

## СПОСОБЫ ДИАГНОСТИКИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ ПОЛОСТИ РТА. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Семенцова Е. А., Мандра Ю. В., Базарный В. В., Светлакова Е. Н., Полушина Л. Г., Жегалина Н. М.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург

### Введение

Демографическое старение — важнейшая тенденция в современном мире. По данным Росстата, в 2014 году доля россиян пенсионного возраста составила более 24 % и, согласно имеющимся прогнозам, будет расти, приближаясь к 28 % в 2030 г. Политика активного долголетия выступает на первый план во всех развитых странах как реакция на демографическое старение и нехватку трудовых ресурсов [3].

ВОЗ формулирует концепцию активного долголетия как «процесс оптимизации возможностей... здоровья и безопасности в целях повышения качества жизни по мере старения людей». Имеющиеся оценки индекса активного долголетия в России свидетельствуют о том, что 41,5 % россиян в возрасте 55 лет и старше не соответствуют основным критериям активного долголетия, обозначенным в определении ВОЗ [3]. Исходя из этого, комплекс профилактических мероприятий для достижения функционального долголетия необходимо начинать уже в среднем возрасте и продолжать на протяжении всей жизни [2, 3].

Известно, что скорость старения организма может существенно варьироваться в зависимости от образа жизни конкретного человека, условий среды, наследственных факторов и пр. Относясь к одной возрастной группе, пациенты могут иметь различные состояния организма, степень выраженности процессов старения, проявления заболеваний [2, 3]. Например, установлено, что разница между биологическим и хронологическим возрастом у больных сахарным диабетом составляет 4,76 года на один год существования сахарного диабета. Наибольшая разница в 8,41 года была выявлена у больных с сочетанием артериальной гипертензии, сахарного диабета и атеросклероза [1].

Для пациентов стоматологического профиля различных возрастных групп характерно преобладание определенных заболеваний полости рта [2, 6, 11]. У пациентов молодого возраста (от 18 до 44 лет согласно классификации ВОЗ) преобладают поражение зубов кариесом, гингивит, начальные признаки пародонтита; для пациентов среднего возраста (44—60 лет) характерно протекание хронического генерализованного пародонтита различной степени тяжести, связанного с развитием нарушений функционирования сосудов микроциркуляторного русла, распространением анаэробной микрофлоры. Для пациентов пожилого (60—75 лет), старческого (75—90 лет) возраста и долгожителей (старше 90 лет) характерен иной перечень стоматологических проблем: заболевания слизистой оболочки рта, ксеростомия, проявления процессов атрофии, гиперкератоза, непереносимости различных материалов, проявления сопутствующей патологии в полости рта [6, 7, 11, 12].

Старение является гетерогенным процессом [1]. Данное свойство позволяет использовать для оценки степени его выраженности различные биологические объекты и молекулярные маркеры. В настоящее время в разных исследованиях биологического возраста и темпа старения организма используют более 150 биохимических, эндокринологических, морфологических, иммунологических, антропометрических и клинико-физиологических параметров [9]. В связи с этим одной из актуальных задач является поиск биологических объектов (органов, тканей, биологических жидкостей), исследование которых на биохимическом, молекулярно-биологическом и генетическом уровнях позволит своевременно диагностировать признаки ускоренного старения [1].

Полость рта является доступной областью для исследования маркеров (предикторов) старения. Из полости рта неинвазивным путем могут быть получены такие объекты исследования, как ротовая жидкость, десневая жидкость, слюна, буккальный эпителий, зубная бляшка и др. Данные объекты исследования обладают большой информативностью и могут быть применены для прижизненной диагностики биологического возраста и темпа старения организма [1, 9].

### Буккальный эпителий

Буккальный эпителий можно рассматривать как пограничную зону между внешней и внутренней средой организма. Изменения функциональной активности клеток буккального эпителия (процессы клеточного обновления и дифференциации, экспрессия разных сигнальных молекул) во многом отражают состояние локального и системного гомеостаза организма или его нарушения при старении. Так, в 2003 г. была высказана гипотеза о том, что использование буккального эпителия в сочетании с другими тканями организма «является достаточно объективным подходом к оценке биологического возраста и позволит минимизировать погрешность между средней ожидаемой продолжительностью жизни» [1].

