

**THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC VALUE OF MOLECULAR BIOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS I-III SEVERITY AND DENTITION DEFECTS**  
Zaporizhzhia State Medical University (Zaporizhzhia, Ukraine)

romanjuk.v@ukr.net

*Periodontal and peri-implant connective tissue consists mainly of type I collagen. The results of previous studies confirm the concept of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8), also known as neutrophilic collagenase or collagenase-2, as a key biomarker responsible for connective tissue destruction or active degeneration of periodontal and peri-implant tissues. The study aimed to evaluate the markers dynamics of bone metabolism in the patients' oral fluid with chronic generalized periodontitis of varying severity. The research was conducted based on the Medical Educational and Scientific Center "University Clinic" ZSMU. Eighty patients aged 18 to 65 years were examined. Among them, 20 healthy patients were in the control group, and 60 were in the main with periodontal disease and dentition defects. In patients with stage I-III chronic periodontitis, a statistically significant increase in the concentration of bone tissue markers MMP8 and soluble kappa nucleation factor activator (sRANKL) ligand was observed compared to the control group. It is important to note that the dynamics of their content correlated with the disease severity. Thus, in patients of group 1, the MMP8 and sRANKL concentration decreased by an average of 49% and 53%; 2 groups – by 78% and 64%, according to the control group. In patients of group 3, divergent content dynamics of the studied markers were recorded. Thus, the MMP8 concentration was 0.47 [0.1; 0.77] and correlated with the disease stage and changes in clinical parameters index PI, index PMA, and index OHI-S. At the same time, the sRANKL concentration was 0.28 [0.09 0.37], which is on average lower than in patients of groups 1 and 2. In patients of all clinical groups on the treatment background, there was a decrease in the MMP8 concentration on the background of increasing the sRANKL level. Thus, in combination with clinical and radiological research methods and other biochemical indicators involved in bone formation and resorption, MMP8 and sRANKL should be used to monitor changes in bone tissue in the patients' treatment with chronic periodontitis.*

**Key words:** chronic periodontitis, bone destruction, matrix metalloproteinase, sRANKL.

**Relationship of the publication with the planned research works.** The research was conducted within the research work of the Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry of Zaporizhzhia State Medical University on the topic: "Comprehensive prevention and treatment of major dental diseases in residents of the industrial region", state registration number O117U006958.

**Introduction.** Periodontitis and gingivitis are the most common forms of periodontal disease; these disorders are caused by the disruption of normal homeostatic processes by numerous bacteria types found in the subgingival dental deposits [1] and modified by environmental and genetic factors [1, 2]. Gingivitis is a superficial gums inflammation, and although gingivitis is prevalent, the disease is effectively reversed through oral hygiene regimens. Periodontitis is a significant destructive inflammatory disease of the anatomical structures surrounding and supporting the teeth, namely the gums, periodontal ligaments, and alveolar bone [2]. It leads to tissue damage, including loss of connective tissue attachments and destruction of the alveolar bone. Thus, periodontitis often leads to loose teeth, pain, and chewing disorders and is a common cause of tooth loss [2]. In addition, periodontitis requires lengthy and costly treatment, so prevention, early detection, and treatment of the disease are critical issues [3]. In addition, patients with periodontitis have significantly worse physical, psychological and social indicators of life quality associated with oral health than patients with healthy periodontitis [4].

Also, over the past 20 years, dental implants' popularity as a treatment method to replace missing teeth has increased significantly [5]. This development poses

a challenge to dentists because implant complications and failures have been shared, although in many cases, dental implant treatment has been successful with a high survival rate [6]. Perimplantitis, a pathological inflammatory condition around dental implants, is a significant risk factor for late complications in dental implant functioning [7, 8]. Previous studies have estimated that the peri-implantitis prevalence can reach 23% of the number of installed dental implants, while peri-implant mucositis, which is considered a precursor to peri-implantitis, can affect more than 40% of implants [9, 10].

The current peri-implant and periodontal disease diagnoses are based on clinical and radiological studies. All specialists have commonly used oral protection for decades, and they are easy and practical to interpret. However, clinicians can detect and measure peri-implant/periodontal disease only after clinical manifestations have occurred using traditional methods. Biomarkers have been carefully studied to overcome this limitation [11, 12, 13, 14]. Key biomarkers of peri-implant and periodontal tissue destruction, once detected, can alert the clinician to the onset of collagen breakdown long before clinical manifestations. Combined with traditional methods, they can increase the early detection accuracy of periodontal disease and peri-implant tissues, predict disease progression and monitor the treatment effects [14].

Periodontal and peri-implant connective tissue consists mainly of type I collagen. The results of previous studies confirm the concept of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8), also known as neutrophilic collagenase or collagenase-2, as a critical biomarker responsible for connective tissue destruction or active degeneration

of periodontal and peri-implant tissues [11, 12, 13, 15, 16]. MMP-8 is a major collagenolytic proteinase and is thought to be responsible for the irreversible destruction of periodontal and peri-implant tissues [14, 16, 17]. MMP-8 is responsible for the breakdown and processing of collagen and biologically active inflammation mediators in various inflammatory and malignant destructive tissue diseases and wound healing, immune response, and tissue remodeling [16, 17, 18]. It can destroy almost all protein structural components of connective tissues and basement membranes and treat some bioactive non-matrix mediators of inflammatory immunity.

An essential biological MMP-8 function in the periodontium is to facilitate the migration of leukocytes, especially neutrophilic granulocytes, from the bloodstream into the periodontal sulcus by breaking down collagen and other components of the extracellular matrix [19]. In addition, after the inflammation onset, different cell types (e.g., fibroblasts) may also express MMP-8 [20]. Increased expression, release, and activation of uncontrolled MMP-8, along with other MMPs and proteinases, are thought to induce inflammation associated with tissue destruction in periodontitis and other inflammatory diseases [21]. Activation of MMP-8 is facilitated by other MMPs and host proteases, as well as increased oxidative stress caused mainly by neutrophil-released myeloperoxidase (MPO). In addition, proteases of bacterial origin, such as *Porphyromonas gingivalis* (gingipain) and *Treponema denticola*, can also activate MMPs [22]. Currently, MMP-8 is considered one of the most promising biomarkers used for prognosis, diagnosis, prognosis, treatment, and classification of periodontal disease [23]. Several studies have reported significant increases in MMP-8 levels in patients with chronic periodontitis and diabetes-related periodontitis [24]. For example, an increase in MMP-8 levels in GCF has been reported due to periodontal pathogens such as *T. denticola* and *T. forsythia*, which is a cascade of host reactions induced by these organisms [25]. Effective treatment of periodontal disease and adjuvant drugs that inhibit MMP have been shown to have an inhibitory effect on the periodontal disease progression by reducing the MMP-8 level in saliva [25]. Several available collagenase inhibitors have been approved by the US Food and Drug Administration (USDA) and are analogs of tetracycline and doxycycline hyclate [26]. Thus, subantimicrobial doses of doxycycline (SDD) have been widely recognized as an essential adjunct therapy in periodontitis treatment, and several studies have already demonstrated its effectiveness.

**The study aimed** to evaluate the dynamics of bone metabolism markers in the oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis of varying severity.

**Object and methods of research.** The research was conducted based on the Medical Educational and Scientific Center "University Clinic" ZSMU. Eighty patients aged 18 to 65 years were examined. Among them, 20 healthy patients were in the control group, and 60 were in the main one with periodontal disease and dentition defects. Among them are 19 patients with grade I (1 group), 27 patients with grade II (group 2), and 14 patients with grade III (group 3) periodontitis and dentition defects. The study was conducted following the Helsinki Declaration of the World Medical Association "Ethical principles of medical research concerning

human subjects" (amended in October 2013). Written informed consent was obtained from all patients who participated in the study.

The diagnosis was based on data obtained from patient complaints, life history, history of the present disease, and data from objective examination (basic and additional methods).

The following clinical parameters were used to determine the disease stage and the pathological process severity: depth of periodontal pockets, the severity of periodontal lesions (index PI), gingivitis level (index PMA), and level of oral hygiene (index OHI-S).

