

В. А. ПРОХОДНАЯ¹, И. М. БЫКОВ², Е. Х. ЧИБИЧЯН¹, С. О. СУРМЕНЕВА¹, А. А. ОВСЯННИКОВА³

ДИНАМИКА МАРКЕРОВ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В ТЕЧЕНИЕ ГЕСТАЦИОННОГО ПЕРИОДА

¹ Кафедра стоматологии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29; тел.: +7988557444; e-mail: ms.victoria111@mail.ru

² Кафедра фундаментальной и клинической биохимии,

³ Кафедра пропедевтики и профилактики стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4

РЕЗЮМЕ

Цель. Проведение сравнительного анализа содержания маркеров костного метаболизма в ротовой жидкости у беременных женщин без стоматологической патологии и осложнений гестационного периода по сравнению со здоровыми донорами в динамике гестационного периода.

Материал и методы. Была обследована 31 беременная женщина (клиническая группа). Контрольную группу составили 32 небеременные женщины. В ротовой жидкости и сыворотке крови иммуноферментным методом определяли уровень активности щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание остеопротегерина (ОПГ) и рецепторов к лиганду ядерного фактора каппа-В (sRANKL).

Результаты. Индексная оценка гигиенического состояния полости рта, состояния пародонта подтвердила отсутствие воспалительных изменений и стоматологической патологии у пациенток клинической группы. У беременных женщин с физиологически протекающей беременностью ОПГ, ЩФ (маркеры ограничения остеорезорбции) накапливались к 3 триместру как системно, так и в биологических жидкостях полости рта.

Заключение. Содержание sRANKL в течение гестационного периода в ротовой жидкости не изменялось. Исследование содержания ОПГ и ЩФ в ротовой жидкости у беременных женщин является информативным, отражающим остеосинтетические процессы костного метаболизма в альвеолярных отростках челюстей.

Ключевые слова: беременность, остеопротегерин, щелочная фосфатаза, кровь, ротовая жидкость

Для цитирования: Проходная В. А., Быков И. М., Чибичян Е. Х., Сурменева С. О., Овсянникова А. А. Динамика маркеров костного метаболизма в ротовой жидкости у беременных женщин в течение гестационного периода. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;24(3):89-93. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-3-89-93

For citation: Prohodnaja V. A., Bykov I. M., Chibichjan E. H., Surmeneva S. O., Ovsyannikova A. A. Dynamics of markers of bone metabolism in the salibary liquid in pregnant women during the gestation period. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2017;24(3):89-93. (In Russian). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-3-89-93

V. A. PROHODNAJA¹, I. M. BYKOV², E. H. CHIBICHJAN¹, S. O. SURMENEVA¹, A. A. OVSYANNIKOVA³

DYNAMICS OF MARKERS OF BONE METABOLISM IN THE SALIBARY LIQUID IN PREGNANT WOMEN
DURING THE GESTATION PERIOD

¹ Department of Stomatology №1, Rostov State Medical University, Russia, 344022, Rostov-on-Don, str. Nakhichevan, 29; tel.: +7988557444; e-mail: ms.victoria111@mail.ru,

² Department of fundamental and clinical biochemistry,

³ Department of propedeutics and dental diseases prevention, Kuban State Medical University, Russia, 350063, Krasnodar, 4 Sedina st.

SUMMARY

Aim. Pperform a comparative analysis of the content of markers of bone metabolism in the oral fluid in pregnant women without dental pathology and complications of the gestational period in comparison with healthy donors in the dynamics of the gestational period.

Material and Methods. 31 pregnant women (clinical group) were examined. The control group consisted of 32 non-pregnant women. In the oral fluid and serum, the level of activity of alkaline phosphatase (AP), the content of osteoprotegerin (OPG) and receptors for the ligand of the nuclear factor kappa-B (sRANKL) was determined by an enzyme immunoassay.

Results. The index evaluation of the hygienic state of the oral cavity, periodontal conditions, confirmed the absence of inflammatory changes and dental pathology in patients of the clinical group. In pregnant women with a physiologically pregnant pregnancy, OPG, AP (markers of restriction of osteoresorption) accumulated to the third trimester both systemically and in biological fluids of the oral cavity.