В последнее десятилетие была разработана методика использования буккального эпителия для определения биологического возраста у пациентов с сахарным диабетом, основанная на измерении электрокинетических характеристик (электроподвижность, скорость движения, электроотрицательность ядра) буккального эпителия *in vitro* с применением микроэлектрофореза ядер. Буккальные клетки оказались оптимальным объектом для проведения этого исследования, так как они легкодоступны для исследования, имеют крупное ядро и высокую жизнеспособность *in vitro* [1].

В другом исследовании буккальный эпителий использовали в качестве материала для определения темпа старения организма с помощью теломерного теста. Методом ПЦР в режиме реального времени в лимфоцитах крови и буккального эпителия измеряли абсолютную длину теломер у здоровых доноров и пациентов с болезнью Альцгеймера. Установлено, что в обоих типах клеток длина теломер у здоровых людей была достоверно выше, чем у пациентов с нейродегенеративным заболеванием. При этом длина теломер в образцах буккального эпителия была на 52—74% короче по сравнению с соответствующими образцами лимфоцитов крови. Таким образом, буккальный эпителий может являться альтернативным материалом для проведения теломерного теста, преимуществом которого, по сравнению с лимфоцитами, становится неинвазивность получения [1].

По другим данным для косвенного определения биологического возраста можно использовать морфологические особенности ядер буккальных клеток. В пожилом возрасте у здоровых доноров количество микроядер в буккальном эпителии возрастает на 366%, количество гетерохроматина увеличивается на 45,8%, количество клеток с кариорексисом — на 439% и количество клеток со смещенным ядром — на 233% по сравнению с аналогичными показателями у молодых. По мнению авторов, различия между морфологическим профилем ядер буккальных клеток при нормальном и ускоренном старении отражают системные процессы повреждения ДНК, пролиферации и апоптоза буккальных эпителиоцитов в процессе старения [1].

Применение метода иммуногистохимии для верификации сигнальных молекул-маркеров старения в клетках буккального эпителия является актуальной задачей молекулярной биологии и геронтологии. Существуют работы, свидетельствующие о корреляции между экспрессией маркеров клеточного цикла и возрастной патологией. Например, в культуре клеток карциномы буккального эпителия, полученной от курильщика 48 лет, было верифицировано изменение экспрессии следующих маркеров клеточного старения и апоптоза: *p21 (CIP1)*, *p27 (KIP1)*, *p16 (INK4a)*, *Bax*, *Fas* и *Bcl-2-like protein*. Среди указанных белков общепризнанным маркером клеточного старения является *p16 (INK4a)*. Определение его экспрессии в клетках буккального эпителия может являться важным маркером не только ускоренного старения, но и различной возрастной патологии, поскольку этот маркер вовлечен в ряд сигнальных молекулярных каскадов [1, 9].

Установлено, что с возрастом в клетках млекопитающих экспрессия белка *p16/INK4a* значительно повышается. Этот белок является супрессором опухолей. Белок *p16/INK4a* определен в *T*-лимфоцитах периферической крови человека. В исследовании на 170 здоровых донорах было показано, что его концентрация в крови возрастает при увеличении биологического возраста и неблагоприятных экзогенных воздействиях, но не зависит от пола и массы тела пациентов. Кроме того, экспрессия *p16/INK4a* в *T*-клетках крови коррелировала с концентрацией *IL-6* в плазме крови, что указывает на взаимосвязь состояния иммунной системы и процессов молекулярного старения [1, 9].

Таким образом, буккальный эпителий является доступным материалом, позволяющим оценивать биологический возраст человека по показателям электрофизиологических характеристик ядер клеток, отслеживать процесс ускоренного старения при возрастной патологии и эффективность лечения. Буккальный эпителий можно рассматривать как альтернативный источник биологического материала для теломерного теста, а морфологические особенности ядер эпителиоцитов отражают темпы ускоренного старения при наследственных и нейродегенеративных заболеваниях. Перспективным направлением использования буккального эпителия в качестве объекта для оценки темпа старения организма является иммуногистохимический анализ сигнальных молекул, участвующих в процессах пролиферации и апоптоза [1].

