

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

ЗНАЧЕНИЕ САЛИВАРНОЙ ПОЛИ (ADP-РИБОЗА)-ПОЛИМЕРАЗЫ В ОЦЕНКЕ ВОЗРАСТЗАВИСИМЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПОЛОСТИ РТА

В.В. Базарный, М.А. Копенкин, Л.Г. Полушина, А.Ю. Максимова, Е.А. Семенцова, Ю.В. Мандра*

Уральский государственный медицинский университет,
620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3; *эл. почта: maximkopenkin@yandex.ru

Возрастные изменения в полости рта сопровождаются развитием возраст-ассоциированной патологии, например, хронического пародонтита (ХП). В его патогенезе определённая роль принадлежит апоптозу. Однако данный факт не нашёл пока клинической оценки, не определена диагностическая информативность биомаркеров апоптоза и старения. Цель исследования — оценить содержание расщеплённой формы поли-(ADP-рибоза)-полимеразы (сPARP) и каспазы-3 (Casp3) в смешанной слюне у пожилых пациентов с возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями и у пациентов зрелого возраста с ХП лёгкой и средней степени тяжести. В исследование было включено 69 человек. В контрольную группу вошли 22 здоровых добровольца молодого возраста от 18 до 44 лет. В основную группу вошли 22 пациента пожилого возраста от 60 до 74 лет. Их подразделили на подгруппы по клиническим синдромам — окклюзионный (группа сравнения), пародонтальный, дистрофический. Дополнительно анализировали группу из 25 пациентов зрелого возраста от 45 до 59 лет с ХП лёгкой и средней степени тяжести. Содержание саливарной Casp3 у пациентов с окклюзионным синдромом было ниже, чем у здоровых молодых людей ($p=0,014$). У пациентов с пародонтальным синдромом увеличено содержание сPARP относительно группы сравнения ($p=0,031$). Группа с дистрофическим синдромом отличалась наиболее высоким уровнем Casp3 в сравнении с контрольной группой и группой сравнения ($p=0,012$, $p=0,004$ соответственно). Между пациентами различных возрастных групп с ХП лёгкой и средней степени тяжести не было статистически значимых отличий. Оценка корреляционной связи между уровнями сPARP и Casp3 выявила прямую связь в группе пациентов пожилого возраста и у пациентов с ХП лёгкой степени тяжести ($r=0,69$, $r=0,81$ соответственно). Мы оценили влияние уровня Casp3 на изменение содержания сPARP с помощью простого линейного регрессионного анализа. Уровень сPARP коррелировал с содержанием Casp3 ($r^2=0,555$). По результатам ROC-анализа было установлено, что показатель сPARP позволял различать группы пациентов пожилого возраста с пародонтальным и окклюзионным синдромами ($AUC=0,71$), а использование Casp3 — пациентов с окклюзионным синдромом и контрольную группу ($AUC=0,78$). Поскольку уровень Casp3 у молодых людей существенно выше, чем у пожилых, его снижение может рассматриваться как потенциальный саливарный биомаркер старения. Уровень изученной сPARP у пожилых людей имеет клиническую ценность при пародонтальном синдроме и низкую зависимость от возраста.

Ключевые слова: биомаркер; смешанная слюна; старение, поли (ADP-рибоза)-полимераза; каспаза-3; апоптоз

DOI: 10.18097/PBMC20236902125

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение доли населения пожилого возраста во всём мире остаётся одним из ведущих демографических трендов. Старение характеризуется сложными, неравномерно развивающимися изменениями различных структур организма. Происходит нарушение регуляции запрограммированной клеточной гибели: в некоторых типах клеток активность апоптоза становится выше физиологического уровня, в других — ниже [1]. Важнейшую роль в старении играют нарушение метилирования ДНК, нарушение размера теломер и другие. В механизмах репарации ДНК и обеспечения стабильности генома участвуют белки семейства поли-(ADP-рибоза)-полимераз (PARP). Их функция состоит в реакции на одноцепочечные разрывы ДНК путём образования связи с сайтами разрывов и образования поли(ADP-рибозы), что служит сигналом для репарации ДНК [2]. Субстратом реакции является никотинамидадениндинуклеотид (NAD^+). После восстановления цепи ДНК PARP разрушается.

Множественное повреждение молекулы ДНК ведёт к повышенной активности PARP. Развивается быстрое истощение субстрата — NAD^+ ; это вызывает снижение уровня АТФ, развивается лизис и гибель клеток [3]. Таким образом, при локальном повреждении ДНК PARP способствует восстановлению её структуры, а при обширном повреждении ускоряет клеточную гибель. Этим определяется связь данного фермента с апоптозом.

