenbichler JP. Einfluß hydrolytischer Enzyme auf Thrombusbildung und Thrombolyse. *Med.Welt.-1988.-Vol.39.-P. 277-280.*
5. Jezdinský J. Systémová enzymoterapie. In: Lincová D, Farghali H, eds. *Základní a aplikovaná farmakologie*, 2. vydání, Praha: Galén, 2007; 606-611.
6. Kameníček V *et al.* Systémová enzymoterapie v léčbě a profylaxi potraumatických a pooperačních otoků. *Acta Chir. Ortoped. et Traum. Čech*. 2001;1:45-49.
7. Klein G *et al.* Efficacy and tolerance of an oral enzyme combination in painful osteoarthritis of the hip. A double-blind, randomised study comparing oral enzymes with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2006; 24: 25-30
8. Lukáš J *et al.* Phlogenzym, systémová enzymoterapie u septoplastik. *Choroby hlavy a krku (Head and Neck Diseases)* 2000;1:7-9.
9. Luerti M *et al.* Influence of bromelain on penetration of antibiotics in uterus, salpinx and ovary. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 1978;4(1):45-48
10. Navrátilová B *et al.* Současné možnosti využití systémové enzymoterapie ve stomatologii (předběžná studie), Miniinvazivní terapie 1998;3:106-109
11. Németh T. Zkušenosti s podáváním Phlogenzymu ve stomatochirurgii. Systémová enzymoterapie v praxi. Praha 24. – 25. 5. 2002, Praha
12. Vinzenz K. Ödembehandlung bei zahnchirurgischen Eingriffen mit hydrolytischen Enzymen. *Chirurgische Zahnheilkunde* 1991;7: 1053–1064
13. Wood GR *et al.* Sequential effects of an oral enzyme combination with rutosid in different in vitro and in vivo models of inflammation. *Int J Immunother* 1997; 13: 139-145



Dvojitý efekt proteáz
při onemocnění
parodontu



Ovlivnění mikrobiálního agens

- Snížení bakteriální adhezivity
- Vliv na mikrobiální plak/biofilm
- Zvýšení účinnosti antibiotik
- Zvýšení účinnosti lokálně aplikovaných antiseptik/desinficiencí

Bakteriální adhezivita

*Změny bakteriální adhezivity v zubním plaku pomocí proteináz v experimentu in vitro.
VÚS 2004*

- Standardní metodikou, používanou v laboratoři pro ústní mikrobiologii VÚS, byly sledovány změny růstu bakteriální kultury za přítomnosti proteináz – trypsinu, resp. bromelainu a jejich směsi. Bromelain v koncentraci 0,1-0,2 % inhibuje nástěnný růst bakteriální kultury v průběhu 2. – 5. hodiny, resp. v intervalu 3.-6. hodiny inkubace.
- Aplikace bromelainu, eventuálně v kombinaci s tryptsinem, může najít klinické uplatnění při kontrole bakteriálního infektu v případech, kdy adherence na cílové tkáňové povrchy a schopnost nástěnného růstu jsou hlavními znaky patogenity daného mikrobiálního druhu.