### Субстраты ротовой жидкости

Ротовая жидкость — это биологическая жидкость, которая включает в себя секрет слюнных желез, микрофлору и продукты ее жизнедеятельности, содержимое пародонтальных карманов, десневую жидкость, десквамированный эпителий, распад мигрирующих в полость рта лейкоцитов, остатки пищевых продуктов и т. д. Содержание в ней большого количества различных веществ, клеток, клеточных продуктов делает ее важным объектом для исследований. В организме человека, в том числе в ротовой жидкости, существует ряд веществ, концентрация которых при старении возрастает [13]. Вместе с ними, напротив, определяются вещества, содержание которых при старении падает. Определение концентрации данных маркеров в ротовой жидкости может быть использовано для оценки биологического возраста и индивидуальных темпов старения организма. В доступной литературе описаны следующие основные вещества-маркеры старения [9].

Таблица

#### Гены, связанные с апоптозом, экспрессия которых значительно коррелирует с возрастом

Сверхэкспрессируемые с возрастом гены	Недостаточно экспрессируемые с возрастом гены
Интерлейкин 1 альфа (Interleukin 1 alpha)	Кальциневрин А бета (Orthologous to protein phosphatase 3, catalytic subunit, beta isoform (Calcineurin A beta))
Регулятор апоптоза Bcl-2, белок 1 (Orthologous to Bcl-2-related protein A1)	Инсулиноподобный фактор роста 1 (Orthologous to Insulin-like growth factor 1 receptor)
Регулятор апоптоза, подобный Bcl-2, изоформа 1 (Similar to Bcl-2-like 1 isoform 1)	Суперсемейство рецепторов TNF, член 6 (TNF receptor superfamily, member 6)
Каспаза 10, связанная с апоптозом цистеиновая протеаза (Caspase 10, apoptosis-related cysteine protease)	Тубулин-тирозин-лигаза-подобная семья, член 4 (Tubulin tyrosine ligase-like family, member 4)

Определение концентрации данных веществ в ротовой жидкости и клетках слизистой оболочки позволяет оценить состояние организма пациента, темпы его старения и спрогнозировать развитие некоторых ассоциированных с возрастом заболеваний [9].

Как было отмечено выше, для пациентов пожилого возраста характерно преобладание определенных заболеваний полости рта и проявлений соматической патологии. Доказано, что пациенты пожилого и старческого возраста имеют состав и свойства твердых тканей зубов, отличающиеся от молодых пациентов, что влечет за собой нарушение адгезии композиционных материалов и необходимость коррекции методов реставрации зубов [5]. Изменение условий в полости рта, нарушение состава ротовой жидкости, снижение ее количества (ксеростомия) ведут к распространению кариеса зубов, появлению полостей атипичной локализации [10]. Дистрофические изменения в тканях пародонта часто усугубляются когнитивными нарушениями, препятствующими индивидуальной гигиене полости рта [4]. В изменившихся условиях полости рта и организма в целом у пациентов пожилого возраста развивается ситуация, предрасполагающая к развитию гиперкератоза, язвенных поражений слизистой оболочки рта, опухолей [8].

Таким образом, использование доступных субстратов полости рта предоставляет широкие возможности для определения веществ-предикторов старения, прогнозирования темпов старения, определения биологического возраста пациента. Исходя из полученных данных о состоянии организма и полости рта пациентов, можно составить рекомендации по индивидуальной коррекции образа жизни, индивидуальную программу профилактики заболеваний, план комплексного стоматологического лечения и лечения у смежных специалистов.