Апоптоз основан на внутриклеточном протеолитическом каскаде, вызываемым цистеиновыми протеазами (каспазами). В этом каскаде выделяют инициаторные каспазы, например, каспаза-9 и эффекторные каспазы, например, каспаза-3. Расщепление PARP каспазой-3 (Casp3) считается универсальным признаком апоптотической гибели клеток. В результате образуется две субъединицы, первая из которых выходит в цитозоль (её называют расщеплённой — cleaved), а вторая остаётся в ядре, где связывается с ДНК и тормозит активность PARP [4]. Распад PARP под воздействием Casp3 способствует апоптотической гибели клеток.

Известно значение апоптоза в регуляции тканевого гомеостаза в норме и патологии, в частности при развитии заболеваний полости рта [5]. Гибель эпителиальных клеток является важным врождённым механизмом, который обеспечивает элиминацию патогенов и модулирует иммунновоспалительные реакции. Заболевания, характеризующиеся поражением слизистой оболочки полости рта, такие как лейкоплакия, красный плоский лишай, кандидозный стоматит, отличаются нарушением механизмов клеточной гибели, о чём свидетельствует изменение экспрессии Casp3 в эпителиальных клетках [6, 7]. При плоскоклеточном раке слизистой оболочки полости рта отмечена более низкая экспрессия Casp3 по сравнению с умеренной дисплазией [8]. Рост активности Casp3 и расщепления PARP наблюдались в ответ на грибковое поражение при кандидозном стоматите [9].

Одним из наиболее распространённых заболеваний является хронический пародонтит (ХП) [10]. В его патогенезе определённую роль, наряду с апоптозом, играет пироптоз — вид программируемого разрушения клеток, опосредованного каспазами [11-13]. Существенным отличием этого процесса от апоптоза являются воспалительные реакции — пироптоз сопровождается высвобождением провоспалительных цитокинов. Вероятно, он вовлечён в прогрессирование пародонтита через высвобождение провоспалительных цитокинов и усиление воспаления [14]. Хотя участие Casp3 характерно для апоптотического пути разрушения клеток, была показана связь этого фермента и с пироптозом [15].

Возрастные изменения в полости рта ассоциированы с различными стоматологическими заболеваниями, в частности, с поражением слизистой оболочки (ксеростомия), ХП и потерей зубов. Клинические аспекты здоровья полости рта в последние годы активно исследуются и описаны в литературе [16]. В контексте активного развития неинвазивной “саливадиагностики” представляется не менее важным поиск новых биомаркеров старения и апоптоза в смешанной слюне при возраст-ассоциированной патологии.

Цель исследования — оценить содержание расщеплённой формы PARP (сPARP) и связанной с ней Casp3 в смешанной слюне у пациентов пожилого возраста с возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями и у пациентов зрелого возраста с ХП лёгкой и средней степени тяжести.

МЕТОДИКА

В открытом одномоментном нерандомизированном исследовании приняли участие 69 человек, из которых 47 страдали возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями. Контрольную группу составили здоровые добровольцы молодого возраста от 18 до 44 лет (n=22), отобранные по результатам профилактического осмотра. Возрастное распределение имело медиану 28 лет (25-й квартиль равен 25 годам, 75-й квартиль — 31 году).

Пациенты пожилого возраста от 60 до 74 лет составили основную группу. Значение медианы возраста составило 67 лет (интерквартильная широта — от 61 до 71 лет). Основная группа была подразделена на следующие подгруппы по условно выделенным клиническим синдромам [16]: подгруппа пациентов с окклюзионным синдромом (n=6), подгруппа пациентов с пародонтальным синдромом (n=10) и подгруппа пациентов с дистрофическим синдромом (n=6). Пациенты с окклюзионным синдромом составили группу сравнения, так как характеризовались наименее выраженными клиническими симптомами поражения слизистой оболочки и тканей пародонта. Была сформирована группа пациентов зрелого возраста от 45 лет до 59 лет с пародонтальным синдромом. Возраст (медиана и интерквартильная широта) составил 48 лет (от 45 лет до 53 лет). В данную группу были отобраны пациенты с ХП лёгкой (n=16) и средней (n=9) степени тяжести. Половозрастные различия в обследованных группах отсутствовали. Для возрастной периодизации были использованы рекомендации по классификации возрастных периодов ВОЗ (1963 г.).

Обследование и лечение пациентов проведено на базе Стоматологической клиники Уральского государственного медицинского университета. Всем участникам исследования было проведено стоматологическое обследование по протоколу, принятому в клинике. Для верификации диагноза использовали рентгенологическое (2D- и 3D-) исследование.

В группу с окклюзионным синдромом были объединены пациенты с такими проявлениями, как повышенная стираемость зубов и клиновидные дефекты и относительно интактным пародонтом (то есть без выраженных признаков воспаления). Пациенты с пародонтальным синдромом имели ХП средней степени тяжести. У пациентов с дистрофическим синдромом были заболевания слизистой оболочки рта (неопухольевые изменения эпителия полости рта).

В группу молодых здоровых добровольцев были отобраны лица, отрицавшие наличие сопутствующей патологии. Для пожилых и старых пациентов характерна полиморбидность — сочетание 2-3 соматических заболеваний. Эти пациенты имели в анамнезе заболевания сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, дыхательной системы и другие (табл. 1).

