

N.S. Belkina – resident

A.S. Shishmareva – candidate of Sciences in Medicine, associate professor

УДК 616.31

МАРКЕРЫ АПОПТОЗА, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ, КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК ИНДИВИДУАЛЬНЫХ АСПЕКТОВ СТАРЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Мария Дмитриевна Цокур¹, Камила Гаджибалаевна Хаспладова², Елена Анатольевна Семенцова³, Юлия Владимировна Мандра⁴, Владимир Викторович Базарный⁵, Лариса Георгиевна Полушина⁶, Елена Николаевна Светлакова⁷, Наталья Максовна Жегалина⁸

¹⁻⁸ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

¹vanevs@mail.ru

Аннотация

Введение. Старение – важный фактор развития функциональной недостаточности и патологии. Маркеры старения помогают охарактеризовать процесс старения комплексно. В настоящее время наиболее перспективными являются молекулярные и генетические маркеры старения человека (Molecular/DNA-based markers). **Цель исследования** – выявление взаимосвязи между уровнем маркеров апоптоза в ротовой жидкости и клиническими стоматологическими признаками. **Материалы и методы.** В клиническом исследовании приняли участие 230 пациентов пожилого и старческого возраста в соответствии с классификацией ВОЗ. Пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от выявленного клинического стоматологического синдрома (окклюзионный, пародонтальный, дистрофический). У всех пациентов была получена нестимулированная ротовая жидкость. Иммунохимическое исследование ротовой жидкости включало определение Bcl-2, caspase 3, cytochrome C, GAPDH, cleaved PARP и p53 методом мультипараметрического флуоресцентного анализа с магнитными микросферами. **Результаты.** В результате проведения иммунохимического исследования ротовой жидкости пациентов было установлено, что наиболее высокая концентрация маркеров апоптоза отмечается у пациентов с дистрофическим синдромом, наиболее низкая – при окклюзионном синдроме. Пародонтальный синдром сопровождается промежуточным уровнем предикторов старения в ротовой жидкости. **Обсуждение.** Ранее было доказано, что активация апоптоза осуществляется различными путями. При этом центральную роль играют митохондрии и цитохром С. В работе показана целесообразность определения каспазы-3 и цитохрома С для оценки активности апоптоза у стоматологических пациентов. **Выводы.** Определение уровня маркеров апоптоза в ротовой жидкости может иметь практическое клиническое

применение в персонализированной диагностике предрасположенности к основным стоматологическим возраст-ассоциированным синдромам, а также системной сопутствующей патологии.

Ключевые слова: старение, возраст-ассоциированные синдромы, молекулярные маркеры старения, полость рта.

APOPTOSIS MARKERS IN THE ORAL FLUID AS A PROGNOSTIC SIGN OF INDIVIDUAL HUMAN AGING ASPECTS

Maria D. Tsokur¹, Kamila G. Khaspladova², Elena A. Sementsova³, Julia V. Mandra⁴, Vladimir V. Bazarnyi⁵, Larisa G. Polushina⁶, Elena N. Svetlakova⁷, Natalia M. Zhegalina⁸

¹⁻⁸Ural state medical university, Yekaterinburg, Russia

¹vanevs@mail.ru

Abstract

Introduction. Aging is an important factor in the development of functional failure and pathology. Aging markers help to characterize the aging process comprehensively. Currently, molecular and genetic human aging markers are the most promising (Molecular / DNA-Based Markers). **The aim of the study** identification of the relationship between the level of apoptosis markers in the oral fluid and clinical dental signs. **Materials and methods.** The clinical procedure was attended by 230 senior patients and senile age in accordance with the WHO classification. Patients were distributed into 3 groups depending on the detected clinical dental syndrome (occlusive, periodontal, dystrophic). In all patients, oral fluid was obtained. Immunochemical study of oral fluid included definition of BCL-2, Caspase 3, Cytochrome C, GAPDH, Cleaved PARP and p53. The method of investigation was the multi-parametric fluorescent analysis with magnetic microspheres. **Results.** The highest concentration of apoptosis markers is noted in patients with dystrophic syndrome, the lowest - with an occlusal syndrome. Periodontal syndrome is accompanied by an intermediate level of aging predictors in the oral fluid. **Discussion.** It has been previously shown that apoptosis is activated in various ways. In this case, mitochondria and cytochrome C play a central role. This work shows the important role of determining caspase-3 and cytochrome C to assess the activity of apoptosis in dental patients. **Conclusions.** The definition of the apoptosis markers level in the oral fluid may have practical clinical use in personalized diagnosis of predisposition to the main dental age-associated syndromes, as well as systemic concomitant pathology.