### Литература

1. Буккальный эпителий как объект оценки биологического возраста и темпа старения организма/Е.В. Седов, Н.С. Линькова, К.Л. Козлов, Т.В. Кветная, С.С. Коновалов // Успехи геронтологии. – 2013. – Т. 26, № 4. – С. 610–613.
2. Ильницкий, А. Здоровое старение/А. Ильницкий, Н. Позднякова, И. Носкова // Наука и инновации. – 2016. – № 12 (166). – С. 18–21.
3. Колосницына, М. Государственная политика активного долголетия: о чем свидетельствует мировой опыт/М. Колосницына, Н. Хоркина // Демографическое обозрение. – 2016. – Т.3, № 4. – С. 27–46.
4. Association between periodontitis and cognitive impairment: analysis of national health and nutrition examination survey (NHANES) –III/C. E. Sung, R. Y. Huang, W. C. Cheng, T. W. Kao, W. L. Chen // J Clin Periodontol. – 2019. – № 1. doi: 10.1111/jcpe. 13155. [Epub ahead of print]
5. Atraumatic vs conventional restorative treatment for root caries lesions in older patients: Meta- and trial sequential analysis/G. Göstemeyer, C. da Mata, G. McKenna, F. Schwendicke // Gerodontology. – 2019. – Vol. 24. doi: 10.1111/ger. 12409. [Epub ahead of print]
6. Wyatt, C. C. L. Changes in Oral Health and Treatment Needs for Elderly Residents of Long-Term Care Facilities Over 10 Years/C. C. L. Wyatt, T. Kawato // J Can Dent Assoc. – 2019. – № 85.
7. Chung, J. Delivering Mobile Dentistry to the Geriatric Population—The Future of Dentistry/J. Chung. // Dent. J. – 2019. – № 7 (62). doi:10.3390/dj7020062
8. Distribution and prevalence of oral mucosal lesions in residents of old age homes in Delhi, India/N.R. Yadav, M. Jain, A. Sharma, R. Yadav, M. Pahuja, V. Jain // Nepal J Epidemiol. – 2018. – № 8 (2). – P. 727–734.
9. Effects of aging on apoptosis gene expression in oral mucosal tissues/O.A. Gonzalez, M. J. Novak, S. Kirakodu, A. J. Stromberg, Shu Shen, L. Orraca, J. Gonzalez-Martinez, J. L. Ebersole // Apoptosis. – 2013. – № 18 (3). – P. 249–259.
10. Factors associated with hyposalivation and xerostomia in older persons in South Brazil/R.S. Rech, F.N. Hugo, L.H. D. N. Tôrres, J.B. Hilgert // Gerodontology. – 2019. – Vol. 30. doi: 10.1111/ger. 12415. [Epub ahead of print]
11. Strivens, E. It's time to move from researching problems to providing solutions/E. Strivens, C. Stirling // Australas J Ageing. – 2019. – № 38. – P. 78–79.
12. Oral health as a gateway to overall health and well-being: Surveillance of the geriatric population in the United States/M. Hung, R. Moffat, G. Gill, E. Lauren, B. Ruiz-Negrón, M.N. Rosales, J. Richey, F.W. Licari // Spec Care Dentist. – 2019. – Vol. 14. doi: 10.1111/scd. 12385. [Epub ahead of print]
13. Особенности определения качества жизни у пациентов пожилого и старческого возраста/Р.А. Салеев, Н.С. Федорова, Г.Т. Салеева, В.Н. Викторov // Проблемы стоматологии. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 84–87.

## DIAGNOSTIC METHODS FOR PREMATURE AGING BY BIOLOGICAL MATERIALS OF THE ORAL CAVITY. LITERATURE REVIEW

Sementsova E.A., Mandra J.V., Bazarny V.V., Svetlakova E.N., Polushina L.G., Zhegalina N.M.

*Ural state medical university, Ekaterinburg*

**Summary.** The oral cavity is an accessible area for the study of markers (predictors) of aging. Various objects of research can be obtained from the oral cavity in a non-invasive way: oral fluid, gingival fluid, saliva, buccal epithelium, dental plaque, etc. These research objects are very informative and can be used for in vivo diagnostics of the biological age and rate of aging of the body. Buccal epithelium is an easily accessible material that allows to evaluate the biological age of a person. Determination of the concentration of aging markers in the oral fluid can be used to assess the biological age and individual rates of aging of the body. Based on the obtained data on the state of the patient's body and oral cavity, the doctor can made recommendations on individual correction of the patient's lifestyle, an individual disease prevention program, a comprehensive dental treatment and treatment plan for related specialists.

**Keywords:** *premature aging, aging markers, oral cavity, non-invasive diagnosis, buccal epithelium, oral fluid*