Клиническая характеристика групп по объективным показателям состояния полости рта (стоматологическим индексам) представлена в таблице 2. Значения индекса распространённости кариеса (КПУ), отражающее состояние твёрдых тканей зуба, и папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА), характеризующего состояние пародонта, заметно различаются между группами, что свидетельствует о корректном отборе пациентов по клиническим признакам.

Критерии включения пациентов: соответствие требованиям возрастной периодизации, клиническое подтверждение диагноза, согласие пациента

Таблица 1. Сопутствующая соматическая патология пациентов

Патология	Окклюзионный синдром (n=6)	Пародонтальный синдром (n=10)	Дистрофический синдром (n=6)	Зрелый возраст с ХП (n=25)	Контрольная группа (n=22)	p*
Ишемическая болезнь сердца	3	5	3	1	0	<0,001
Гипертоническая болезнь	4	7	5	2	0	<0,001
Бронхиальная астма	0	1	1	0	0	0,120
Гастрит и дуоденит	2	6	4	5	0	<0,001
Метаболический синдром	3	4	3	7	0	0,013

Примечание: * – критерий Краскела-Уоллиса.

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов

Индекс	Окклюзионный синдром (n=6)	Пародонтальный синдром (n=10)	Дистрофический синдром (n=6)	Зрелый возраст с ХП (n=25)	Контрольная группа (n=22)	p*
КПУ	10,0 (9,0–14,0)	20,0 (19,0–24,0)	21,0 (21,5–23,5)	16,0 (15,0–20,0)	11,5 (10,0–15,0)	<0,001
РМА	27,0 (23,5–31,0)	83,0 (72,0–86,0)	57,0 (51,7–67,5)	32,0 (28,0–37,0)	15,0 (12,2–19,7)	<0,001

Примечание: * – критерий Краскела-Уоллиса.

на участие в исследовании, соответствие клинических диагнозов признакам окклюзионного, пародонтального или дистрофического синдромов. Критерии исключения пациентов: возраст менее 18 лет, отказ от участия в исследовании, наличие острых травм лицевого скелета, наличие сахарного диабета 1 и 2 типов в стадии суб- и декомпенсации, наличие в анамнезе тяжёлой соматической патологии в стадии суб- и декомпенсации.

У испытуемых определяли содержание расщеплённой каспазой формы PARP — cPARP и Casp3 в смешанной слюне, методом мультипараметрического флуоресцентного анализа с магнитными микросферами (технология xMAP, Luminex 200, “Luminex”, США) с использованием тест-системы ProcartaPlex Human Apoptosis Panel 6-Plex (“Invitrogen”, США) согласно протоколу производителя. Данная технология подобна ELISA, когда используют пары соответствующих антител для идентификации исследуемого белка. В ней используются магнитные частицы диаметром 6,45 мкм, окрашенные красным и инфракрасным флуорофорами, несущие на себе специфические антитела. Данный комплекс визуализируется с помощью биотинилированных антител и стрептавидин-R-фикоэритрина (RPE) и идентифицируется системой Luminex. Методика включала инкубацию 25 мкл смешанной слюны со смесью специально подготовленных магнитных микросфер в 96-луночном плоскодонном планшете. После ряда промывок моющим раствором на магните в каждую лунку добавляли смесь детектирующих антител, специфичных для исследуемых показателей, и RPE. Для обнаружения магнитных частиц с помощью Luminex 200 использовали два лазера: репортный лазер — зелёный с длиной волны 534 нм, классификационный лазер — красный с длиной волны 635 нм. Красный лазер использовали для различий спектральной сигнатуры, зелёный — для определения интенсивности флуоресценции RPE,

которое пропорционально количеству белка, присутствующего в образце. Концентрацию cPARP и Casp3 рассчитывали на основе средней интенсивности флуоресценции частиц с использованием программного обеспечения xPONENT и ProcartaPlex.

Статистическую обработку результатов исследования проводили на основании принципов вариационной статистики. Критический уровень значимости был установлен на уровне 0,05 ($p=0,05$). Был использован одновыборочный двусторонний тест Колмогорова-Смирнова для определения близости полученных данных к нормальному закону распределения. Поскольку гипотеза о том, что данные были распределены в соответствии с нормальным законом, была отвергнута, при обработке результатов использовали непараметрические статистические критерии. Результаты исследований представлены как медиана (25-й; 75-й квартиль) — Me (Q1; Q3). Для оценки различий между двумя независимыми выборками использовался двусторонний тест Манна-Уитни. Для проведения однофакторного дисперсионного анализа был использован непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Для установления корреляции между исследованными параметрами проводили двусторонний тест Спирмена. Для оценки тесноты связи использовали шкалу Чеддока. Считали, что значения коэффициента меньше 0,3 — признак слабой тесноты связи, значения от 0,3 до 0,5 — умеренной, от 0,5 до 0,7 — заметной, от 0,7 до 0,9 — высокой, более 0,9 — очень высокой. Для оценки линейной связи между биомаркерами был проведён простой линейный регрессионный анализ. Для оценки диагностических характеристик изученных показателей были рассчитаны диагностическая чувствительность (ДЧ) и диагностическая специфичность (ДС). Для оценки диагностической эффективности был использован ROC-анализ, заключающийся в построении и определении площади под ROC-кривой —