Keywords: aging, age-associated syndromes, molecular aging markers, oral cavity.

ВВЕДЕНИЕ

Старение – важный фактор развития различных заболеваний и функциональной недостаточности. Процесс старения является гетерогенным. Установлено, что скорость старения организма может существенно изменяться

в зависимости от образа жизни человека, условий среды, наследственных факторов и пр. [1].

Маркеры старения помогают охарактеризовать этот процесс комплексно. По мере исследования проблемы старения использовались различные критерии (маркеры). Первыми из них были маркеры физических функций и антропометрии (Physical Function and Anthropometry). Длительное время наиболее широко используемыми были маркеры-показатели крови (Blood-based markers) [2].

В настоящее время наиболее перспективными являются молекулярные и генетические маркеры старения человека (Molecular/DNA-based markers) [2, 3, 4]. Молекулярные и генетические маркеры преимущественно характеризуют различные аспекты апоптоза. Экспрессия некоторых генов может влиять на скорость и характер протекания апоптоза. Установлено, что ряд генов с возрастом экспрессируется чрезмерно, другие - недостаточно. Например, чрезмерно экспрессируемые с возрастом гены – IL-1A, Bcl2A1, CASP10, mTOR и др.; недостаточно экспрессируемые – TNF α , FAS, ATM, IGFR1 и др. [4].

С точки зрения клинической медицины также можно выделить ряд признаков и нозологических форм, непосредственно связанных с увеличением возраста. В настоящее время к возраст-ассоциированным заболеваниям полости рта относят повышенное стирание зубов (K03.0), хронический пародонтит (K05.3), потерю зубов (K08.1), различные заболевания слизистой оболочки рта (кандидозный стоматит (B37.0), лишай красный плоский (L43), лейкоплакия и другие изменения эпителия полости рта (K13.2)), а также доброкачественные новообразования рта и глотки (D10) и злокачественные новообразования губы, полости рта, глотки (C00 - C14) [5, 6, 7].

Условно данные возраст-ассоциированные заболевания можно сгруппировать в клинические стоматологические синдромы (окклюзионный, пародонтальный, дистрофический). Окклюзионный синдром. Твердые ткани зубов таких пациентов подвержены различным формам некариозных поражений: повышенной стираемости (attrition), клиновидным дефектам (abrasion) и абфракционным дефектам (abfraction). Пародонтальный синдром. Ткани пародонта пародонтологических пациентов гиперемированы, отечны, десны кровоточат при зондировании. Отмечаются глубокие пародонтальные карманы, рецессии десны, подвижность зубов, неудовлетворительная гигиена полости рта. Дистрофический синдром. Слизистая оболочка рта у пациентов с дистрофическим синдромом истонченная, сухая, ранимая с различными видами патологии [5, 6, 7].

Цель исследования - выявление взаимосвязи между уровнем маркеров апоптоза в ротовой жидкости и клиническими стоматологическими признаками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для реализации указанной цели было проведено одноцентровое открытое исследование. Клинический раздел исследования выполнен на базе Стоматологической клиники ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, лабораторный - в Отделе общей патологии Центральной научно-исследовательской лаборатории УГМУ.

В клиническом исследовании приняли участие 230 пациентов пожилого (60-74 года) и старческого (75-90 лет) возраста в соответствии с классификацией ВОЗ. Пациенты были распределены на 3 группы в соответствии с клиническим стоматологическим синдромом. Исследуемая группа 1 включала пациентов с окклюзионным синдромом, исследуемая группа 2 – с пародонтальным, исследуемая группа 3 – с дистрофическим. Перед проведением исследования все пациенты оформляли информированное добровольное согласие. Научно-исследовательская работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (протокол №3 от 19.03.2021 г.).