For biochemical studies, the oral fluid collection was performed on an empty stomach in the morning by spitting into a sterile glass tube. Biological samples were centrifuged and stored at 300C, and the amount of sRANKL (Biomedica) – (Hycult Biotech, the Netherlands), MMP8 (Matrix Metalloproteinase-8) was determined in the experimental samples. Quantitative analysis was performed by enzyme-linked immunosorbent assay based on using a "sandwich" variant of solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay using the enzyme-linked immunosorbent complex ImmunoChem-2100 (USA). The analysis was performed in 96-well microplates, the well's bottom of which was coated with monoclonal antibodies to the corresponding molecular marker. Oral fluid samples were introduced into the appropriate microplate wells and incubated for the required time. After the washing steps, the reagents were removed from microplate wells, and additional washable reagents were added. The analysis was performed with the addition of a colorimetric reagent; the resulting signal was measured spectrophotometrically at 450 nm.

Statistically, the results were processed using Statistica 6.0 software package (StatStof Inc, USA package, A AXXR712D833214FAN5 licenses). The hypothesis about the distribution normality of research indicators was tested using the Shapiro-Wilk test. Multiple comparisons were used according to the one-factor variance analysis of Kruskal-Wallis (Kruskal-Wallis ANOVA), with pairwise comparison according to the Whitney-Mann U test to compare statistical characteristics in different groups [27].

**Research results and their discussion.** In patients with stage I-III chronic periodontitis, a statistically significant increase in the concentration of bone tissue markers MMP8 and soluble kappa nucleation factor activator (sRANKL) ligand was observed compared to the control group. It is important to note that the dynamics of their level correlated with the disease severity. Thus, in patients of group 1, the concentration of MMP8 and sRANKL decreased by an average of 49% and 53%; 2 groups – by 78% and 64%, according to the control group. In patients of group 3, divergent level dynamics of the studied markers were recorded. Thus, the MMP8 concentration was 0.47 [0.1; 0.77] and correlated with the disease stage and changes in clinical parameters index PI, index PMA, and index OHI-S. At the same time, the sRANKL concentration was 0.28 [0.09 0.37], which is on average lower than in patients of groups 1 and 2.

The identified changes indicate the active destruction of bone tissue against the background of the periodontium inflammatory reaction and systemic changes in bone metabolism. According to our study results, MMP-8 in oral fluid increased in direct proportion to peri-

odontitis severity. At the first degree of periodontitis severity, MMP-8 increased threefold compared with the control group (0.47 [0.1; 0.77]). At II and III degrees of severity, indicators increased 4 and 7 times, respectively. Increased MMP-8 levels in oral fluid indicate connective tissue destruction, which shows the inflammatory processes activity of the oral mucosa and therefore requires periodontal treatment (table 1). Analysis of the literature shows that an increase in MMP-8 in periodontitis is a component of a nonspecific response to bacterial infection. MMP-8 is a product of synthesis by fibroblasts and periodontal macrophages in periodontal inflammation of any nature, which indicates the autolytic nature of the degradation of the connective periodontium tissue matrix underlying periodontitis. The role of bacterial proteinases as collagen destroyers and other matrix components is considered signaling.

The sRANKL study recorded its gradual rise in patients with 1-2 periodontitis degrees, with a sharp decrease in the concentration of patients with three periodontitis degrees. Today, the complex between soluble sRANKL ligand, specific RANK receptors, and osteoprotegerin is a key part of bone metabolism, as it regulates osteoclast differentiation and activity and the osteolysis process. sRANKL ligands are produced by osteoblasts and then bind to RANK receptors on osteoclasts, accompanied by osteoclasts activation.

It is consistent with our previous study results in patients 1 and 2 groups there was a parallel increase in both MMP8 and sRANKL, which indicated a combined process of osteodestruction/osteosynthesis in these patients' categories. On the contrary, in patients of group 3, there was an increase in MMP8, with a parallel decrease in sRANKL, which, in our opinion, indicated the decompensation of the pathological condition, pronounced processes of bone destruction, and blocking osteosynthesis. Furthermore, studies by Chen X. and Wang Z. have shown that a significant concentration increase of matrix metalloproteinases, including MMP8, limits the binding of RANK and sRANKL, thereby inhibiting the mobilization, proliferation, and activation of osteoclasts.

The study was also based on a retrospective analysis of orthopantomography and computed tomography of the jaw bones in 60 patients examined with chronic generalized periodontitis of varying severity and dentition defects.

In 19 patients with mild degree chronic generalized periodontitis, the radiological picture was characterized by the cortical plate absence in the area of the interdental septa tops. Osteoporosis of interdental septa of varying severity was noted in almost all patients. In 13 patients (69.1%), a decrease in the height of the interdental septa was found by 1/4 of the root length. Expansion of the periodontal gap in the cervical region was noted in 14 people (76.2%). In the foci form of low bone density of various shapes and sizes with

**Table 1 – Clinical periodontal tissue assessment, indicators of molecular and biochemical markers of oral fluid depending on the periodontitis severity before treatment**

Indicator	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4 (control)
MMP-8, ng/ml	0,92 [0,77; 1,1]	1,87 [1,18; 2,5]	6,98 [4,77; 8,33]	0,47 [0,1; 0,77]
sRANKL, pmol/l	0,6 [0,45; 0,77]	0,78 [0,58; 0,95]	0,33 [0,29 0,45]	0,28 [0,09 0,37]
index PI	3,1 [0,9; 3,4]	3,4 [1,3; 3,6]	4,7 [1,7; 5,2]	0,3 [0,4; 0,65]
index PMA	53,7 [51,1;55,8]	66,5 [62,4; 68,9]	81,8 [79,3; 83,8]	8,39 [6; 10,5]
index OHI-S	1,1 [0,9; 1,4]	1,53 [1,3; 1,6]	1,9 [1,7; 2]	0,52 [0,4; 0,65]

blurred contours, osteoporosis was observed in 6 patients (26.2%).

A study of 27 patients with moderate CGP noted a decrease in the interdental septa height from 1/3 to 1/2 of the root length. At the same time, the osteoporosis phenomena were expressed: the increased bone transparency, the trabecular drawing being smeared, the strengthened large-loopiness of the affected area without clear borders passes to normal bone tissue. Osteoporosis of the interdental septa spread to the alveolar process was observed in 13 patients (46.6%). Reduction of the interdental septa height to 1/2 the tooth root length was observed in 15 patients (53.4%). Thinning of trabeculae was found in 11 patients (37.9%). Focal osteoporosis was noted in 9 patients (29.3%).

Radiological data of 14 patients with severe periodontitis were characterized by a decrease in alveolar process bone tissue by more than 1/2 the root length. In 7 cases (50.0%), teeth with resorption of the hole walls to the root top had resorption phenomena in the furcation area. Diffuse osteoporosis in combination with areas of protective osteosclerosis and spread to the jaw body was observed in 19 patients (63.3%). Atrophy of the alveolar process was detected in 14 cases (100%).

Studies have shown that in CGP patients with defects in the dentition, the physiological density topography of different jaw bone parts is disturbed.

An inverse relationship has been established between the degree of jaw bone density and the generalized periodontitis severity. With the increasing severity of CGP in patients with dentition defects, there is an uneven decrease in the jaw bone density (P<0,05).

Our direction of changes in biochemical markers and severity indices of periodontal tissue injury were confirmed in their study of patients after treatment (therapeutic treatment, surgical training, and orthopedic re-

**Table 2 – Clinical periodontal tissue assessment, indicators of molecular and biochemical markers of oral fluid depending on the periodontitis severity after treatment**

Indicator	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4 (control)
MMP-8, ng/ml	0,5 [0,44; 5,8] (-45,6%)*	0,84 [0,77; 1,1] (-55%)*	2,1 [1,6; 3,4] (-70%)*	0,47 [0,1; 0,77]
sRANKL, ng/ml	0,94 [0,68; 1,2] (+36,1%)*	1,2 [0,89; 1,5] (+35%)*	0,6 [0,45 0,73] (+45%)*	0,28 [0,09 0,37]
index PI	2,68 [2,57; 2,79] (-13,5%)	2,9 [2,83;2,97] (-14,7%)	3,68 [3,47;3,89] (-21,7%)	0,3 [0,4; 0,65]
index PMA	27,84 [26,26; 29,42] (-48,1%)	28,05 [25,71; 30,39] (-57,8%)	39,38 [36,47; 42,29] (-51,9%)	8,39 [6; 10,5]
index OHI-S	1,53 [1,49;1,57] (+29,1)	1,63 [1,59; 1,67] (+6,1%)	1,69 [1,06; 2,32] (-11,1%)	0,52 [0,4; 0,65]

Notes: \* – the percentage of the changes compared to the patients' indicators in the relevant group before treatment.

habilitation). Thus, as shown in **table 2**, for patients of all clinical groups in the background of therapy, there was a decrease in the MMP8 concentration in the background of increasing sRANKL level. Such changes, in our opinion, indicated a reduction in the osteodestruction processes intensity against the background of increased osteosynthesis, which to some extent testified to the effectiveness of generalized periodontitis treatment in patients 1-3 groups.

