

И.В. Решетов

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пластической хирургии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

Е.В. Кочурова

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры ортопедической стоматологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

В.Н. Николенко

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

А.А. Муханов

аспирант кафедры ортопедической стоматологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

I.V. Reshetov

Academic of the RAS, MD, DMD, PhD, Head of the Department of Plastic Surgery, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

E.V. Kochurova

MD, DMD, PhD, Docent, Professor of the Department of Prosthetic Dentistry, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

V.N. Nikolenko

MD, DMD, PhD, head of the Department of Human Anatomy, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

A.A. Mukhanov

Post-graduate student of the Department of Prosthetic Dentistry, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

ВЛИЯНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА НА ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ

INFLUENCE OF INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES ON THE PROTEOMIC ANALYSIS

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Муханов Александр Алексеевич, аспирант кафедры ортопедической стоматологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)
Адрес: 140 054, РФ, Московская обл., Котельники, ул. Малая Колхозная, д. 11
Тел.: +7 (901) 798-53-20; e-mail: muhanov.aleksandr@mail.ru
Статья поступила: 17.11.2017
Статья принята: 20.11.2017

CONTACT INFORMATION

Mukhanov Alexander Alekseevich, Post-graduate student of the Department of Prosthetic Dentistry of Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «I.M. Sechenov First Moscow State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)
Address: 140 054, Moscow region, Kotelniki, Malaya Kolkhoznyaya, 11
Tel.: +7 (901) 798-53-20; e-mail: muhanov.aleksandr@mail.ru
Article received: 17.11.2017
Article approved: 20.11.2017

Аннотация

В данной работе исследуется местный иммунитет слизистой оболочки полости рта у пациентов с отягощенным стоматологическим статусом при плоскоклеточном раке посредством изучения экспрессии матриксинов и онкомаркеров.

В роли составляющих признаков стоматологического статуса были изучены: использование съемных и несъемных протезов, кариозные поражения зубов, твердые и мягкие зубные отложения, острые края коронковых пломб, сколы и трещины зубов и поломки протезов. Все полученные данные были сравнены с таковыми у пациентов с санированной полостью рта, как с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта (ПЛР СОПР), так и группы контроля.

Так как неинвазивное тестирование приобретает все большую популярность, то является актуальным изучение местного иммунитета посредством использования свободной нестимулированной слюны (ротовой жидкости) и определения биомаркеров типа металлопротеиназ.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак, слизистая оболочка полости рта, матриксины, стоматологический статус, биомаркеры, слюна, локальный иммунитет.

Abstract

In this work, we study the local immunity of the mucous membrane of the oral cavity in patients with compromised dental status in squamous cell carcinoma by examining the expression of matrixins and tumor markers.

In the role of the constituent characteristics of dental status were examined: the use of removable and fixed dentures, dental caries, hard and soft dental plaque, sharp edges of fillings, chipped and cracked teeth and broken dentures. Obtained results were compared with those in patients with sanitized oral cavity, as with squamous cell carcinoma of the mucosa of the oral cavity and of the control group.

Noninvasive testing has become increasingly popular and it is relevant to study local immunity through the use of free (unstimulated) saliva and identify biomarkers of type metalloproteinases and tumor markers.

Keywords: squamous cell carcinoma, mucosa of the oral cavity, matrixins, dental status, biomarkers, saliva, local immunity.

ВВЕДЕНИЕ

Современные результаты многоцентровых исследований показывают, что состояние полости рта, стоматологический статус играют значимую роль в регуляции местного иммунитета СОПР и челюстно-лицевой области (ЧЛО), что при определенных факторах или их сочетании негативно способствует возникновению патологий, в том числе опухолевого генеза.

Так, острые края зубов, протезов и пломб могут быть причиной хронической травмы СОПР [1], а наличие зубных отложений поддерживает острое или провоцирует рецидив хронического воспаления пародонта [2–6], что в совокупности может инициировать развитие ПЛР [7]. Определение уровня экспрессии матриксинов в зависимости от стоматологического статуса дает возможность прогнозирования развития и течения ПЛР СОПР в конкретной клинической ситуации [8, 9].