AUC (Area Under Curve). AUC от 0,5 до 0,7 интерпретировали как тест с низкой точностью, от 0,7 до 0,9 — с умеренной точностью, от 0,9 и более — с высокой точностью. Для выбора оптимальной точки отсечения применяли индекс Юдена (J). Статистический анализ проводили с использованием языка программирования Python (версия 3.9.12), открытых библиотек SciPy (версия 1.7.3), Statsmodels (версия 0.13.2), Scikitlearn (версия 1.0.2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Возрастные изменения в полости рта отличаются определённым полиморфизмом. В данном исследовании был определён уровень слювенной cPARP и связанной с ним Casp3 у лиц пожилого возраста с различными геронтостоматологическими синдромами (табл. 3).

При окклюзионном синдроме был отмечен наименьший уровень исследованных параметров. При этом концентрация слювенной Casp3 была статистически значимо ниже, чем у здоровых молодых людей. У пациентов с пародонтальным синдромом установлено увеличение содержания cPARP в смешанной слюне в сравнении с окклюзионным синдромом (группа сравнения). В группе с дистрофическим синдромом был выявлен наиболее высокий уровень Casp3, который значимо отличался от контрольной группы и группы сравнения.

Установленное при окклюзионном синдроме содержание Casp3 отражает, скорее всего, отсутствие выраженных повреждений ДНК и апоптоза. Более высокое содержание Casp3 у молодых людей, вероятно, обусловлено более высокой скоростью клеточного обмена, и, соответственно, апоптоза [1]. Чем больше клеток обновляется, тем выше вероятность возникновения различных нарушений, что ведёт к апоптозу.

Содержание исследованных биомаркеров при пародонтальном синдроме было ниже, чем при дистрофическом, но выше, чем при окклюзионном. Это представляется логичным, поскольку ХП характеризуется прогрессирующим воспалением тканей пародонта. Ранние исследования механизмов клеточной гибели при этом заболевании были сфокусированы на исследовании апоптоза [17, 18]. Недавние исследования говорят о том, что при ХП одновременно и во взаимодействии друг с другом протекают процессы апоптоза и пироптоза [19]. Casp3 является общим ключевым белком в описанных выше механизмах [20]. Поэтому существует мнение, что расщепление PARP является общей особенностью пироптотических и апоптотических процессов [21, 22]. Этим объясняются отличия в содержании cPARP, а меньшее содержание Casp3 по сравнению с дистрофическим синдромом говорит о том, что апоптоз не является доминирующим механизмом разрушения клеток. Высокая концентрация Casp3 в смешанной слюне у пациентов с дистрофическим синдромом может быть связана с выраженным поражением эпителия слизистой оболочки полости рта и преобладанием апоптоза [23, 24].

Для определения диагностической ценности биомаркеров в двух возрастных группах — у людей пожилого возраста с окклюзионным синдромом, не имеющих выраженных признаков воспаления в полости рта (группа сравнения), и в контрольной группе — был проведён ROC-анализ, заключающийся в построении ROC-кривой и определении площади под ней (AUC), которая отражает диагностическую эффективность теста (табл. 4).

Использование Casp3 позволило с умеренной точностью дифференцировать пожилых людей с интактным парадонтом и контрольную группу. Однако использование Casp3 в качестве слювенного биомаркера старения остается проблематичным в связи с высокой вариабельностью данного показателя у пациентов.

Таблица 3. Содержание cPARP и Casp3 у пациентов пожилого возраста

Показатель	Окклюзионный синдром (n=6)	Пародонтальный синдром (n=10)	Дистрофический синдром (n=6)	Контрольная группа (n=22)
cPARP, пг/мл	0,34 (0,34–0,83) $p_1=0,240$	1,00 (0,76–4,16) $p_1=0,330$ $p_2=0,031$	1,79 (0,34–3,24) $p_1=0,750$ $p_2=0,360$	0,62 (0,34–10,09)
Casp3, пг/мл	22,80 (12,49–26,86) $p_1=0,014$	85,31 (43,79–132,89) $p_1=0,420$ $p_2=0,056$	175,85 (100,48–251,23) $p_1=0,012$ $p_2=0,004$	48,95 (34,44–99,42)

Примечание: p_1 – при сравнении с контрольной группой, p_2 – при сравнении с группой сравнения (окклюзионный синдром).