Стоматологическое обследование включало общеклинические (сбор анамнеза, осмотр) и рентгенологические (2D и 3D исследования) методы. Пациентам назначали биохимические исследования (биохимический анализ крови) и консультации смежных специалистов.

Лабораторное исследование включало иммунологические методы (иммунохимическое исследование ротовой жидкости). Материалом исследования служила нестимулированная ротовая жидкость. Пробирки маркировались, замораживались и хранились при температуре -20 С°.

Иммунохимическое исследование ротовой жидкости включало определение Bcl-2 (B cell lymphoma 2), caspase 3, cytochrome C, GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase), cleaved PARP (poly (ADP-ribose) polymerase) и p53 методом мультипараметрического флуоресцентного анализа с магнитными микросферами (технология xMAP, Luminex 200, USA) с использованием тест-систем ProcartaPlex Apoptosis 6-Plex Human ProcartaPlex™ Panel и ProcartaPlex Human Cytokine/Chemokine (Invitrogen, USA).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась на основании принципов вариационной статистики. Результаты лабораторных исследований сравнивались при помощи критерия Манна-Уитни, данные представлены как медиана (Me), 25-й; 75-й квартиль (Q1; Q3). Для статистической обработки данных применен классический дискриминантный анализ на базе программного пакета статистического анализа Statistica 9.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты клинико-лабораторного исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты анализа ряда маркеров апоптоза человека в ротовой жидкости

Синдром	Показатели, pg/ml					
	Bc 1-2	Ca spase-3	Cyto chrome C	GAPD H	Cle aved PARP	p53
Д истр. М е (Q1; Q3)	25 9 (1 98;373)	17 5 (13 9; 189)	7500 (698 9; 9321)	14789 (10234 ;16557)	3,2 4 (0,3 4; 4,14)	915 (85 2;1320)
П арод. М е (Q1;Q3)	20 7 (1 58;237)	75 (44 ;106)	445 (359 ; 2016)	10428 (6916; 16252)	0,8 8 (0,6 3;1,23)	299 (19 4;345)
О ккл. М е (Q1;Q3)	57 (3 5; 90)	22, 8 (17 ;28,22)	632 (367 ; 1400)	3051 (2900;3836)	0,5 6 (0,3 4;1)	201 (57; 252)

Приведенные данные свидетельствуют о том, что наиболее высокая концентрация маркеров апоптоза отмечается у пациентов с дистрофическим синдромом, наиболее низкая – при окклюзионном синдроме. Пародонтальный синдром сопровождается промежуточным уровнем предикторов старения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Научно доказано, что активация апоптоза осуществляется различными путями, включающими, в частности, трансмембранные рецепторы семейства рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО, TNF). В результате индуцируется каскад цистеиновых протеаз - каспаз, которые продолжают цепь событий, ведущих к завершению апоптоза (саморазрушению клетки). При этом центральную роль в регуляции апоптоза играют митохондрии и содержащийся в них цитохром С. Следовательно, определение активности каспазы-3 и содержания цитохрома отражают активность апоптоза. Данные ключевые показатели были оценены в ротовой жидкости у пациентов старших возрастных групп с различными синдромами.

ВЫВОДЫ

Таким образом, при иммунохимическом анализе ротовой жидкости пациентов с дистрофическим синдромом выявлены нарушения уровня

апоптозрегулирующих белков и получены признаки активации апоптоза. Полученные данные позволяют предположить, что выраженное увеличение концентрации маркеров апоптоза у пациентов с дистрофическим синдромом влияет на состояние клеток эпителия. Данные молекулярные особенности клинически проявляются в атрофии слизистой оболочки рта, гипер- и паракератозе, воспалении.