Цель исследования — определение влияния некоторых признаков стоматологического состояния полости рта статуса на локальный статус слизистой оболочки полости рта по содержанию биомаркеров в ротовой жидкости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследуемых пациентов мы разделили на 4 группы:

- 1-я — клинического контроля ($n = 12$, медиана возраста составила 36 ± 9 лет), здоровые люди без отягощенного общесоматического статуса, клинических признаков поражения пародонта, с высоким стоматологическим статусом;
- 2-я — клинического сравнения контроля ($n = 7$, медиана возраста составила 38 ± 13 лет), здоровые люди без отягощенного общесоматического статуса, но имеющие клинические проявления воспалительного процесса — катаральный гингивит или пародонтит легкой степени тяжести;
- 3-я — клинического исследования ($n = 14$, медиана возраста составила 53 ± 11 лет), пациенты с ПЛР СОПР, но без клинических признаков поражения пародонта;
- 4-я — клинического сравнения пациентов ($n = 28$, медиана возраста составила 52 ± 12 лет), пациенты с ПЛР СОПР и имею-

Таблица 1

Уровень экспрессии матриксинов в ротовой жидкости у пациентов без плоскоклеточного рака слизистой оболочки рта

Матриксин	1-я группа (клинического контроля)	2-я группа (клинического сравнения контроля)	
		гингивит	пародонтит
MMP-2	2,34 ± 0,21	1,58 ± 0,17	3,76 ± 1,80
MMP-8	23,8 ± 3,67	190,2 ± 14,23	68,7 ± 10,9
MMP-9	483,11 ± 95,16	216,03 ± 12,27	180,44 ± 28,05
TIMP-1	143,86 ± 25,78	116,86 ± 12,78	84,62 ± 8,27
TIMP-2	7,98 ± 1,05	33,58 ± 4,32	13,5 ± 1,7

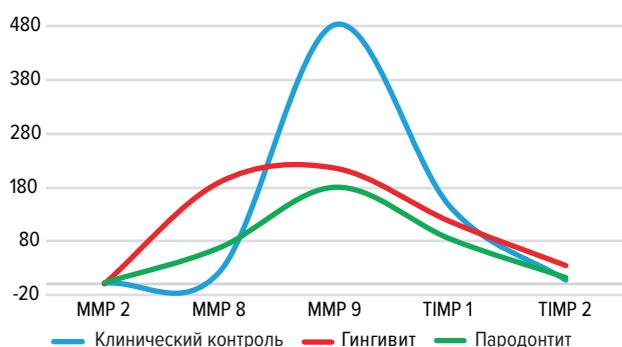


РИС. 1. Медиана экспрессии матриксинов в ротовой жидкости у пациентов без плоскоклеточного рака слизистой оболочки рта

щие клинические проявления воспалительного процесса — катаральный гингивит или пародонтит легкой степени тяжести.

Критериями исключения были отказ от участия в исследовании, пациенты в возрасте до 18 или после 88 лет, женщины в период беременности или лактации. Исследования проводили в клиниках и лабораториях Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации.

Исследовали уровень следующих матриксинов в ротовой жидкости — матриксные металлопротеиназы (ММР) 2, 8 и 9, а также тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМР) 1 и 2.

Забор ротовой жидкости производили за 2 ч до или после приема пищи, центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин с охлаждением до + 5°С. Аликвотировали надосадочную жидкость в объеме 500 мкл. Исследование биомаркеров ММР-2, ММР-8, ММР-9, ТИМР-1, ТИМР-2 выполняли методом иммуноферментного анализа на плашке с использованием наборов Human Total MMP-8,

Таблица 2

Уровень экспрессии матриксинов в ротовой жидкости у пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта

Матриксин	3-я группа (клинического исследования)	4-я группа (клинического сравнения)	
		гингивит	пародонтит
MMP-2	6,69 ± 1,81	9,42 ± 1,76	10,54 ± 18,67
MMP-8	457,80 ± 57,8	1243,23 ± 325,05	2103,64 ± 1856,64
MMP-9	332,21 ± 54,96	998,45 ± 83,12	1684,42 ± 1184,73
TIMP-1	324,55 ± 23,89	334,98 ± 42,67	480,61 ± 90,11
TIMP-2	27,97 ± 9,26	44,65 ± 6,46	51,72 ± 6,28