Таблица 4. ROC-анализ слювенных параметров при окклюзионном синдроме

Показатель	cut-off	AUC	ДЧ, %	ДС, %	J
cPARP, пг/мл	<0,36	0,67	100,00	42,90	0,41
Casp3, пг/мл	<22,80	0,78	75,00	92,30	0,67

Поскольку наиболее распространённым геронтостоматологическим синдромом является пародонтальный, то представляется важным оценить изменение уровней биомаркеров в зависимости от возраста и степени тяжести ХП. Было проведено сравнение содержания cPARP и Casp3 у пациентов зрелого возраста с ХП лёгкой и средней степени тяжести, а также пациентов пожилого возраста с ХП средней степени тяжести (табл. 5).

Это исследование не обнаружило различий между данными параметрами у пациентов различных возрастных групп с ХП лёгкой и средней степенями тяжести. Однако можно отметить, что медианные значения уровней cPARP и Casp3 были выше в группе лиц пожилого возраста и в группе зрелого возраста с ХП средней степени тяжести. При этом полученные результаты примерно соответствовали друг другу в группе пациентов с пародонтитом лёгкой степени тяжести и у здоровых молодых добровольцев. Можно предположить, что полученные результаты говорят скорее о зависимости уровней исследованных биомаркеров со степенью тяжести ХП, чем с возрастом.

В настоящее время диагностика ХП основывается на стоматологическом клиническом обследовании и компьютерной томографии, имеющей ограничения к применению. В то же время неинвазивные слюварные биомаркеры могли бы быть использованы в качестве инструментов ранней диагностики ХП, оценки активности патологического процесса, прогнозирования развития заболевания и ответа на терапию [25, 26]. В частности, определённый интерес в лабораторном мониторинге ХП может представлять величина cPARP.

Патофизиологические механизмы образования cPARP предполагают тесную связь с уровнем Casp3. Как было описано выше, при заболеваниях, относящихся к дистрофическому синдрому, преобладает апоптотический процесс, что подтверждается наиболее высоким уровнем Casp3 и cPARP. ХП отличается более запутанными механизмами клеточной гибели, апоптоз может сочетаться с пироптозом [12, 20]. Некоторые авторы сообщают, что PARP не является ключевым ферментом при пироптозе [13]. Тем не менее, интерес представляет связь cPARP с уровнем Casp3 при ХП, которую оценивали с помощью корреляционного анализа (табл. 6).

При оценке корреляционной связи между уровнями cPARP и Casp3 обнаружена статистически значимая прямая связь в группе пациентов пожилого возраста с пародонтальным синдромом и зрелого возраста с ХП лёгкой степени тяжести. Однако корреляционная связь не означает причинную связь. Известно, что разрушение PARP с образованием cPARP при пародонтитах может быть связано с действием каспазы-1 [11, 13, 14, 21, 22]. Поэтому мы оценили влияние уровня Casp3 на изменение содержания cPARP с помощью простого линейного регрессионного анализа, объединив группы пациентов пожилого и зрелого возраста с ХП (рисунок).

Угловой коэффициент был больше нуля, что указывало на рост уровня cPARP с увеличением Casp3 ($n=35$, $r^2=0,555$, $p=0,042$, $Y=-1,51+0,71X$). Коэффициент детерминации (r^2) составил 0,555; из этого следует, что уровень cPARP на 55,5% объяснялся содержанием Casp3. Полученный результат согласуется с представлениями о взаимосвязи

Таблица 5. Содержание cPARP и Casp3 в смешанной слюне у пациентов с ХП лёгкой и средней степени тяжести

Показатель	Пациенты пожилого возраста с ХП средней тяжести (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХП лёгкой тяжести (n=16)	Пациенты зрелого возраста с ХП средней тяжести (n=9)	Контрольная группа (n=22)
cPARP, пг/мл	1,00 (0,76–4,16) $p_1=0,33$ $p_2=0,30$ $p_3=0,39$	0,69 (0,35–2,94) $p_1=0,92$ $p_3=0,95$ $p_4=0,30$	0,88 (0,63–1,00) $p_1=0,90$ $p_2=0,95$ $p_4=0,39$	0,62 (0,34–10,09)
Casp3, пг/мл	85,31 (43,79–132,89) $p_1=0,43$ $p_2=0,30$ $p_3=0,71$	44,94 (37,31–82,74) $p_1=0,88$ $p_3=0,18$ $p_4=0,30$	74,73 (69,13–87,80) $p_1=0,24$ $p_2=0,18$ $p_4=0,71$	48,95 (34,44–99,42)

Примечание: p_1 – при сравнении с контрольной группой, p_2 – при сравнении с группой пациентов зрелого возраста с ХП лёгкой тяжести, p_3 – при сравнении с группой пациентов зрелого возраста с ХП средней тяжести, p_4 – при сравнении с группой пациентов пожилого возраста с ХП средней тяжести

Таблица 6. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (r) между уровнями cPARP и Casp3