Mikrobiální plak

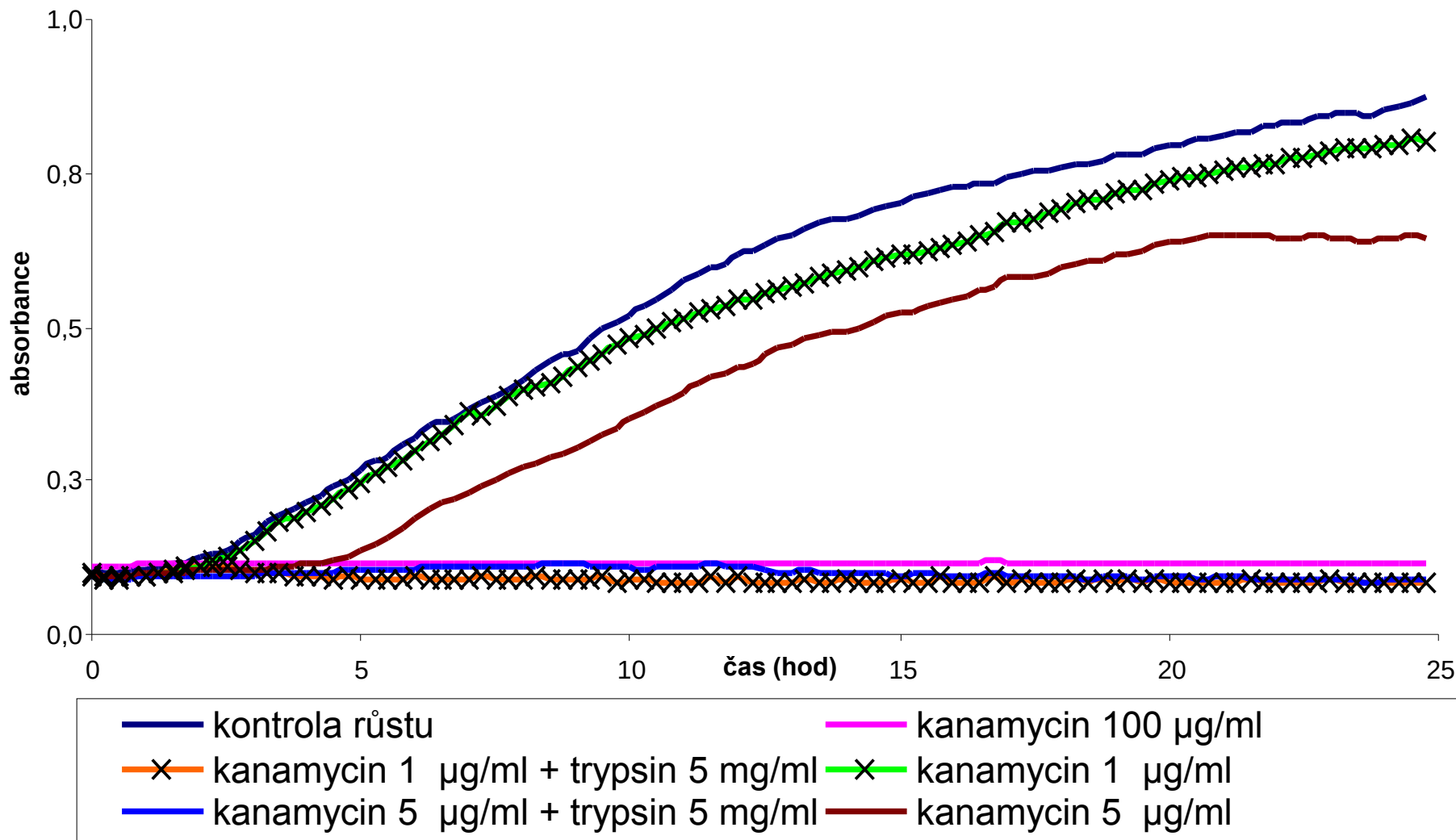
*(Impact of Exogenic Proteolytic Enzymes on Bacteria:
Tets V.V. et al. Antibiotika a chemoterapie, 2004)*

- Byl studován vliv papainu, trypsinu a enzymové směsi na tvorbu biofilmů grampozitivními a gramnegativními bakteriemi.
- Bylo prokázáno, že enzymy inhibují tvorbu biofilmů. Když jsou aplikovány k formovaným biofilmům, enzymy potencují efekt antibiotik na bakterie.
- Zvýšený antimikrobiální efekt různých nepříbuzných antibiotik nebyl spojen se změnou citlivosti bakterií, ale byl pravděpodobně výsledkem vyšší biodostupnosti antibiotik v přítomnosti enzymů.

Zvýšení účinnosti antibiotik

Synergismus trypsinu a kanamycinu na bakterii *E. coli*
měřený pomocí přístroje Bioscreen C