Firstly, our results are the basis for the pathogenetic pathways development of trigger treatment of generalized periodontitis, which aims to regulate the osteodestruction/osteosynthesis processes, namely the modulation of expression/synthesis of MMP8 sRANKL. Secondly, given installed by our changes in these markers' concentrations and their correlation with periodontal indices, MMP8 and sRANKL can be disguised as specific and informative markers of differential generalized periodontitis diagnosis, monitoring its effectiveness and treatment and prognosis.

**Conclusions.** Thus, studies have shown that MMP8 and sRANKL are the main markers of the destruction/osteoclastogenesis of bone tissue in chronic periodontitis. The intensity and nature of these processes depend on the pathological process severity. Based on the data obtained, the analysis of literature sources suggests that a significant increase in the MMP8 concentration against the background of an sRANKL decrease leads to a separation of molecular bone remodeling regulation processes. In combination with a complex of clinical and radiological research methods and other biochemical indicators involved in bone formation and resorption, MMP8 and sRANKL should be used to monitor changes in bone tissue in the treatment of patients with chronic periodontitis.

**Prospects for further research.** The disclosure of the regulatory MMP8 and sRANKL role in bone tissue osteoclastogenesis justifies the creation of highly effective chronic periodontitis pharmacological correction by agonist antagonists of these protein molecules.

### References

1. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*. 2010;8(7):481-490.
2. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*. 2005;366(9499):1809-1820.
3. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol* 2000. 2013;62(1):7-19.
4. Durham J, Fraser HM, McCracken GI, Stone KM, John MT, Preshaw PM. Impact of periodontitis on oral health-related quality of life. *Journal of Dentistry*. 2013;41(4):370-376.
5. Elani HW, Starr JR, Da Silva JD, Gallucci GO. Trends in dental implant use in the U.S., 1999-2016, and projections to 2026. *Journal of Dental Research*. 2018;97:1424-1430.
6. Pjetursson BE, Thoma D, Jung R, Zwahlen M, Zembic A. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. *Clinical Oral Implants Research*. 2012;23:22-38.
7. Manor Y, Oubaid S, Mardinger O, Chaushu G, Nissan J. Characteristics of early versus late implant failure: A retrospective study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2009;(67):2649-2652.
8. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018;45:246-266.
9. Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42:158-171.
10. Heitz-Mayfield L, Salvi GE. Peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018;45:237-245.
11. Alassy H, Parachuru P, Wolff L. Peri-implantitis diagnosis and prognosis using biomarkers in peri-implant crevicular fluid: A narrative review. *Diagnostics (Basel)*. 2019;9:214.
12. Arias-Bujanda N, Regueira-Iglesias A, Balsa-Castro C, Nibali L, Donos N, Tomás I. Accuracy of single molecular biomarkers in gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2019;46:1166-1182.
13. Carinci F, Romanos GE, Scapoli L. Molecular tools for preventing and improving diagnosis of peri-implant diseases. *Periodontology*. 2019;81:41-47.
14. Gul SS, Abdulkareem AA, Sha AM, Rawlinson A. Diagnostic Accuracy of oral fluids biomarker profile to determine the current and future status of periodontal and peri-implant diseases. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10:838.
15. Al-Majid A, Allassiri S, Rathnayake N, Tervahartala T, Gieselmann DR, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-8 as an inflammatory and prevention biomarker in periodontal and peri-implant diseases. *International Journal of Dentistry*. 2018;78:913-23.
16. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Laihio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of Medicine*. 2006;38:306-321.
17. Buduneli N. Biomarkers in Periodontal Health and Disease. Switzerland: Springer; 2020. 90 p.
18. Dejonckheere E, Vandenbroucke RE, Libert C. Matrix metalloproteinase8 has a central role in inflammatory disorders and cancer progression. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2011;22:73-81.
19. Luo W, Chen W, Lung WY, Wei XY, Cheng BH, Cai ZM, et al. EGCG Inhibited Bladder Cancer SW780 Cell Proliferation and Migration Both in Vitro and in Vivo via Down-Regulation of NF-KB and MMP-9. *J. Nutr. Biochem*. 2017;41:56-64. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.12.004.
20. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of Pathogen and Host-Response Markers Correlated with Periodontal Disease. *J. Periodontol*. 2009;80:436-446. DOI: 10.1902/jop.2009.080480.
21. Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. Matrix Metalloproteinases and Periodontal Diseases. *Oral Dis*. 2014;20:538-550. DOI: 10.1111/odi.12159.
22. Sorsa T, Allassiri S, Grigoriadis A, Räisänen IT, Pärnänen P, Nwhator SO, et al. Active MMP-8 (AMMP-8) as a Grading and Staging Biomarker in the Periodontitis Classification. *Diagnostics*. 2020;10:61. DOI: 10.3390/diagnostics10020061.
23. Charles K, Honibald E, Reddy N, Palani A, Ramamurthy R, Sankaralingam T. Role of Matrix Metalloproteinases (MMPS) in Periodontitis and Its Management. *Indian Acad. Dent. Spec. Res*. 2014;1:65-69.
24. Yakob M, Meurman JH, Sorsa T, Söder B. Treponema Denticola Associates with Increased Levels of MMP-8 and MMP-9 in Gingival Crevicular Fluid. *Oral Dis*. 2013;19:694-701. DOI: 10.1111/odi.12057.
25. Luizon MR, De Almeida Belo V. Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 Polymorphisms and Haplotypes as Disease Biomarkers. *Biomarkers*. 2012;17:286-288. DOI: 10.3109/1354750X.2012.657685.
26. Javed F, Ahmed HB, Mikami T, Almas K, Romanos GE, AlHezaimi K. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with chronic periodontitis. *J. Invest. Clin. Dent*. 2014;5(1):1-8. DOI: 10.1111/jicd.12066.

### ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ I-III СТУПЕНЮ ТЯЖКОСТІ ТА ДЕФЕКТАМИ ЗУБНИХ РЯДІВ

Романюк В. М.

**Резюме.** Сучасна діагностика периімплантатних та пародонтальних захворювань базується на клінічних та радіологічних дослідженнях, які протягом десятиліть зазвичай використовуються всіма фахівцями з охоро-

ни порожнини рота, і їх легко і практично інтерпретувати. Однак клініцисти можуть виявляти та вимірювати періімплантатні/пародонтальні захворювання лише після того, як клінічні прояви відбулися за допомогою традиційних методів. Ключові біомаркери деструкції періімплантатної та пародонтальної тканин, після їх виявлення, можуть попередити клініциста про початок розпаду колагену задовго до появи клінічних проявів.

Результати попередніх досліджень підтверджують концепцію матричної металопротеїнази-8 (ММР-8), також відомої як нейтрофільна колагеназа або колагеназа-2, як потенційного ключового біомаркера, відповідального за руйнування сполучної тканини або активну дегенерацію пародонту та періімплантатних тканин. ММР-8 є основною колагенолітичною протеїназою і розглядається як відповідальна за необоротне руйнування пародонтальних і періімплантатних тканин.

Мета дослідження – оцінити динаміку маркерів метаболізму кісткової тканини в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом різного ступеню тяжкості.