Conclusion. The content of sRANKL during the gestational period in the oral fluid did not change. The study of the content of OPG and AP in the oral fluid in pregnant women is informative, reflecting the osteosynthetic processes of bone metabolism in the alveolar processes.

Keywords: pregnancy, osteoprotegerin, alkaline phosphatase, receptors for ligand of nuclear factor kappa-B, blood, oral fluid

Существует множество как терапевтических, так и ортопедических методов лечения заболеваний пародонта, но без учета физиологического состояния пациента [1]. Между тем, при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП) бактериальные биопленки в области десневой борозды и зубного налета ведут к воспалению десны и костной резорбции с формированием пародонтальных карманов [2]. Таким образом, патогенез заболевания связан с резорбцией кости, увеличением числа остеокластов и их активации после бактериального воспаления мягких тканей. Каскад воспалительных реакций приводит к сложному взаимодействию между эндотелиальными клетками, полиморфноядерными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами и остеокластами, что заканчивается остеолитическим процессом [2]. Известно, что бактерии через продукцию липополисахаридов стимулируют резорбцию кости через индукцию провоспалительных цитокинов, активацию рецепторов к лиганду ядерного фактора каппа-В (sRANKL, soluble receptor activator of nuclear factor), стимуляцию секреции фактора некроза опухоли- α [3]. При гормональных изменениях у женщин, связанных с беременностью, постменопаузой, течение ХГП зачастую имеет прогрессивный характер и отличается высокой интенсивностью деструкции костной ткани пародонта [4, 5, 6, 7], что требует изучения особенностей костного метаболизма в биологических средах полости рта при гормонально-обусловленных состояниях.

Процесс ремоделирования костной ткани требует синтеза костного матрикса остеобластами и одновременной его резорбции остеокластами, причем оба эти процесса протекают скоординировано. Остеопротегерин (ОПГ), также известный как остеокласт-ингибирующий фактор или остеокласт-связывающий фактор, является ключевым звеном ингибирования активации и дифференциации остеокластов и поэтому имеет большое значение в процессе резорбции костной ткани. Вырабатываясь остеокластами, ОПГ связывает RANK-лиганд (рецептор активации и дифференцировки остеокластов) и этим предотвращает активацию остеокластов, тормозя остеокластогенез [8].

Остеопротегерин представляет собой гликопротеин, относящийся к семейству рецепторов фактора некроза опухоли с весом 60-120 kDa. В

тканях ротовой полости ОПГ синтезируют фибробластные клетки волокон периодонта, десны, пульпы зуба, а также клетки эпителия слизистой оболочки [3, 5, 9]. Являясь «ловушкой» рецепторов, ОПГ ингибирует связывание рецептора активации остеокластов и лиганда рецептора активации остеокластов sRANKL, тем самым угнетая мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов, имеющую место при воспалении в тканях пародонта [10].

Целью работы явилось проведение сравнительного анализа содержания маркеров костного метаболизма в ротовой жидкости у беременных женщин без стоматологической патологии и осложнений гестационного периода по сравнению со здоровыми донорами в динамике гестационного периода.

Материал и методы

Были обследованы 31 беременная женщина (клиническая группа), наблюдающаяся на базе стоматологических кабинетов женских консультаций и стоматологических поликлиник г. Ростова-на-Дону. Беременность женщин протекала физиологически с отсутствием стоматологической патологии. Контрольную группу составили 32 небеременные женщины в возрасте от 18 до 30 лет. Средний возраст беременных женщин был $26,4 \pm 1,7$ лет и здоровых доноров клинической группы – $25,9 \pm 2,1$ лет.

Индексная оценка стоматологического статуса проводилась с помощью стоматологических индексов в первый, второй и третий триместры беременности. При этом были использованы индекс кариеса КПУ, индекс гигиены полости рта по Грин-Вермиллиону (ОHI-S), папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс РМА и пародонтальный индекс СРITN.

Сбор ротовой жидкости проводили натощак в утренние часы с 8 до 9 часов путём сплёвывания в стерильную стеклянную пробирку. Биомассу центрифугировали, хранили при температуре -30°C . Полученную слюну после однократного размораживания центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин и в супернатанте слюны определяли маркеры костного метаболизма.