Группа	r	p
Пациенты пожилого возраста с окклюзионным синдромом	-0,23	0,65
Пациенты пожилого возраста с пародонтальным синдромом	0,69	0,02
Пациенты пожилого возраста с дистрофическим синдромом	0,81	0,06
Пациенты зрелого возраста с ХП лёгкой степени тяжести	0,81	0,01
Пациенты зрелого возраста с ХП средней степени тяжести	-0,12	0,74
Контрольная группа	0,76	0,54

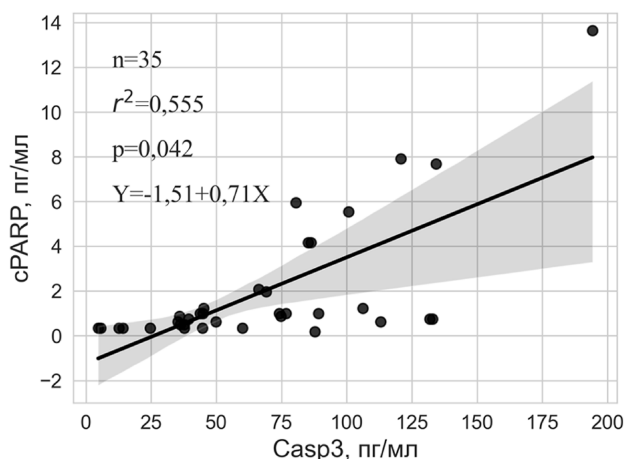


Рисунок. Кривая линейной регрессии с доверительными интервалами. Casp3 является независимой переменной, cPARP – зависимой.

разрушения PARP каспазой-1 и Casp3 с образованием cPARP при ХП. Таким образом, представляется обоснованным вопрос об использовании cPARP как потенциального диагностического биомаркера в диагностике ХП. Для достижения цели исследования был проведён ROC-анализ. Установлено, что определение cPARP позволило различать группы пожилых людей с пародонтальным и окклюзионным синдромами. При уровне отсечения (cut-off) более 4,16 пг/мл AUC составила 0,71, ДЧ — 66,6%, ДС — 90,0%. Это указывает на то, что диагностическая эффективность теста на слювенную cPARP при геронтостоматологических синдромах характеризовалась умеренной точностью.

Выявленные в работе закономерности изменения двух слювенных маркеров при геронтостоматологических синдромах основаны на обследовании здоровых добровольцев и 4 групп пациентов, две из которых были малочисленными, что является определенным ограничением данного исследования. Хотя статистические методы подобраны адекватно и применимы при данном объёме групп, мы не исключаем, что при увеличении когорты пациентов будут получены несколько отличающиеся результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы нарастает интерес к смешанной слюне как к доступному, малоинвазивному и информативному диагностическому материалу. Являясь органоспецифичным компонентом, эта биожидкость может представлять интерес в вопросе выявления преждевременного старения тканей полости рта, а также в диагностике заболеваний пародонта. Результаты исследования свидетельствуют о том, что слювенная Casp3 может являться потенциальным биомаркером возраст-ассоциированной стоматологической патологии. Уровень слювенной cPARP у пожилых людей имеет

клиническую ценность при пародонтальном синдроме, а повышение уровня Casp3 скорее отражает активность апоптоза при наиболее тяжёлой патологии — дистрофическом синдроме.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счёт средств государственного задания на научно-исследовательскую работу “Предикторы старения в полости рта и возможность их использования для персонификации стоматологического лечения”. Регистрационный номер 121032300110-4.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (Helsinki, 2000). От всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Дизайн исследования, его новизна, допустимость и приемлемость были одобрены на заседании локального этического комитета Уральского государственного медицинского университета от 19.03.2021 (протокол № 3).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tower J. (2015) Programmed cell death in aging. *Ageing Res. Rev.*, **23**(Part A), 90-100. DOI: 10.1016/j.arr.2015.04.002
2. Piskunova T.S., Yurova M.N., Ovsyannikov A.I., Semenchko A.V., Zabezhinski M.A., Popovich I.G., Wang Z.Q., Anisimov V.N. (2008) Deficiency in poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) accelerates aging and spontaneous carcinogenesis in mice. *Curr. Gerontol. Geriatrics Res.*, **2008**, 754190. DOI: 10.1155/2008/754190
3. Braidy N., Berg J., Clement J., Khorshidi F., Poljak A., Jayasena T., Grant R., Sachdev P. (2019) Role of nicotinamide adenine dinucleotide and related precursors as therapeutic targets for age-related degenerative diseases: Rationale, biochemistry, pharmacokinetics, and outcomes. *Antioxid. Redox Signal.*, **30**(2), 251-294. DOI: 10.1089/ars.2017.7269
4. Morris G., Walker A.J., Berk M., Maes M., Puri B.K. (2017) Cell death pathways: A novel therapeutic approach for neuroscientists. *Mol. Neurobiol.*, **55**(7), 5767-5786. DOI: 10.1007/s12035-017-0793-y
5. Misra A., Rai S., Misra D. (2016) Functional role of apoptosis in oral diseases: An update. *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, **20**(3), 491-496. DOI: 10.4103/0973-029X.190953
6. Abdel-Latif A.M., Abuel-Ela H.A., El-Shourbagy S.H. (2009) Increased caspase-3 and altered expression of apoptosis-associated proteins, Bcl-2 and Bax in lichen planus. *Clin. Exp. Dermatol.*, **34**(3), 390-395. DOI: 10.1111/j.1365-2230.2008.03029.x
7. Kaur J., Politis C., Jacobs R. (2015) Salivary apoptotic cells in oral (pre-) cancer as a potential diagnostic means. *J. Clin. Exp. Dentistry*, **7**(3), 400-404. DOI: 10.4317/jced.52212