Дослідження проводились на базі ННМЦ «Університетська клініка» ЗДМУ. Обстежено 80 пацієнтів віком від 18 до 65 років. Серед них 20 здорових пацієнтів склали контрольну групу та 60 основну із захворюваннями тканин пародонту та дефектами зубних рядів.

У хворих на хронічний пародонтит I-III стадії було зафіксовано статистично значуще, порівняно з контрольною групою, збільшення концентрації маркерів деструкції кісткової тканини – ММР8 та ліганд розчинного активатора фактора нуклеації каппа В (sRANKL). Важливо відзначити, що динаміка їхнього змісту корелювала зі ступенем тяжкості перебігу захворювання. Так, у пацієнтів 1 групи концентрація ММР8 та sRANKL увалювалася в середньому на 49% та 53%; 2 групи – на 78% та 64% відповідно до показників контрольної групи. У пацієнтів 3 групи було зафіксовано різноспрямовану динаміку вмісту досліджуваних маркерів. Так, концентрація ММР8 становила 0,47 [0,1; 0,77] і корелювала зі стадією захворювання та змін клінічних параметрів index PI, index PMA, index OHI-S. Водночас концентрація sRANKL була 0,28 [0,09 0,37], що в середньому нижче, ніж у пацієнтів 1 та 2 групи.

У пацієнтів всіх клінічних груп на тлі лікування, відбувалось зниження концентрації ММР8 на тлі підвищення вмісту sRANKL. Подібні зміни, на нашу думку, свідчили про зменшення інтенсивності процесів остеодеструкції на тлі підсилення остеосинтезу, що деякою мірою свідчило про ефективність терапії генералізованого пародонтиту у хворих 1-3 групи.

У сукупності з комплексом клінічних та рентгенологічних методів досліджень та іншими біохімічними показниками, що беруть участь у процесах формування та резорбції кістки, показники ММР8 та sRANKL необхідно використовувати у моніторингу змін стану кісткової тканини при лікуванні пацієнтів на хронічний пародонтит. Розкриття регуляторної ролі ММР8 та sRANKL в остеокластогенезі кісткової тканини обґрунтовує створення високоефективних шляхів фармакологічної корекції хронічного пародонтиту аго-антогоністами значених білкових молекул.

**Ключові слова:** хронічний пародонтит, деструкція кісткової тканини, матрична металопротеїназа, sRANKL

### THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC VALUE OF MOLECULAR BIOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS I-III SEVERITY AND DENTITION DEFECTS

Romaniuk V. M.

**Abstract.** Modern diagnosis of periimplant and periodontal diseases is based on clinical and radiological studies, which for decades are commonly used by all specialists in oral protection, and they are easy and practical to interpret. However, clinicians can detect and measure periimplant / periodontal disease only after clinical manifestations have occurred using traditional methods. Key biomarkers of peri-implant and periodontal tissue destruction, once detected, can alert the clinician to the onset of collagen breakdown long before clinical manifestations.

Preliminary studies support the concept of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8), also known as neutrophil collagenase or collagenase-2, as a potential key biomarker responsible for connective tissue destruction or active degeneration of periodontal and peri-implant tissues. MMP-8 is a major collagenolytic proteinase and is thought to be responsible for the irreversible destruction of periodontal and periimplant tissues.

The aim of the study was to evaluate the dynamics of markers of bone metabolism in the oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis of varying severity.

The research was conducted on the basis of NNMC «University Clinic» ZSMU. 80 patients aged 18 to 65 years were examined. Among them, 20 healthy patients were the control group and 60 the main with periodontal disease and dentition defects.

In patients with stage I-III chronic periodontitis, a statistically significant increase in the concentration of bone tissue markers MMP8 and soluble kappa nucleation factor activator (sRANKL) ligand was observed compared to the control group. It is important to note that the dynamics of their content correlated with the severity of the disease. Thus, in patients of group 1, the concentration of MMP8 and sRANKL decreased by an average of 49% and 53%; 2 groups – by 78% and 64% according to the control group. In patients of group 3, divergent dynamics of the content of the studied markers was recorded. Thus, the concentration of MMP8 was 0.47 [0.1; 0.77] and correlated with the stage of the disease and changes in clinical parameters index PI, index PMA, index OHI-S. At the same time, the concentration of sRANKL was 0.28 [0.09 0.37], which is on average lower than in patients of groups 1 and 2.

In patients of all clinical groups on the background of treatment, there was a decrease in the concentration of MMP8 on the background of increasing the content of sRANKL. Such changes, in our opinion, indicated a decrease in the intensity of osteodestruction processes against the background of increased osteosynthesis, which to some extent testified to the effectiveness of treatment of generalized periodontitis in patients 1-3 groups.

In combination with a set of clinical and radiological research methods and other biochemical indicators involved in bone formation and resorption, MMP8 and sRANKL should be used to monitor changes in bone tissue in the treatment of patients with chronic periodontitis. The disclosure of the regulatory role of MMP8 and sRANKL in osteoclastogenesis of bone tissue justifies the creation of highly effective ways of pharmacological correction of chronic periodontitis by agonist antagonists of these protein molecules.

**Key words:** chronic periodontitis, bone destruction, matrix metalloproteinase, sRANKL.

## ORCID and contributionship:

Romaniuk V. M.: 0000-0002-1102-402X <sup>ABCDEF</sup>

## Corresponding author

Romaniuk Viktor Mykolayovych  
Zaporizhzhia State Medical University  
Ukraine, 69000, Zaporizhzhia, 26 Mayakovs'koho pr.  
Tel: +380996685494  
E-mail: romanjuk.v@ukr.net

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 29.11.2021

Accepted 04.05.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-231-241

УДК 616.314.17-008.1-031.81-06:616.314-001/-007]-07:577.112

Романюк В. М.

## ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ I-III СТУПЕНЮ ТЯЖКОСТІ ТА ДЕФЕКТАМИ ЗУБНИХ РЯДІВ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя, Україна)

romanjuk.v@ukr.net

*Пародонтальна та периімплантатна сполучна тканина складається переважно з колагену I типу. Результати попередніх досліджень підтверджують концепцію матричної металопротеїнази-8 (MMP-8), також відомої як нейтрофільна колагеназа або колагеназа-2, як потенційного ключового біомаркера, відповідального за руйнування сполучної тканини або активну дегенерацію пародонту та периімплантатних тканин. Метою дослідження було оцінити динаміку маркерів метаболізму кісткової тканини в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом різного ступеню тяжкості. Дослідження проводились на базі ННМЦ "Університетська клініка" ЗДМУ. Обстежено 80 пацієнтів віком від 18 до 65 років. Серед них 20 здорових пацієнтів склали контрольну групу та 60 – основну із захворюваннями тканин пародонту та дефектами зубних рядів. У хворих на хронічний пародонтит I-III стадії було зафіксовано статистично значуще, порівняно з контрольною групою, збільшення концентрації маркерів деструкції кісткової тканини – MMP8 та ліганд розчинного активатора фактора нуклеації каппа В (sRANKL). Важливо відзначити, що динаміка їхнього змісту корелювала зі ступенем тяжкості перебігу захворювання. Так, у пацієнтів 1 групи концентрація MMP8 та sRANKL увалювалася в середньому на 49% та 53%; 2 групи – на 78% та 64% відповідно до показників контрольної групи. У пацієнтів 3 групи було зафіксовано різноспрямовану динаміку вмісту досліджуваних маркерів. Так, концентрація MMP8 становила 0,47 [0,1; 0,77] і корелювала зі стадією захворювання та змін клінічних параметрів index PI, index PMA, index OHI-S. Водночас концентрація sRANKL була 0,28 [0,09 0,37], що в середньому нижче, ніж у пацієнтів 1 та 2 групи. У пацієнтів всіх клінічних груп на тлі лікування, відбувалось зниження концентрації MMP8 на тлі підвищення вмісту sRANKL. Таким чином, у сукупності з комплексом клінічних та рентгенологічних методів досліджень та іншими біохімічними показниками, що беруть участь у процесах формування та резорбції кістки, показники MMP8 та sRANKL необхідно використовувати у моніторингу змін стану кісткової тканини при лікуванні пацієнтів на хронічний пародонтит.*

**Ключові слова:** хронічний пародонтит, деструкція кісткової тканини, матриксна металопротеїназа, sRANKL.

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології Запорізького державного медичного університету на тему: «Комплексна профілактика та лікування основних стоматологічних захворювань у жителів промислового регіону».