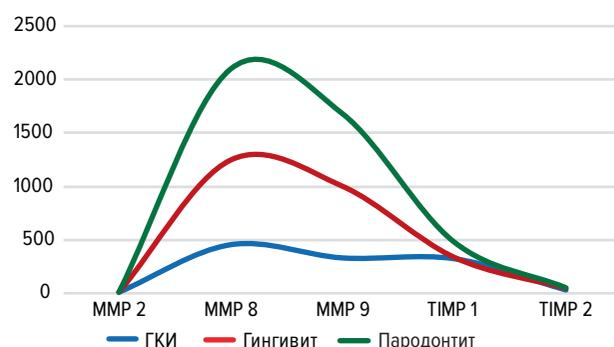


РИС. 2. Медиана экспрессии матриксинов в ротовой жидкости у пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта. ГКИ — группа клинического исследования

Human MMP-9, Human TIMP-1, Human TIMP-2 фирмы-производителя R&D Systems, UK.

Клинико-стоматологический осмотр включал опрос, осмотр, пальпацию, перкуссию, зондирование, при необходимости рентгенологическое исследование ЧЛЮ. Для определения состояния зубных рядов и пародонта использовали индексы КПУ, Силнесс—Лоэ, Мюллемана—Коуэлла и пародонтальный индекс Рассела (PI).

Морфологическую верификацию биопсийного материала проводили совместно с врачами патологоанатомического отделения. Для постановки окончательного клинического диагноза использовали цитологический, гистологический и иммуногистохимический методы. Микрофотографии препаратов получали при помощи микроскопа с фотомодулем Leica.

Результат клинического осмотра показал, что в 1-й группе индекс КПУ в среднем по группе составил 1,4 балла, индекс Силнесс—Лоэ — 0,7, Мюллемана—Коуэлла — 0,4, PI — 0; во 2-й группе индекс КПУ в среднем по группе составил 3,8 балла, индекс Силнесс—Лоэ — 2,1, Мюллемана—Коуэлла — 2,3, PI — 4,4; в 3-й группе индекс КПУ в сред-

нем по группе составил 4,2 балла, индекс Силнесс—Лоэ — 0,6, Мюллемана—Коуэлла — 1,2, PI — 1,8; в 4-й группе индекс КПУ в среднем по группе составил 5,6 балла, индекс Силнесс—Лоэ — 2,2, Мюллемана—Коуэлла — 2,4, PI — 5,2.

При анализе полученных данных (табл. 1) обнаружены наименьшие показатели ММР-8 у 1-й группы (клинического контроля), однако при воспалительных заболеваниях происходит значительный рост экспрессии, который при этом имеет нелинейный характер. Полученные результаты находятся в диапазоне референтных значений [10].

Наблюдается также рост уровня экспрессии TIMP-2 нелинейного характера. Стоит также отметить снижение экспрессии TIMP-1 при нарастании воспалительных явлений в пародонте, остальные матриксины показали нелинейные изменения уровня экспрессии (рис. 1).

Таким образом, результаты демонстрируют изменение уровней матриксинов в зависимости от состояния пародонта пациентов.

Согласно полученным результатам (табл. 2), абсолютно все матриксины показали повышение уровня экспрессии при нарастании воспалительных явлений в пародонте, что можно объяснить иммунным ответом организма на хроническое воспаление. При этом отметим линейный характер изменения уровня экспрессии (рис. 2).

Таким образом, экспрессия биомаркеров в ротовой жидкости показала корреляцию с состоянием пародонта. При исследовании групп пациентов без ПЛР СОПР наблюдается линейный рост ММР-8 и линейное же снижение TIMP-1 при нарастании воспалительных явлений в пародонте. Также был зафиксирован нелинейный рост экспрессии TIMP-2. Аналогичный рост уровней маркеров был получен при исследовании групп пациентов с ПЛК СОПР, при нарастании воспалительных явлений в пародонте наблюдался рост всех исследуемых маркеров.

Согласно данным протеомного анализа ротовой жидкости, стоматологический статус пациента напрямую влияет на появление (острые края, сколотые пломбы) и развитие плоскоклеточного рака органов полости рта. Отметим, что наиболее значительные изменения экспрессии матриксинов наблюдаются при заболевании пародонта, что предполагает возможное появление, развитие онкопатологии и без классической хронической травмы слизистой оболочки полости рта.