8. Li S., Yang Y., Ding Y., Tang X., Sun Z. (2017) Impacts of survivin and caspase-3 on apoptosis and angiogenesis in oral cancer. *Oncology Lett.*, **14**(3), 3774-3779. DOI: 10.3892/ol.2017.6626
9. Villar C.C., Chukwuedum Aniemekwe J., Zhao X.R., Huynh-Ba G. (2012) Induction of apoptosis in oral epithelial cells by *Candida albicans*. *Mol. Oral Microbiol.*, **27**(6), 436-448. DOI: 10.1111/j.2041-1014.2012.00648.x
10. Dahlen G., Basic A., Bylund J. (2019) Importance of virulence factors for the persistence of oral bacteria in the inflamed gingival crevice and in the pathogenesis of periodontal disease. *J. Clin. Med.*, **8**(9), 1339. DOI: 10.3390/jcm8091339
11. Sordi M.B., Magini R.S., Panahipour L., Gruber R. (2021) Pyroptosis-mediated periodontal disease. *Int. J. Mol. Sci.*, **23**(1), 372. DOI: 10.3390/ijms23010372
12. Liu J., Wang Y., Meng H., Yu J., Lu H., Li W., Lu R., Zhao Y., Li Q., Su L. (2019) Butyrate rather than LPS subverts gingival epithelial homeostasis by downregulation of intercellular junctions and triggering pyroptosis. *J. Clin. Periodontol.*, **46**(9), 894-907. DOI: 10.1111/jcpe.13162
13. Fang Y., Tian S., Pan Y., Li W., Wang Q., Tang Y., Yu T., Wu X., Shi Y., Ma P., Shu Y. (2020) Pyroptosis: A new frontier in cancer. *Biomed. Pharmacother.*, **121**, 109595. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109595
14. Chen Q., Liu X., Wang D., Zheng J., Chen L., Xie Q., Liu X., Niu X., Qu G., Lan J., Li J., Yang C., Zou D. (2021) Periodontal inflammation-triggered by periodontal ligament stem cell pyroptosis exacerbates periodontitis. *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 663037. DOI: 10.3389/fcell.2021.663037
15. White T., Alimova Y., Alves V.T.E., Emecen-Huja P., Al-Sabbagh M., Villasante A., Ebersole J.L., Gonzalez O.A. (2020) Oral commensal bacteria differentially modulate epithelial cell death. *Arch. Oral Biol.*, **120**, 104926. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2020.104926
16. Семенцова Е.А., Мандра Ю.В., Базарный В.В., Полушина Л.Г., Григорьев С.С., Еловицова Т.М., Светлакова Е.Н., Жегалина Н.М. (2022) Взаимосвязь клинических стоматологических возраст-ассоциированных синдромов и некоторых предикторов старения в полости рта. *Пародонтология*, **27**(1), 74-79. [Sementsova E.A., Mandra J.V., Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Grigoryev S.S., Elovikova T.M., Svetlakova E.N., Zhegalina N.M. (2022) The link between age-related dental syndromes and some oral predictors of ageing. *Parodontologiya*, **27**(1), 74-79.] DOI: 10.33925/1683-3759-2022-27-1-74-79
17. Abuhussein H., Bashutski J.D., Dabiri D., Halubai S., Layher M., Klausner C., Makhoul H., Kapila Y. (2014) The role of factors associated with apoptosis in assessing periodontal disease status. *J. Periodontology*, **85**(8), 1086-1095. DOI: 10.1902/jop.2013.130095
18. Dabiri D., Halubai S., Layher M., Klausner C., Makhoul H., Lin G.H., Eckert G., Abuhussein H., Kamarajan P., Kapila Y. (2016) The role of apoptotic factors in assessing progression of periodontal disease. *Int. J. Dentistry Oral Sci.*, **3**(9), 318-325. DOI: 10.19070/2377-8075-1600064
19. Xu X., Zhang T., Xia X., Yin Y., Yang S., Ai D., Qin H., Zhou M., Song J. (2022) Pyroptosis in periodontitis: From the intricate interaction with apoptosis, NETosis, and necroptosis to the therapeutic prospects. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **12**, 953277. DOI: 10.3389/fcimb.2022.953277
20. Jiang M., Qi L., Li L., Li Y. (2020) The caspase-3/GSDME signal pathway as a switch between apoptosis and pyroptosis in cancer. *Cell Death Discovery*, **6**, 112. DOI: 10.1038/s41420-020-00349-0
21. Malireddi R.K., Ippagunta S., Lamkanfi M., Kanneganti T.D. (2010) Cutting edge: proteolytic inactivation of poly(ADP-ribose) polymerase 1 by the Nlrp3 and Nlr4 inflammasomes. *J. Immunology*, **185**(6), 3127-3130. DOI: 10.4049/jimmunol.1001512
22. Bast A., Krause K., Schmidt I.H., Pudla M., Brakopp S., Hopf V., Breitbach K., Steinmetz I. (2014) Caspase-1-dependent and -independent cell death pathways in *Burkholderia pseudomallei* infection of macrophages. *PLOS Pathogens*, **10**(3), e1003986. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003986
23. Basheer S., Shameena P.M., Sudha S., Varma S., Vidyath S., Varekar A. (2017) Expression of survivin and p53 in oral lichen planus, lichenoid reaction and lichenoid dysplasia: An immunohistochemical study. *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, **21**(3), 456-457. DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP_39_15
24. Cortés-Ramírez D.A., Gainza-Cirauqui M.L., Echebarria-Goikouria M.A., Aguirre-Urizar J.M. (2009) Oral lichenoid disease as a premalignant condition: The controversies and the unknown. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, **14**(3), 118-122.
25. Ghallab N.A. (2018) Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Arch. Oral Biol.*, **87**, 115-124. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.12.022
26. Rangbulla V., Nirola A., Gupta M., Batra P., Gupta M. (2017) Salivary IgA, interleukin-1 β and MMP-8 as salivary biomarkers in chronic periodontitis patients. *Chin. J. Dent. Res.*, **20**(1), 43-51. DOI: 10.3290/j.cjdr.a37741