номер державної реєстрації 0117U006958.

**Вступ.** Пародонтит і гінгівіт є найпоширенішими формами захворювань пародонту; ці розлади викликані порушенням нормальних гомеостатичних процесів численними видами бактерій, що знаходяться

в підясенних зубних відкладеннях [1], і модифіковані навколишніми та генетичними факторами [1, 2]. Гінгівіт – це поверхнєве запалення ясен, і, хоча гінгівіт дуже поширений, це захворювання ефективно зворотне за допомогою режимів гігієни порожнини рота. Пародонтит – це значне деструктивне запальне захворювання анатомічних структур, які оточують і підтримують зуби, а саме ясен, пародонтальної зв'язки та альвеолярної кістки [2]. Це призводить до пошкодження тканин, включаючи втрату прикріплень сполучної тканини та руйнування альвеолярної кістки. Отже, пародонтит часто призводить до розхитування зубів, болю та порушення жування і є частою причиною втрати зубів [2]. Крім того, пародонтит потребує тривалого та вартісного лікування, тому профілактика, раннє виявлення та лікування ступеня захворювання є критичними проблемами [3]. Крім того, пацієнти з пародонтитом мають значно гірші фізичні, психологічні та соціальні показники якості життя, пов'язані зі здоров'ям порожнини рота, порівняно із піцієнтами зі здоровим пародонтом [4].

Також за останні 20 років популярність зубних імплантатів як методу лікування для заміни відсутніх зубів значно зросла [5]. Такий розвиток подій створює виклик для стоматологів, тому що ускладнення та невдачі імплантації були частими, хоча в багатьох випадках лікування імплантацією зубів було успішним з високим рівнем виживання [6]. Перімплантит, патологічний запальний стан навколо зубних імплантатів, є основним фактором ризику пізніх ускладнень при функціонуванні зубних імплантатів [7, 8]. Попередні дослідження підрахували, що поширеність перімплантиту може досягати 23% від кількості встановлених зубних імплантатів, тоді як перімплантатний мукозит, який вважається попередником перімплантиту, може вражати понад 40% імплантатів [9, 10].

Сучасна діагностика перімплантатних та пародонтальних захворювань базується на клінічних та радіологічних дослідженнях, які протягом десятиліть зазвичай використовуються всіма фахівцями з охорони порожнини рота, і їх легко і практично інтерпретувати. Однак клініцисти можуть виявляти та вимірювати перімплантатні/пародонтальні захворювання лише після того, як клінічні прояви відбулися за допомогою традиційних методів. Щоб подолати це обмеження, біомаркери були ретельно вивчені [11, 12, 13, 14]. Ключові біомаркери деструкції перімплантатної та пародонтальної тканин, після їх виявлення, можуть попередити клініциста про початок розпаду колагену задовго до появи клінічних проявів. У поєднанні з традиційними методами вони можуть підвищити точність раннього виявлення захворювань пародонту та перімплантатних тканин, прогнозування прогресування захворювання та моніторинг ефектів лікування [14].

Пародонтальна та перімплантатна сполучна тканина складається переважно з колагену I типу. Результати попередніх досліджень підтверджують концепцію матриксної металопротеїнази-8 (MMP-8), також відомої як нейтрофільна колагеназа або колагеназа-2, як потенційного ключового біомаркера, відповідального за руйнування сполучної тканини або активну дегенерацію пародонту та перімплантатних тканин [11, 12, 13, 14, 15, 16]. MMP-8 є основною колагенолітичною протеїназою і розглядається

як відповідальна за необоротне руйнування пародонтальних і перімплантатних тканин [14, 16, 17]. MMP-8 відповідає за розпад і процесинг колагенів і біологічно активних медіаторів запалення не тільки при різних запальних і злоякісних деструктивних захворюваннях тканин, але також і за загоєння ран, імунну відповідь і ремоделювання тканин [16, 17, 18]. Вона може руйнувати майже всі білкові структурні компоненти сполучних тканин і базальних мембран, а також обробляти окремі біоактивні нематричні медіатори запального імунітету.

Важливою біологічною функцією MMP-8 в пародонті є полегшення міграції лейкоцитів, особливо нейтрофільних гранулоцитів, з кровообігу в пародонтальну борозну шляхом розщеплення колагену та інших компонентів позаклітинного матриксу [19]. Крім того, після початку запалення інші типи клітин (наприклад, фібробласти) також можуть експресувати MMP-8 [20]. Вважається, що підвищена експресія, вивільнення та активація неконтрольованого MMP-8 разом з іншими MMP та протеїназами індукуює запалення, пов'язане з руйнуванням тканин при пародонтиті, а також інших запальних захворюваннях [21]. Активації MMP-8 сприяють інші MMP і протеази хазяїна, а також підвищений окислювальний стрес, спричинений в основному мієлопероксидазою, що вивільняється нейтрофілами (MPO). Протеази бактеріального походження, такі як *Porphyromonas gingivalis* (гінгипаїн) і *Treponema denticola*, також можуть активувати MMP [22]. В даний час MMP-8 вважається одним з найбільш перспективних біомаркерів, які використовуються для прогнозування, діагностики, прогнозу лікування та класифікації захворювань пародонту [23]. У кількох дослідженнях повідомлялося про значне підвищення рівня MMP-8 у пацієнтів із хронічним пародонтитом та пародонтитом, пов'язаним із цукровим діабетом [24]. Наприклад, повідомлялося про підвищення рівня MMP-8 у GCF через наявність пародонтальних патогенів, таких як *T. denticola* та *T. forsythia*, що представляє собою каскад реакцій господаря, індукованих цими організмами [25]. Показано, що ефективне лікування пародонту та ад'ювантні препарати, що інгібують MMP, мають інгібуючий ефект у прогресуванні захворювання пародонту за рахунок зниження рівня MMP-8 у ГЦР та слині [25]. Кілька доступних інгібіторів колагенази були схвалені Управлінням за контролю за продуктами і ліками США (USDA) і є аналогами тетрацикліну та доксицикліну гіклату [26]. Таким чином, субантимікробні дози доксицикліну (SDD) були широко визнані як важлива допоміжна терапія при лікуванні пародонтиту, і кілька досліджень вже продемонстрували його ефективність.

**Мета дослідження** – оцінити динаміку маркерів метаболізму кісткової тканини в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом різного ступеню тяжкості.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проводились на базі ННМЦ «Університетська клініка» ЗДМУ. Обстежено 80 пацієнтів віком від 18 до 65 років. Серед них 20 здорових пацієнтів склали контрольну групу та 60 – основну із захворюваннями тканин пародонту та дефектами зубних рядів. Серед них 19 пацієнтів з I ступенем тяжкості (1 група), 27 пацієнтів з II ступенем тяжкості (2 група), 14 пацієнтів з III ступенем (3 група) тяжкості пародонтиту та дефек-

тами зубних рядів. Дослідження проводилося згідно з принципами Гельсінської декларації Світової медичної асоціації «Етичні засади медичних досліджень, що стосуються людських суб'єктів» (змінена в жовтні 2013 року). Письмова інформована згода була отримана від усіх хворих, які брали участь у дослідженні.

Постановка діагнозу ґрунтувалася на даних, отриманих від скарг пацієнта, анамнезу життя, анамнезу справжнього захворювання, а також даних об'єктивного обстеження (основних та додаткових методів).

Для визначення стадії захворювання та тяжкості патологічного процесу застосовувалися такі клінічні параметри: глибина пародонтальних кишень, тяжкість ураження пародонту (index PI), рівень запалення ясен (index PMA), рівень гігієни ротової порожнини (index OHI-S).