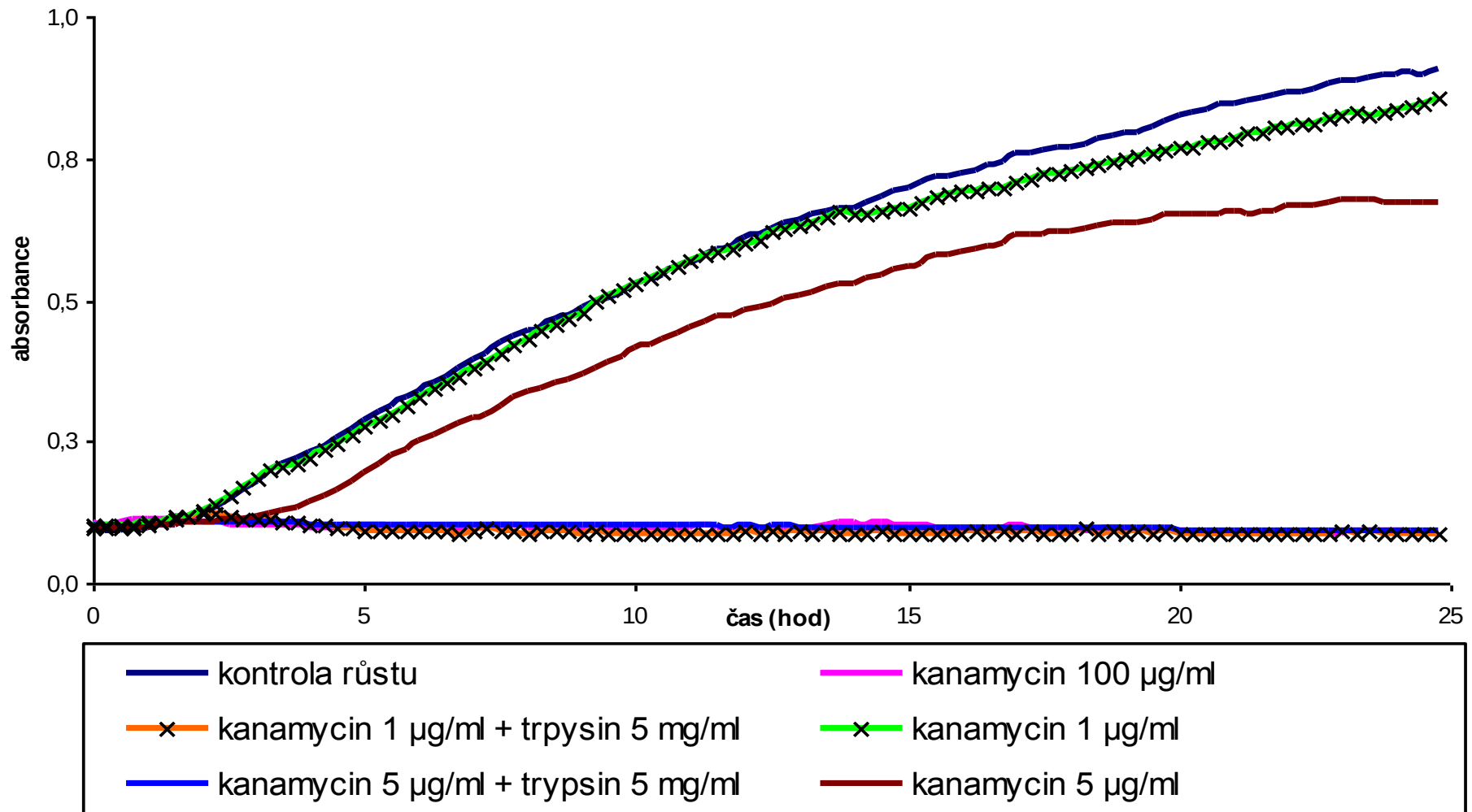
Escherichia coli



Zvýšení účinnosti antibiotik

Synergismus trypsinu a kanamycinu na bakterii *P. aeruginosa*
měřený pomocí přístroje Bioscreen C