Определение уровня маркеров апоптоза в ротовой жидкости может служить для оценки индивидуальных аспектов старения и может быть использовано для персонализированной диагностики.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Буккальный эпителий как объект оценки биологического возраста и темпа старения организма / Седов Е. В., Линькова Н. С., Козлов К. Л. и др. // Успехи геронтологии. – 2013. – Т.26, №4. – С. 610–613.
2. Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology / Wagner K., Cameron-Smith D., Wessner B. et al. // *Nutrients*. - 2016; 8: 338.
3. DNA methylation of the ELOVL2, FHL2, KLF14, C1orf132/MIR29B2C, and TRIM59 genes for age prediction from blood, saliva, and buccal swab samples / Jung S., Lim S. M., Hong S. R. et al. // *Forensic Science International: Genetics*. - 2019; 38: 1–8.
4. Effects of aging on apoptosis gene expression in oral mucosal tissues / Gonzalez O. A., Novak M. J., Kirakodu S. et al. // *Apoptosis*. - 2013; 18(3): 249–259.
5. Practice guideline update summary: mild cognitive impairment / Petersen R. C., Lopez O., Armstrong M. J. et al. // *Neurology*. - 2018; 90 (3): 126-135.
6. Influence of Poor Oral Health on Physical Frailty: A Population-Based Cohort Study of Older British Men / Ramsay S. E., Papachristou E., Watt R. G. et al. // *Journal of the American Geriatrics Society*. - 2018; 66 (3): 473–479.
7. An J. Y., Darveau R., Kaeberlein M. Oral health in geroscience: animal models and the aging oral cavity. *GeroScience*. - 2018; 40: 1–10.

Сведения об авторах

М.Д. Цокур – ординатор

К.Г. Хаспладова – врач-стоматолог

Е.А. Семенцова – кандидат медицинских наук, доцент

Ю.В. Мандра – доктор медицинских наук, профессор

В.В. Базарный – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник

Л.Г. Полушина – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

Е.Н. Светлакова – кандидат медицинских наук, доцент

Н.М. Жегалина – кандидат медицинских наук, доцент

Information about the authors

M.D. Tsokur – postgraduate student

K.G. Khaspladova – dentist
E.A. Sementsova – Candidate of Science (Medicine), Associate Professor
J.V. Mandra – Doctor of Science (Medicine), Professor
V.V. Bazarnyi – Doctor of Science (Medicine), Professor, Leading Researcher
L.G. Polushina – Candidate of Science (Medicine), Senior Researcher
E.N. Svetlakova – Candidate of Science (Medicine), Associate Professor
N.M. Zhegalina – Candidate of Science (Medicine), Associate Professor

УДК 544.778.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ОСВЕЖИТЕЛЕЙ ДЛЯ ПОЛОСТИ РТА

Елизавета Вячеславовна Шмойлова¹, Наталья Николаевна Катаева², Нарине
Гришаевна Саркисян³

^{1,2,3}ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Екатеринбург, Российская Федерация

¹shmoylova.liza@mail.ru

Аннотация

Введение. Описывается классификация и типичный качественный состав освежителей для полости рта. **Целью исследования** - изучение некоторых физико-химических показателей и потребительских характеристик освежителей. **Материалы и методы.** Были взяты три освежителя, разных производителей. Методы исследования растворов освежителей: кондуктометрия, потенциометрия, сталагмометрия. **Результаты.** Данные измерения удельной электропроводности, водородного показателя, буферной емкости и поверхностного натяжения растворов. **Дискуссия.** Приведена качественная оценка влияния этих показателей на здоровье ротовой полости. **Заключение.** Все исследуемые растворы освежителей полости рта обладают удельной электропроводностью; имеют кислый рН среды; обладают буферной емкостью по кислоте в большей степени, чем по основанию; понижают поверхностное натяжение воды; освежитель на спиртовой основе, в отличие от освежителей на основе кострового масла, вызывает чувство жжения в полости рта.

Ключевые слова: освежители полости рта, физико-химические свойства, потребительские свойства.

INVESTIGATION OF MOUTH FRESHENERS PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

Elizaveta V. Shmoylova¹, Natalya N. Kataeva², Narine G. Sarkisyan³

^{1,2,3}Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

¹shmoylova.liza@mail.ru

Abstract