В ротовой жидкости и сыворотке крови иммуноферментным методом определяли уровень активности щелочной фосфатазы (ЩФ), ОПГ и sRANKL.

Наборы: Alkphase-B, Metra biosystems, США; Osteoprotegerin, Biomedica, Австрия; sRANKL, Biomedica, Австрия соответственно. Определение изучаемых веществ у беременных проводили последовательно во все три триметра беременности (первый – 8-12 недель, второй – 13-27 недель, третий – 28-40 недель беременности) в ротовой жидкости и крови. В ходе ИФА использовались термощейкер ST3 (Латвия) и аппарат для промывания планшетов Elisa Washer Human (США), оценку полученных результатов проводили на фотометре Multilabel Counter 1420 Victor (Финляндия).

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы Statistica 10 (StatSoft). Результаты представлены в виде среднего значения и ошибки средней. Сравнение средних величин между группами проводили с использованием критерия Манна-Уитни, а в динамике гестационного процесса – с помощью критерия Вилкоксона. Критическая величина показателя достоверности p принималась за 0,05.

Результаты и обсуждение

Характеристики стоматологического статуса здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике гестационного периода отражены в таблице 1.

Индексная оценка гигиенического состояния полости рта, состояния пародонта подтвердила отсутствие воспалительных изменений и стоматологической патологии у пациенток клинической

группы. Гигиенический индекс и пародонтальные индексы здоровых доноров, а также пациенток клинической группы в динамике беременности имели низкие значения.

Содержание маркеров костного метаболизма в сыворотке крови здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике беременности представлено в таблице 2.

У пациенток клинической группы во 2 и 3 триместры беременности содержание ОПГ в сыворотке крови было выше ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми донорами соответственно на 39,4% и 48,6%. Во 2 и 3 триместрах концентрация изучаемого вещества в крови возрастала ($p < 0,05$) по сравнению с 1 триместром (на 25,5% и 34% соответственно), а также в 3 триместре по сравнению со 2 (на 7%, $p < 0,05$).

У пациенток клинической группы в 1 и 2 триместрах беременности по сравнению со здоровыми донорами содержание sRANKL не отличалось ($p > 0,05$) от аналогичного показателя здоровых доноров, только к 3 триместру изучаемый показатель достоверно снижался ($p < 0,05$) относительно уровня здоровых доноров. Поскольку этапное созревание остеокластов блокируется ОПГ за счет связывания sRANKL, то повышение в динамике гестационного периода ОПГ, снижение sRANKL, снижение соответствия sRANKL/OPG в крови свидетельствовали о системном угнетении мобилизации, пролиферации и активации остеокластов в динамике гестационного периода.

Таблица 1

Характеристики стоматологического статуса группы здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике беременности

Показатель	Клиническая группа (n=31)			Группа здоровых доноров (n=32)
	8-12 нед. (1 триместр)	13-27 нед. (2 триместр)	28-40 нед. (3 триместр)	
Индекс гигиены по ОНI-S	0,3±0,01	0,7±0,05	0,8±0,04	0,5±0,04
Индекс КПУ	1,7±0,3	1,7±0,3	1,8±0,2	1,1±0,2
РМА индекс	0	0,09±0,003	0,14±0,002	0
Индекс СРITN	0,4±0,03	0,6±0,01	0,5±0,02	0,2±0,01

Таблица 2

Содержание маркеров костного метаболизма в сыворотке крови здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике беременности

Показатель	Клиническая группа (n=31)			Группа здоровых доноров (n=32)
	Гестационный период			
	8-12 нед. (1 триместр)	13-27 нед. (2 триместр)	28-40 нед. (3 триместр)	
Остеопротегерин, пг/мл	102,3±2,3	128,4±2,7* ^o	136,9±2,5* ^{om}	92,1±1,9
sRANKL, пг/мл	74,2±3,1	70,5±2,6	67,4±2,3*	77,3±2,5
sRANKL/OPG	0,72±0,03	0,55±0,05* ^o	0,49±0,01* ^o	0,84±0,02
ЩФ, МЕ/л	77,6±1,9	80,3±2,5	104,3±2,7* ^{om}	84,1±2,4

Примечание: * – достоверные различия по сравнению со здоровыми донорами при $p < 0,05$, ^o – достоверные различия в контрольной группе по сравнению с 1 триместром при $p < 0,05$, ^m – достоверные различия в контрольной группе по сравнению со 2 триместром при $p < 0,05$.