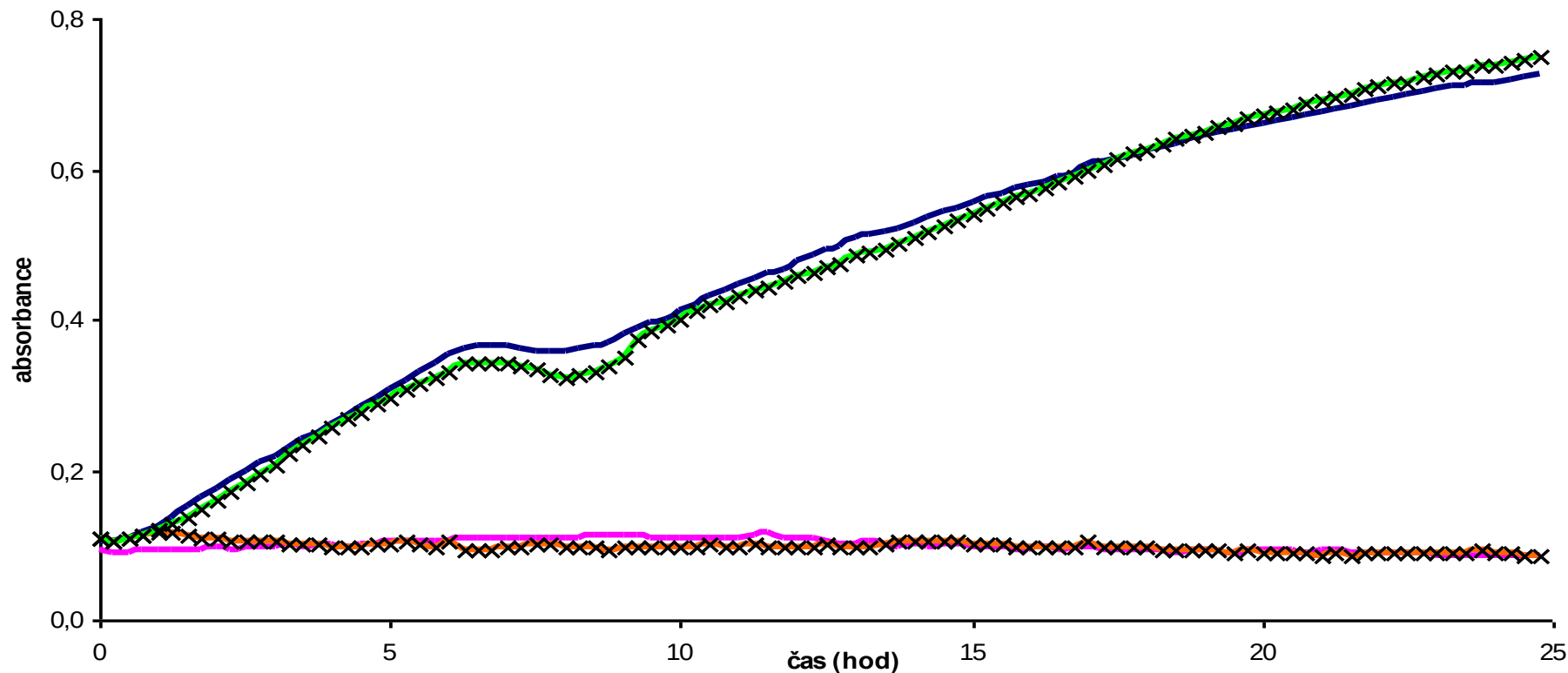
Pseudomonas aeruginosa



Zvýšení účinnosti antibiotik

Syntergismus trypsinu a vancomycinu na bakterii *S. aureus*
měřený pomocí přístroje Bioscreen C

Staphylococcus aureus



— kontrola růstu

— vancomycin 100 µg/ml

— x vancomycin 0,5 µg/ml + trypsin 5 mg/ml

— x vancomycin 0,5 µg/ml

Klinické sledování

Zkušenosti s podáváním enzymových přípravků ve stomatochirurgii

Németh T. Systémová enzymoterapie v praxi. Praha 24. – 25. 5. 2002, Praha

Popis studie:

Aplikace enzymového přípravku *p.o.* (bromelain, trypsin, rutin) u 127 pacientů, kterým byly provedeny obtížné extrakce zubů, chirurgické extrakce a resekce kořenových hrotů. Pacienti dostávali enzymový přípravek *p.o.* po dobu 6–7dní.

Výsledky:

- Pacienti léčení enzymovým přípravkem se **hojili rychleji a bez komplikací**,
- měli mnohem **menší spotřebu analgetik**,
- **otoky byly menší a rychleji ustupovaly**,
- **polykací potíže byly méně časté a mírnější** než u kontrolní skupiny.
- Po aplikaci implantátů mohli tyto pacienti **nosit zubní náhrady již druhý den po výkonu**.