Для біохімічних досліджень забір ротової рідини проводили натще в ранковий час шляхом сплювання в стерильну скляну пробірку. Біологічні зразки центрифугували та зберігали при температурі 300C та у дослідних зразках визначали кількість sRANKL (Biomedica) – (Hycult Biotech, Нідерланди), MMP8 (Matrix Metalloproteinase-8). Кількісний аналіз здійснювали імуноферментним методом, заснованим на використанні «сендвіч»-варіанту твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням імуноферментного комплексу ImmunoChem-2100 (США). Аналіз проводився у 96-ямкових мікропланшетах, дно лунок яких було покрито моноклональними антитілами до відповідного молекулярного маркера. Зразки ротової рідини вносили у відповідні лунки мікропланшетів та інкубували протягом необхідного часу. Після етапів промивання реагенти видалялися з лунок мікропланшетів, а також вносилися додаткові реагенти, що вимивалися. Аналіз проводився з додаванням колориметричного реагенту, результативний сигнал вимірювався спектрофотометрично при 450 нм.

Статистично результати обробляли за допомогою пакет-програм Statistica 6,0 (пакет StatStof Inc, USA, № ліцензії AXXR712D833214FAN5). Гіпотезу щодо нормальності розподілу дослідницьких показників перевіряли з використанням критерію Шапіро-Вілка (Shapiro-Wilk test). Для порівняння статистичних характеристик у різних групах використовували множинне порівняння за однофакторним дисперсійним аналізом Крускала-Уолліса (Kruskal-Wallis ANOVA), з попарним зіставленням за критерієм Уїтні-Манна (Whitney-Mann U test) [27].

**Результати дослідження та їх обговорення.** У хворих на хронічний пародонтит I-III стадії було зафіксовано статистично значуще, порівняно з контрольною групою, збільшення концентрації маркерів деструкції кісткової тканини – MMP8 та ліганд розчинного активатора фактора нуклеації каппа В (sRANKL). Важливо відзначити, що динаміка їхнього змісту корелювала зі ступенем тяжкості перебігу захворювання. Так, у пацієнтів 1 групи концентрація MMP8 та sRANKL увалювалася в середньому на 49% та 53%; 2 групи – на 78% та 64% відповідно до показників контрольної групи. У пацієнтів 3 групи було зафіксовано різноспрямовану динаміку вмісту досліджуваних маркерів. Так, концентрація MMP8 становила 0,47 [0,1; 0,77] і корелювала зі стадією

захворювання та змін клінічних параметрів index PI, index PMA, index OHI-S. Водночас концентрація sRANKL була 0,28 [0,09 0,37], що в середньому нижче, ніж у пацієнтів 1 та 2 групи.

Виявлені зміни свідчать про активну деструкцію кісткової тканини на фоні запальної реакції пародонту та системними змінами метаболізму кісткової тканини. За результатами нашого дослідження MMP-8 у ротовій рідині підвищувався у прямій залежності від ступеня тяжкості пародонтиту. При I ступеня тяжкості пародонтиту показники MMP-8 збільшувалися втричі порівняно з контрольною групою (0,47 [0,1; 0,77]). Показники при II та III ступенях тяжкості збільшувалися у 4 та 7 разів відповідно. Підвищення рівня MMP-8 у рідині рота свідчить про деструкцію сполучної тканини, що вказує на активність запальних процесів слизової оболонки порожнини рота та відповідно потребує пародонтологічного лікування (**табл. 1**). Аналіз літературних даних показує, що підвищення рівня MMP -8 при пародонтиті є компонентом неспецифічної відповіді на бактеріальну інфекцію. MMP -8 є продуктом синтезу фібробластами, так і макрофагами пародонту, при виникненні запалення пародонту будь-якої природи, що вказує на аутопротеолітичну природу деградації сполучнотканинного матриксу пародонту, що лежить в основі пародонтиту. При цьому роль бактеріальних протеїназ як руйнівників колагену та інших компонентів матриксу розглядається як сигнальна.

При вивченні sRANKL був зафіксований його поступовий підйом у хворих 1-2 ступенем пародонтиту, з різким зниженням концентрації у пацієнтів 3 ступеня пародонтиту. На сьогодні встановлено, що комплекс між розчинним лігандом sRANKL, специфічними рецепторами RANK та остеопротегерином відноситься до ключової ланки метаболізму кісткової тканини, оскільки регулює диференціювання та активність остеокластів та процес остеолізу. Ліганди sRANKL продукуються остеобластами, потім зв'язуються з рецепторами RANK на остеокластах, що супроводжується активацією остеокластів.

Це узгоджується з результатами нашого попереднього дослідження, у пацієнтів 1, 2 групи спостерігалося паралельне підвищення як MMP8, так і sRANKL, що свідчило про поєднані процеси остеодеструкції/остеосинтезу у даної категорії хворих. У пацієнтів 3 групи, спостерігалося навпаки, підвищення MMP8, при паралельному зниженні sRANKL, що, на нашу думку, свідчило про декомпенсацію патологічного стану, виражені процеси деструкції кісткової тканини та блокування остеосинтезу. Дійсно, дослідженнями Chen X., Wang Z. було показано, що значне підвищення концентрації матриксних металопротеїназ, у тому числі MMP8, обмежує зв'язування RANK та sRANKL, тим самим пригнічуючи мобілізацію, проліферацію та активацію остеокластів.

В основу дослідження також покладено ретроспективний аналіз ортопантомографії і комп'ютерної томографії щелепних кісток при обстеженні 60 пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом різного ступеня тяжкості і дефектами зубних рядів.

У 19 пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом легкого ступеня рентгенологічна картина характеризувалася відсутністю кортикальної пластини



ки в області вершин міжзубних перегородок. Практично у всіх пацієнтів відзначали остеопороз міжальвеолярних перегородок різного ступеня вираженості. У 13 пацієнтів (69,1%) виявили зниження висоти міжзубних перегородок на 1/4 довжини кореня. Розширення періодонтальної щілини в пришийковій області відзначили у 14 осіб (76,2%). Остеопороз, у вигляді вогнищ зниженої щільності кісткової тканини різної форми і величини зі змазаними контурами спостерігали у 6 пацієнтів (26,2%).

При обстеженні 27 пацієнтів з ХГП середнього ступеня тяжкості відзначили зниження висоти міжальвеолярних перегородок від 1/3 до 1/2 довжини кореня. При цьому були виражені явища остеопорозу: підвищена прозорість кістки, трабекулярний малюнок змазаний, посилена крупнопетлистість, ураженої ділянки без різких меж переходить в нормальну кісткову тканину. Остеопороз міжзубних перегородок з поширенням на альвеолярний відросток спостерігали у 13 хворих (46,6%). Зниження висоти міжальвеолярних перегородок до 1/2 довжини кореня зуба зазначено у 15 пацієнтів (53,4%). Витончення трабекул виявили у 11 пацієнтів (37,9%). Вогнищевий остеопороз відзначений у 9 хворих (29,3%).

Рентгенологічні дані 14 пацієнтів з важким пародонтитом характеризувалися спадом кісткової тканини альвеолярного відростка більш ніж на 1/2 довжини кореня. У 7 випадках (50,0%) зазначили зуби з резорбцією стінок лунки до верхівки кореня, з явищами резорбції в області фуркації. Дифузний остеопороз в поєднанні з острівцями захисного остеосклероза і поширенням на тіло щелепи спостерігали у 19 пацієнтів (63,3%). Атрофію альвеолярного відростка виявили в 14 випадках (100%).

Проведеними дослідженнями встановлено, що у хворих ХГП з дефектами в зубних рядах порушується топографія фізіологічної щільності різних ділянок щелепних кісток.

Встановлено зворотний зв'язок між ступенем щільності щелепних кісток і тяжкістю генералізованого пародонтиту. Зі збільшенням ступеня тяжкості ХГП хворих з дефектами в зубних рядах відбувається нерівномірне зниження щільності щелепних кісток ( $P < 0,05$ ).

Встановлений нами напрямок змін щодо біохімічних маркерів, а також індексів тяжкості ураження тканин пародонту, підтвердився при їх дослідженні у пацієнтів після проведеного лікування (терапевтичне лікування, хірургічна підготовка та ортопедична реабілітація). Так, як видно з **таблиці 2**, у пацієнтів всіх клінічних груп на тлі лікування, відбувалось зниження концентрації MMP8 на тлі підвищення вмісту sRANKL. Подібні зміни, на нашу думку, свідчили про зменшення інтенсивності процесів остеодеструкції на тлі посилення остеосинтезу, що деякою мірою свідчило про ефективність терапії генералізованого пародонтиту у хворих 1-3 групи.