Содержание маркеров костного метаболизма в ротовой жидкости у здоровых доноров и пациенток клинической группы в динамике беременности

Показатель	Клиническая группа (n=31)			Группа здоровых доноров (n=32)
	8-12 нед. (1 триместр)	13-27 нед. (2 триместр)	28-40 нед. (3 триместр)	
Остеопротегерин, пг/мл	91,3±2,7	101,5±3,0*	115,6±2,4*°	85,4±2,1
sRANKL, пг/мл	2,7±0,2	2,5±0,5	2,3±0,3	2,8±0,3
sRANKL/OPG	0,03±0,002	0,025±0,001	0,02±0,002	0,03±0,001
ЩФ, МЕ/л	24,1±1,0	26,5±1,3	36,9±2,3*°"	23,7±1,3

Примечание: * – достоверные различия по сравнению со здоровыми донорами при $p < 0,05$,

° – достоверные различия в контрольной группе по сравнению с 1 триместром при $p < 0,05$,

" – достоверные различия в контрольной группе по сравнению со 2 триместром при $p < 0,05$.

ЩФ концентрируется в костной ткани в остеобластах, гепатоцитах, клетках почечных канальцев, слизистой кишечника и плаценте и участвует в процессах, связанных с ростом костей. Повышение ЩФ в крови у пациенток клинической группы имело место в 3 триместре беременности и отражало активацию процессов остеобразования.

На следующем этапе у здоровых доноров и пациенток клинической группы содержание маркеров костного метаболизма определяли в ротовой жидкости (табл. 3).

У беременных женщин при физиологическом течении беременности в ротовой жидкости динамика ОПГ и ЩФ с повышением уровня веществ к 3 триместру повторяла таковую в сыворотке крови. Концентрация sRANKL в ротовой жидкости в течение беременности не изменялась.

Таким образом, у беременных женщин повышение ОПГ и ЩФ в сыворотке крови и ротовой жидкости, снижение лигандов рецепторов активатора фактора нуклеации каппа В в крови свидетельствовали об ограничении остеорезорбции в организме и на уровне альвеолярных отростков в частности, а также об активации процессов остеобразования. Повышение содержания в крови и биологических жидкостях полости рта остеопротегерина в 3 триместре беременности вело к блокированию стадии преобразования предшественников остеокластов в зрелый остеокласт путем связывания RANKL, предотвращая тем самым его связывание с RANK-рецептором. Ограничение активности остеодеструктивных факторов при беременности имело благоприятное значение, поскольку способствовало повышению прочности костей, альвеолярных отростков челюстей за счет улучшения микроархитектоники костной ткани.

Заключение

У беременных женщин с физиологически протекающей беременностью при отсутствии стоматологических заболеваний факторы, ограничивающие остеорезорбцию, накапливаются к 3 триместру как системно, так и в биологических

жидкостях полости рта.