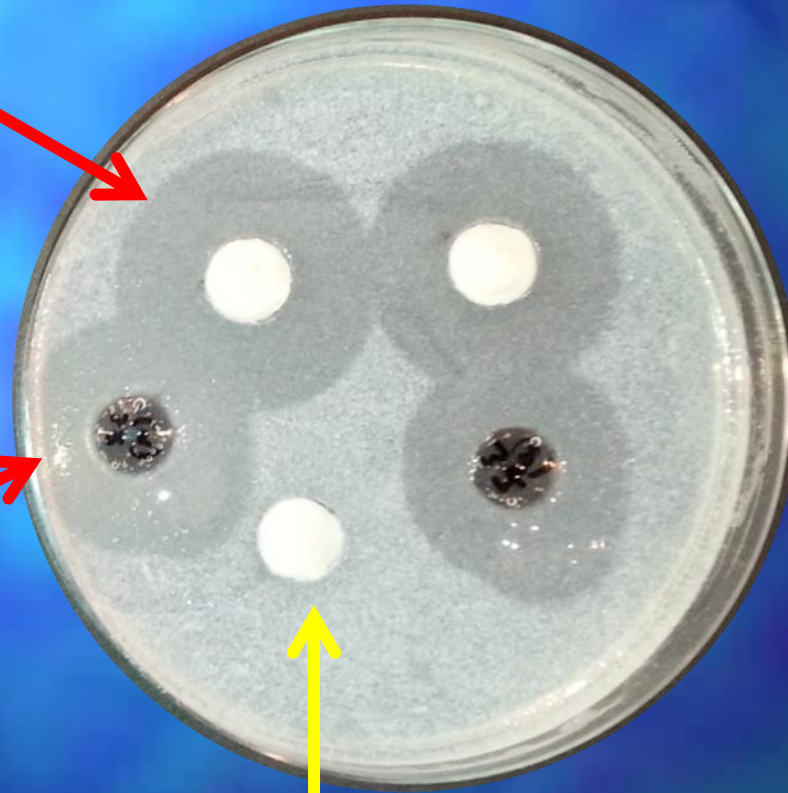
Proteolýza – účinnost

(PE = proteolytické enzymy)