**Таблиця 1 – Клінічна оцінка стану тканини пародонту, показники молекулярно-біохімічних маркерів ротової рідини залежно від ступеня тяжкості пародонтиту до лікування**

Показник	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4 (контроль)
MMP-8, нг/мл	0,92 [0,77; 1,1]	1,87 [1,18; 2,5]	6,98 [4,77; 8,33]	0,47 [0,1; 0,77]
sRANKL, пмоль/л	0,6 [0,45; 0,77]	0,78 [0,58; 0,95]	0,33 [0,29 0,45]	0,28 [0,09 0,37]
index PI	3,1 [0,9; 3,4]	3,4 [1,3; 3,6]	4,7 [1,7; 5,2]	0,3 [0,4; 0,65]
index PMA	53,7 [51,1;55,8]	66,5 [62,4; 68,9]	81,8 [79,3; 83,8]	8,39 [6; 10,5]
index OHI-S	1,1 [0,9; 1,4]	1,53 [1,3; 1,6]	1,9 [1,7; 2]	0,52 [0,4; 0,65]

Отримані нами результати, по перше, є підґрунтям розробки патогенетичних шляхів тригерного лікування генералізованого пародонтиту, яке направлено регуляцію процесів остеодеструкції/остеосинтезу, а саме модуляції експресії/синтезу MMP8 та sRANKL. По-друге, враховуючи встановлені нами зміни концентрацій цих маркерів, та кореляцію їх з індексами ураження пародонту, MMP8 та sRANKL можна розглядати як специфічні та інформативні маркери диференціальної діагностики генералізованого пародонтиту, а також моніторингу його ефективності лікування та прогнозу.

**Висновки.** Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що MMP8 та sRANKL є основними маркерами деструкції/остеокластогенезу кісткової тканини при хронічному пародонтиті. Інтенсивність та характер цих процесів залежить від ступеня тяжкості патологічного процесу. На підставі отриманих даних, а також аналіз літературних джерел дозволяє висловити припущення, що значне підвищення концентрації MMP8 на фоні зниження sRANKL призводить до роз'єднання процесів молекулярної регуляції ремоделювання кісткової тканини. У сукупності з комплексом клінічних та рентгенологічних методів досліджень та іншими біохімічними показниками, що беруть участь у процесах формування та резорбції кістки, показники MMP8 та sRANKL необхідно використовувати у моніторингу змін стану кісткової тканини при лікуванні пацієнтів на хронічний пародонтит.

**Перспективи подальших досліджень.** Розкриття регуляторної ролі MMP8 та sRANKL в остеокластогенезі кісткової тканини обґрунтовує створення високоефективних шляхів фармакологічної корекції хронічного пародонтиту аго-антогоністами зазначених білкових молекул.

**Таблиця 2 – Клінічна оцінка стану тканини пародонту, показники молекулярно-біохімічних маркерів ротової рідини залежно від ступеня тяжкості пародонтиту після лікування**

Показник	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4 (контроль)
MMP-8, нг/мл	0,5 [0,44; 5,8] (-45,6%)*	0,84 [0,77; 1,1] (-55%)*	2,1 [1,6; 3,4] (-70%)*	0,47 [0,1; 0,77]
sRANKL, нг/мл	0,94 [0,68; 1,2] (+36,1%)*	1,2 [0,89; 1,5] (+35%)*	0,6 [0,45 0,73] (+45%)*	0,28 [0,09 0,37]
index PI	2,68 [2,57; 2,79] (-13,5%)	2,9 [2,83;2,97] (-14,7%)	3,68 [3,47;3,89] (-21,7%)	0,3 [0,4; 0,65]
index PMA	27,84 [26,26; 29,42] (-48,1%)	28,05 [25,71; 30,39] (-57,8%)	39,38 [36,47; 42,29] (-51,9%)	8,39 [6; 10,5]
index OHI-S	1,53 [1,49;1,57] (+29,1)	1,63 [1,59; 1,67] (+6,1%)	1,69 [1,06; 2,32] (-11,1%)	0,52 [0,4; 0,65]

**Примітки:** \* – відсоток змін у порівнянні зі значеннями пацієнтів відповідної групи до лікування.

## Література

1. Darveau RP. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*. 2010;8(7):481-490.
2. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*. 2005;366(9499):1809-1820.
3. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol* 2000. 2013;62(1):7-19.
4. Durham J, Fraser HM, McCracken GI, Stone KM, John MT, Preshaw PM. Impact of periodontitis on oral health-related quality of life. *Journal of Dentistry*. 2013;41(4):370-376.
5. Elani HW, Starr JR, Da Silva JD, Gallucci GO. Trends in dental implant use in the U.S., 1999-2016, and projections to 2026. *Journal of Dental Research*. 2018;97:1424-1430.
6. Pjetursson BE, Thoma D, Jung R, Zwahlen M, Zembic A. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. *Clinical Oral Implants Research*. 2012;23:22-38.
7. Manor Y, Oubaid S, Mardinger O, Chaushu G, Nissan J. Characteristics of early versus late implant failure: A retrospective study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2009;67:2649-2652.
8. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018;45:246-266.
9. Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42:158-171.
10. Heitz-Mayfield L, Salvi GE. Peri-implant mucositis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018;45:237-245.
11. Alassy H, Parachuru P, Wolff L. Peri-implantitis diagnosis and prognosis using biomarkers in peri-implant crevicular fluid: A narrative review. *Diagnostics (Basel)*. 2019;9:214.
12. Arias-Bujanda N, Regueira-Iglesias A, Balsa-Castro C, Nibali L, Donos N, Tomás I. Accuracy of single molecular biomarkers in gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2019;46:1166-1182.
13. Carinci F, Romanos GE, Scapoli L. Molecular tools for preventing and improving diagnosis of peri-implant diseases. *Periodontology*. 2019;81:41-47.
14. Gul SS, Abdulkareem AA, Sha AM, Rawlinson A. Diagnostic Accuracy of oral fluids biomarker profile to determine the current and future status of periodontal and peri-implant diseases. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10:838.
15. Al-Majid A, Alassiri S, Rathnayake N, Tervahartala T, Gieselmann DR, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-8 as an inflammatory and prevention biomarker in periodontal and peri-implant diseases. *International Journal of Dentistry*. 2018;78:913-23.
16. Sorsa T, Tjäderhane L, Kontinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, et al. Matrix metalloproteinases: Contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Annals of Medicine*. 2006;38:306-321.
17. Buduneli N. Biomarkers in Periodontal Health and Disease. Switzerland: Springer; 2020. 90 p.
18. Dejonckheere E, Vandenbroucke RE, Libert C. Matrix metalloproteinase8 has a central role in inflammatory disorders and cancer progression. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2011;22:73-81.
19. Luo W, Chen W, Lung WY, Wei XY, Cheng BH, Cai ZM, et al. EGCG Inhibited Bladder Cancer SW780 Cell Proliferation and Migration Both in Vitro and in Vivo via Down-Regulation of NF- $\kappa$ B and MMP-9. *J. Nutr. Biochem*. 2017;41:56-64. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.12.004.
20. Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, et al. Identification of Pathogen and Host-Response Markers Correlated with Periodontal Disease. *J. Periodontol*. 2009;80:436-446. DOI: 10.1902/jop.2009.080480.
21. Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. Matrix Metalloproteinases and Periodontal Diseases. *Oral Dis*. 2014;20:538-550. DOI: 10.1111/odi.12159.
22. Sorsa T, Alassiri S, Grigoriadis A, Räisänen IT, Pärnänen P, Nwhator SO, et al. Active MMP-8 (AMMP-8) as a Grading and Staging Biomarker in the Periodontitis Classification. *Diagnostics*. 2020;10:61. DOI: 10.3390/diagnostics10020061.
23. Charles K, Honibald E, Reddy N, Palani A, Ramamurthy R, Sankaralingam T. Role of Matrix Metalloproteinases (MMPS) in Periodontitis and Its Management. *MJ. Indian Acad. Dent. Spec. Res*. 2014;1:65-69.
24. Yakob M, Meurman JH, Sorsa T, Söder B. Treponema Denticola Associates with Increased Levels of MMP-8 and MMP-9 in Gingival Crevicular Fluid. *Oral Dis*. 2013;19:694-701. DOI: 10.1111/odi.12057.
25. Luizon MR, De Almeida Belo V. Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 Polymorphisms and Haplotypes as Disease Biomarkers. *Biomarkers*. 2012;17:286-288. DOI: 10.3109/1354750X.2012.657685.
26. Javed F, Ahmed HB, Mikami T, Almas K, Romanos GE, AlHezaimi K. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with chronic periodontitis. *J. Invest. Clin. Dent*. 2014;5(1):1-8. DOI: 10.1111/jicd.12066.