Исследование содержания остеопротегерина и щелочной фосфатазы в ротовой жидкости у беременных женщин является информативным, отражающим остеосинтетические процессы костного метаболизма в альвеолярных отростках челюстей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скорикова Л. А. Ортопедическое лечение больных с заболеваниями пародонта / Л.А. Скорикова, Н.В. Лапина // *Современная ортопедическая стоматология*. – 2011. – № 15. – С. 71.
2. Гринин В. М. Исследование растворимого остеокластактивирующего фактора и остеопротегерина в смешанной слюне пациентов с пародонтитом / В.М. Гринин, Т.П. Вавилова, Г.С. Пашкова // *Российский стоматологический журнал*. – 2010. – № 2. – С. 11-14.
3. Hasegawa T. Expression of receptor activator of NF- κ B ligand and osteoprotegerin in culture of human periodontal ligament cells / T. Hasegawa, Y. Yoshimura, T. Kikuri // *J. Periodont. Res.* – 2002. – Vol.37. – P. 405-411.
4. Щербавская Э. А. Маркеры костного метаболизма при физиологически протекающей и осложненной гестозами беременности / Э.А. Щербавская, Б.И. Гельцер // *Тихоокеанский медицинский журнал*. – 2002. – № 3. – С. 54–56.
5. Mogi M. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patient with periodontitis / M. Mogi, J. Otogoto, N. Ota // *J. Dent. Res.* – 2004. – Vol. 83. – P. 166-169.
6. Schock H. Hormone concentrations throughout uncomplicated pregnancies: a longitudinal study / H. Schock, A. Zeleniuch-Jacquotte // *BMC Pregnancy and Childbirth*. – 2016. – №16. – P. 146-157.
7. Tenta R. Bone metabolism compensates for the delayed growth in small for gestational age neonates / R. Tenta, I. Bourgiezi, E. Aliferis // *Organogenesis*. – Vol.9(1). P. 55-59
8. Garnero P. New developments in biological markers of bone metabolism in osteoporosis // *Bone*. – 2014. – Vol. 66. – P. 46-55
9. Raisz L. G. Metabolic bone disease / L.G. Raisz, B.E. Kream, J.A. Lorenzo // *Williams Textbook of Endocrinology*. – 10th ed. Philadelphia, 2003. – P.1373–1383.
10. Шварц Г. Я. Остеотропные цитокины семейства TNF и создание нового поколения лекарственных средств для лечения остеопороза // *Цитокины и воспаление*. – 2004. – № 3. – С. 1–9.

REFERENCES

1. Skorikova L.A., Lapina N.V. Orthopedic treatment of patients with periodontal disease. *Sovremennaja ortopedicheskaja stomatologija* [Modern orthopedic dentistry], 2011, no. 15, p. 71. (in Russian)
 2. Grinin V.M., Vavilova T.P., Pashkova G.S. Study of soluble osteoclastactivating factor and osteoprotegerin in mixed saliva of patients with periodontitis. *Rossijskij stomatologicheskij zhurnal* [Russian Dental Journal], 2010, no.2, pp. 11-14. (in Russian)
 3. Hasegawa T., Yoshimura Y., Kikuri T. Expression of receptor activator of NF-kappa B ligand and osteoprotegerin in culture of human periodontal ligament cells. *J. Periodont. Res*, 2002, Vol.37, p. 405-411.
 4. Shherbavskaja Je.A., Gel'cer B.I. Markers of bone metabolism with physiologically occurring and complicated gestosis of pregnancy. *Tihookeanskij medicinskij zhurnal* [Pacific Medical Journal], 2002, no. 3, pp. 54-56. (in Russian)
 5. Mogi M., Otogoto J., Ota N. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patient with periodontitis. *J. Dent. Res*, 2004, Vol. 83, p. 166-169.
 6. Schock H., Zeleniuch-Jacquotte A. Hormone concentrations throughout uncomplicated pregnancies: a longitudinal study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2016, no.16, p. 146-157.
 7. Tenta R., Bourgiezi I., Aliferis E. Bone metabolism compensates for the delayed growth in small for gestational age neonates. *Organogenesis*, 2013, Vol.9(1), p. 55-59.
 8. Garnerio P. New developments in biological markers of bone metabolism in osteoporosis. *Bone*, 2014, Vol. 66, p. 46-55.
 9. Raisz L. G., Kream B.E., Lorenzo J.A. Metabolic bone disease. *Williams Textbook of Endocrinology*, 2003, p. 1373-1383.
- Shvarc G. Ja. Osteotropic cytokines of the TNF family and creation of a new generation of drugs for the treatment of osteoporosis. *Citokiny i vospalenie* [Cytokines and inflammation], 2004, no. 3, p. 1-9. (in Russian)

Поступила/ Received 19.05.2017

Принята в печать/ Accepted 24.05.2017

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Проходная Виктория Александровна; тел.: +7988557444; e-mail: ms.victoria111@mail.ru; Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29.

Corresponding author: Prohodnaja Victoria Alexandrovna; tel.: +7988557444; e-mail: ms.victoria111@mail.ru; Russia, 344022, Rostov-on-Don, str. Nakhichevan, 29.