Zubní pasta
s PE

Gel s PE

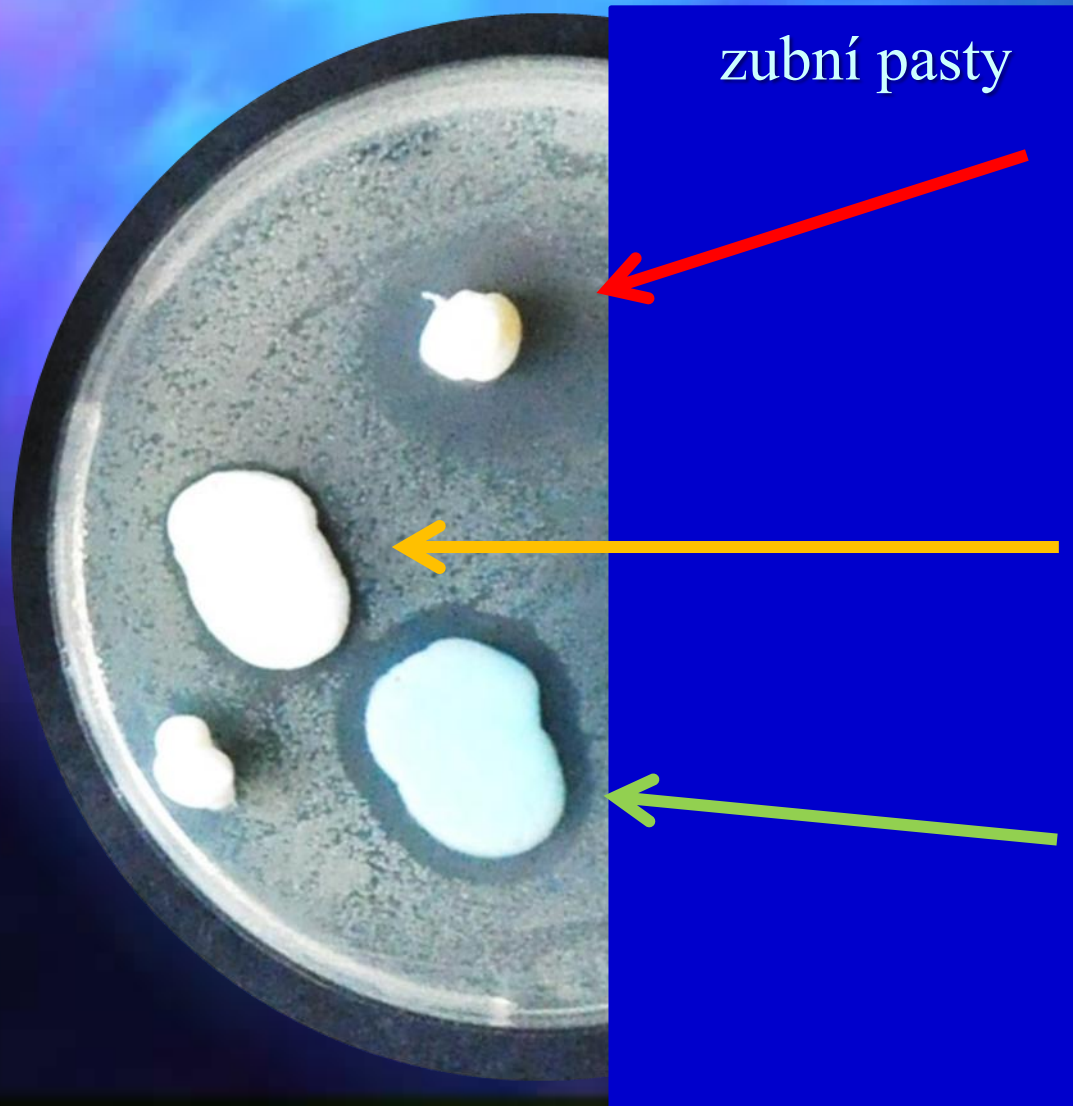
Zubní pasta
bez PE



Antiseptika + PE

(E.coli)

(PE = proteolytické enzymy)



zubní pasty

PE + chlorhexidin
0,035%

Chlorhexidin 0,06%

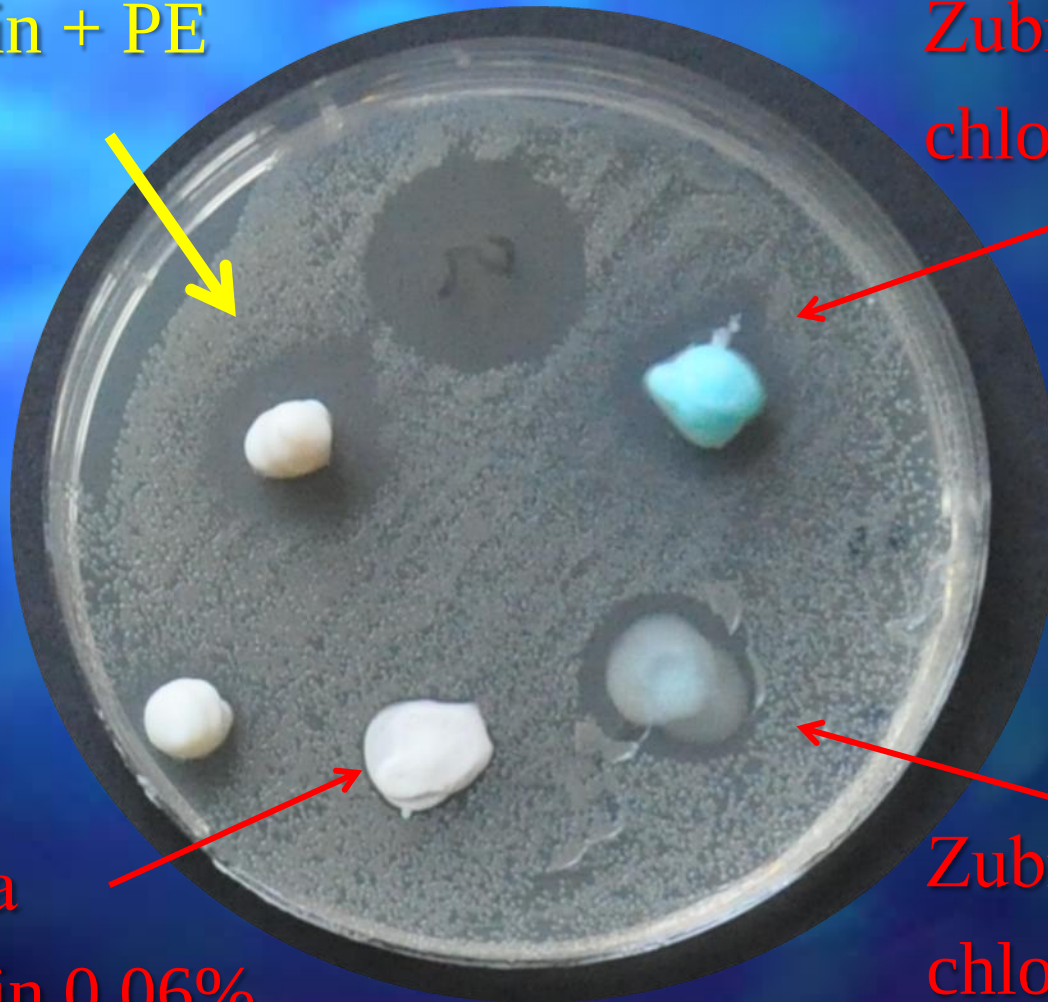
Chlorhexidin 0,12%

Jak fungují proteolytické enzymy s chlorhexidinem? (E.Coli)