### ЛІКУВАЛЬНО-ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ I-III СТУПЕНЮ ТЯЖКОСТІ ТА ДЕФЕКТАМИ ЗУБНИХ РЯДІВ

Романюк В. М.

**Резюме.** Сучасна діагностика периімплантатних та пародонтальних захворювань базується на клінічних та радіологічних дослідженнях, які протягом десятиліть зазвичай використовуються всіма фахівцями з охорони порожнини рота, і їх легко і практично інтерпретувати. Однак клініцисти можуть виявляти та вимірювати периімплантатні/пародонтальні захворювання лише після того, як клінічні прояви відбулися за допомогою традиційних методів. Ключові біомаркери деструкції периімплантатної та пародонтальної тканин, після їх виявлення, можуть попередити клініциста про початок розпаду колагену задовго до появи клінічних проявів.

Результати попередніх досліджень підтверджують концепцію матриксної металопротеїнази-8 (MMP-8), також відомої як нейтрофільна колагеназа або колагеназа-2, як потенційного ключового біомаркера, відповідального за руйнування сполучної тканини або активну дегенерацію пародонту та периімплантатних тканин. MMP-8 є основною колагенолітичною протеїназою і розглядається як відповідальна за необоротне руйнування пародонтальних і периімплантатних тканин.

Мета дослідження – оцінити динаміку маркерів метаболізму кісткової тканини в ротовій рідині пацієнтів з хронічним генералізованим пародонтитом різного ступеню тяжкості.

Дослідження проводились на базі ННМЦ «Університетська клініка» ЗДМУ. Обстежено 80 пацієнтів віком від 18 до 65 років. Серед них 20 здорових пацієнтів склали контрольну групу та 60 основну із захворюваннями тканин пародонту та дефектами зубних рядів.

У хворих на хронічний пародонтит I-III стадії було зафіксовано статистично значуще, порівняно з контрольною групою, збільшення концентрації маркерів деструкції кісткової тканини – MMP8 та ліганд розчинного активатора фактора нуклеації каппа В (sRANKL). Важливо відзначити, що динаміка їхнього змісту корелювала зі ступенем тяжкості перебігу захворювання. Так, у пацієнтів 1 групи концентрація MMP8 та sRANKL увалювалася в середньому на 49% та 53%; 2 групи – на 78% та 64% відповідно до показників контрольної групи. У пацієнтів 3 групи було зафіксовано різноспрямовану динаміку вмісту досліджуваних маркерів. Так, концентрація MMP8

становила 0,47 [0,1; 0,77] і корелювала зі стадією захворювання та змін клінічних параметрів index PI, index PMA, index OHI-S. Водночас концентрація sRANKL була 0,28 [0,09 0,37], що в середньому нижче, ніж у пацієнтів 1 та 2 групи.

У пацієнтів всіх клінічних груп на тлі лікування, відбувалось зниження концентрації MMP8 на тлі підвищення вмісту sRANKL. Подібні зміни, на нашу думку, свідчили про зменшення інтенсивності процесів остеодеструкції на тлі підсилення остеосинтезу, що деякою мірою свідчило про ефективність терапії генералізованого пародонтиту у хворих 1-3 групи.

У сукупності з комплексом клінічних та рентгенологічних методів досліджень та іншими біохімічними показниками, що беруть участь у процесах формування та резорбції кістки, показники MMP8 та sRANKL необхідно використовувати у моніторингу змін стану кісткової тканини при лікуванні пацієнтів на хронічний пародонтит. Розкриття регуляторної ролі MMP8 та sRANKL в остеокластогенезі кісткової тканини обґрунтовує створення високоефективних шляхів фармакологічної корекції хронічного пародонтиту аго-антогоністами значених білкових молекул.

**Ключові слова:** хронічний пародонтит, деструкція кісткової тканини, матрична металопротеїназа, sRANKL

### THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC VALUE OF MOLECULAR BIOCHEMICAL MARKERS IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS I-III SEVERITY AND DENTITION DEFECTS

Romaniuk V. M.

**Abstract.** Modern diagnosis of periimplant and periodontal diseases is based on clinical and radiological studies, which for decades are commonly used by all specialists in oral protection, and they are easy and practical to interpret. However, clinicians can detect and measure periimplant / periodontal disease only after clinical manifestations have occurred using traditional methods. Key biomarkers of peri-implant and periodontal tissue destruction, once detected, can alert the clinician to the onset of collagen breakdown long before clinical manifestations.

Preliminary studies support the concept of matrix metalloproteinase-8 (MMP-8), also known as neutrophil collagenase or collagenase-2, as a potential key biomarker responsible for connective tissue destruction or active degeneration of periodontal and peri-implant tissues. MMP-8 is a major collagenolytic proteinase and is thought to be responsible for the irreversible destruction of periodontal and periimplant tissues.

The aim of the study was to evaluate the dynamics of markers of bone metabolism in the oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis of varying severity.

The research was conducted on the basis of NNMC «University Clinic» ZSMU. 80 patients aged 18 to 65 years were examined. Among them, 20 healthy patients were the control group and 60 the main with periodontal disease and dentition defects.

In patients with stage I-III chronic periodontitis, a statistically significant increase in the concentration of bone tissue markers MMP8 and soluble kappa nucleation factor activator (sRANKL) ligand was observed compared to the control group. It is important to note that the dynamics of their content correlated with the severity of the disease. Thus, in patients of group 1, the concentration of MMP8 and sRANKL decreased by an average of 49% and 53%; 2 groups – by 78% and 64% according to the control group. In patients of group 3, divergent dynamics of the content of the studied markers was recorded. Thus, the concentration of MMP8 was 0.47 [0.1; 0.77] and correlated with the stage of the disease and changes in clinical parameters index PI, index PMA, index OHI-S. At the same time, the concentration of sRANKL was 0.28 [0.09 0.37], which is on average lower than in patients of groups 1 and 2.

In patients of all clinical groups on the background of treatment, there was a decrease in the concentration of MMP8 on the background of increasing the content of sRANKL. Such changes, in our opinion, indicated a decrease in the intensity of osteodestruction processes against the background of increased osteosynthesis, which to some extent testified to the effectiveness of treatment of generalized periodontitis in patients 1-3 groups.

In combination with a set of clinical and radiological research methods and other biochemical indicators involved in bone formation and resorption, MMP8 and sRANKL should be used to monitor changes in bone tissue in the treatment of patients with chronic periodontitis. The disclosure of the regulatory role of MMP8 and sRANKL in osteoclastogenesis of bone tissue justifies the creation of highly effective ways of pharmacological correction of chronic periodontitis by agonist antagonists of these protein molecules.

**Key words:** chronic periodontitis, bone destruction, matrix metalloproteinase, sRANKL.

**ORCID автора та його внесок до статті:**

Romaniuk V. M.: 0000-0002-1102-402X <sup>ABCDEF</sup>

#### Адреса для кореспонденції

Романюк Віктор Миколайович

Запорізький державний медичний університет

Адреса: Україна, 69000, м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26

Тел.: +380996685494

E-mail: romanjuk.v@ukr.net

**А** – концепція роботи та дизайн, **В** – збір та аналіз даних, **С** – відповідальність за статичний аналіз, **Д** – написання статті, **Е** – критичний огляд, **Ф** – остаточне затвердження статті.

*Стаття надійшла 29.11.2021 року*  
Стаття прийнята до друку 04.05.2022 року