Поступила в редакцию: 25. 11. 2022.
После доработки: 17. 02. 2023.
Принята к печати: 27. 02. 2023.

SIGNIFICANCE OF SALIVARY POLY (ADP-RIBOSE)-POLYMERASE IN THE ASSESSMENT
OF AGE-RELATED PATHOLOGICAL PROCESSES IN THE ORAL CAVITY

V.V. Bazarnyi, M.A. Kopenkin, L.G. Polushina, A.Yu. Maximova, E.A. Sementsova, Yu.V. Mandra*

Ural State Medical University,
3 Repina str., Yekaterinburg, 620109 Russia; *e-mail: maximkopenkin@yandex.ru

Age-related changes in the oral cavity are accompanied by the development of age-related pathology, such as chronic periodontitis (CP). Although apoptosis plays a certain role in its pathogenesis, this fact, however, has not been evaluated clinically, and the diagnostic information content of biomarkers of apoptosis and aging has not been determined. The aim of the study was to evaluate the content of cleaved poly-(ADP-ribose)-polymerase (cPARP) and caspase-3 (Casp3) in mixed saliva of elderly patients with age-related dental diseases and in mature patients with mild to moderate CP. The study included 69 people. The control group included 22 healthy young volunteers aged 18 to 44 years. The main group included 22 elderly patients aged 60 to 74 years. They were divided into subgroups according to clinical manifestations: occlusion (comparison group), periodontal, and dystrophic syndromes. Additionally, a group of 25 patients of mature age from 45 to 59 years old with mild to moderate CP was analyzed. The content of salivary Casp3 in patients with occlusion syndrome was lower than in healthy young people ($p=0.014$). In patients with the periodontal syndrome, the content of cPARP was higher than in the comparison group ($p=0.031$). The group with dystrophic syndrome had the highest level of Casp3 in comparison with the control group and the comparison group ($p=0.012$, $p=0.004$, respectively). There were no statistically significant differences between patients of different age groups with mild to moderate CP. Evaluation of the correlation between cPARP and Casp3 levels revealed a direct relationship in the group of elderly patients and in patients with mild CP ($r=0.69$, $r=0.81$, respectively). We assessed the effect of Casp3 levels on changes in the cPARP levels by means of a simple linear regression analysis. The cPARP level correlated with the content of Casp3 ($r^2=0.555$). According to the results of the ROC analysis, it was found that using the cPARP indicator it would be possible to distinguish between groups of elderly patients with periodontal and occlusion syndromes (AUC=0.71), while using Casp3 it would be possible to distinguish patients with the occlusion syndrome and the control group (AUC=0.78). Since the level of Casp3 in young people is significantly higher than in the elderly patients, its decrease can be considered as a potential salivary biomarker of aging. The level of studied cPARP in the elderly has clinical value in periodontal syndrome and low age dependence.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: biomarker; saliva; aging; poly(ADP-ribose) polymerase; caspase-3; apoptosis

Funding. The work was carried out within the State Assignment for the research entitled “Predictors of aging in the oral cavity and the possibility of their use for the personification of dental treatment” (registration No. 121032300110-4).

Received: 25.11.2022; revised: 17.02.2023; accepted: 27.02.2023.