Zubní pasta (PE = proteolytické enzymy)

Chlorhexidin + PE
0,035%

Zubní pasta
chlorhexidin 0,12%



Zubní pasta
chlorhexidin 0,06%

Zubní pasta
chlorhexidin 0,12%

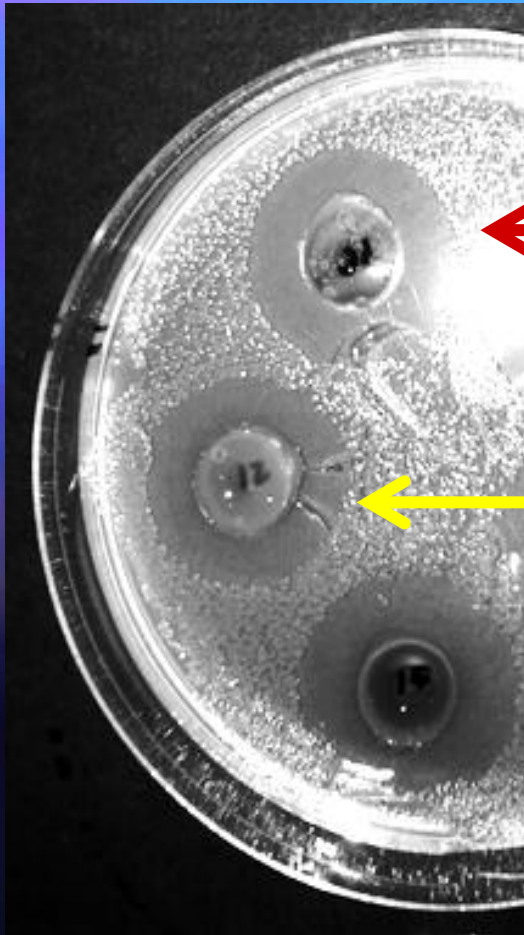
Jak fungují proteolytické enzymy s chlorhexidinem? (E.Coli)

(PE = proteolytické enzymy)

Ústní gel
chlorhexidin + PE
0,035%

Ústní gel s chlorhexidinem
0,15%

Ústní gel s chlorhexidinem
0,5%



Podmínky kladené na produkty pro ústní hygienu a péči o dásně obsahující proteolytické enzymy (PE)

Enzymy musí být v produktech určených pro
ústní hygienu chráněny před aktivací např.

- pH 5,5
- snížená aktivita vody
- nižší obsah vápníku

Podmínky kladené na produkty pro ústní hygienu a péči o dásně obsahující proteolytické enzymy (PE)

Po aplikaci do dutiny ústní jsou aktivovány

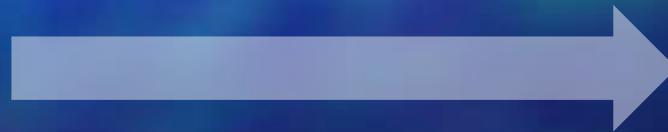
- pH 7 (optimální pro aktivitu PE)
- vodné prostředí (sliny)
- vysoký obsah vápníku

Kdy efektivně užívat přípravky s proteolytickými enzymy?

- **záněty v oblasti dutiny ústní** - akutní, chronické nebo recidivující (gingivitidy, parodontitidy, mukozitidy – včetně poradiačních)
- **stomatitidy** (aftózní), **abscesy** a jiné
- **pooperační stavy** (např. po extrakcích zubů, resekcích kořenových hrotů, po nasazení zubních implantátů a další)
- **pouřazové stavy**
- **zánětlivé komplikace**
- stavy spojené s **otokem v dutině ústní**

Možné využití proteáz ve stomatologii

- urychlení ústupu otoku a zánětu
- omezení bakteriální adheze a tvorby plaku
- zvýšení účinnosti ATB terapie a antiseptik
- zkrácení doby hojení
- omezení bolestivosti a krvácivosti
- bělení



zvýšení
efektivity
léčby
a komfortu
pacienta

Jsou ale
i jiná řešení....