ЛИТЕРАТУРА

- Narayan T.V., Revanna G.M., Hallikeri U., Kuriakose M.A. Dental Caries and Periodontal Disease Status in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma: A Screening Study in Urban and Semiurban Population of Karnataka. *J. Maxillofac. Oral Surg.* 2014; 13(4): 435–443.
- Epstein J.B., Sciubba J.J., Abt E. Evidence base, epidemiology, correlations, and cause and effect: dental caries and head and neck cancer. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 2014; 118(1): 1–4.
- Акопова В.А., Быков И.М., Лапина Н.В., Скорикова Л.А., Быкова Н.И. Влияние состояния локальной системы неспецифической защиты ротовой жидкости на клинические показатели состояния пародонта. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2015, 1(150): 12–16.
[Akopova V.A., Bykov I.M., Lapina N.V., Skorikova L.A., Bykova N.I. The influence of the state of the local system of nonspecific protection of the oral fluid to clinical parameters of periodontal status. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik.* 2015, 1(150): 12–16 (In Russian).]
- Лапина Н.В. Подготовка больных с деформациями зубных рядов и сопутствующими заболеваниями к ортопедическому лечению. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2011, 24(4): 32–34.
[Lapina N.V. Preparation of patients with dentition deformities diseases and related to orthopaedic treatment. *Medical Bulletin of North Caucasus.* 2011, 24(4): 32–34 (In Russian).]
- Горкунова А.Р., Быков И.М., Басов А.А., Лапина Н.В. Изменение иммунологической реактивности и функционирование тиоловой системы антиоксидантной защиты на локальном и системном уровне при хроническом пародонтите и коморбидной патологии. *Аллергология и иммунология.* 2014, 15(3): 186–190.
[Gorkunova A.R., Bykov I.M., Basov A.A., Lapina N.V. The change in immune responsiveness and functioning of the thiol antioxidant defense system in the local and systemic level in chronic periodontitis and comorbid pathology. *Allergology and immunology.* 2014, 15(3): 186–190 (In Russian).]
- Лапина Н.В., Скориков Ю.В., Аринкина А.С., Акопова В.А. Динамика показателей качества жизни больных с сопутствующими заболеваниями в процессе стоматологической ортопедической реабилитации. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2013; 6(141): 114–117.
[Lapina N.V., Skorikov Yu.V., Arinkina A.S., Akopova V.A. The dynamics of life quality indexes in patients with concomitant diseases during stomatological orthopaedic rehabilitation. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik.* 2013; 6(141): 114–117 (In Russian).]
- Moergel M., Kämmerer P., Kasaj A., Armouti E., Alshihri A. et al. Chronic periodontitis and its possible association with oral squamous cell carcinoma — a retrospective case control study. *Head Face Med.* 2013; 9: 39.
- Кочурова Е.В., Козлов С.В., Медведев Ю.А., Николенко В.Н., Басин Е.М., Петрук П.С. Стоматологический статус пациентов с новообразованиями челюстно-лицевой области. *Российский стоматологический журнал.* 2014; 6: 20–23.
[Kochurova E.V., Kozlov S.V., Medvedev Yu.A., Nikolenko V.N., Basin E.M., Petruk P.S. Dental status of the patients with maxillofacial tumours. *Russian dental journal.* 2014; 6: 20–23 (In Russian).]
- Николенко В.Н., Вялков А.И., Мартынич С.А., Глухова Е.А. О проблемах формирования университетов мирового уровня и рейтингах позиционирования. *Сеченовский вестник.* 2014; 1(15): 5–14.
[Nikolenko V.N., Vyalkov A.I., Martynchik S.A., Glukhova E.A. The problems of formation of world class universities and rankings positioning. *Sechenovskiy vestnik.* 2014; 1(15): 5–14 (In Russian).]
- Заявка на патент на изобретение RU 2 017 105 149 А (положительный приоритет от 17.02.2017). Способ качественного определения стоматологического статуса пациента с воспалением слизистой оболочки альвеол

лярного отростка челюсти по содержанию биомаркеров в ротовой жидкости. Кочурова Е.В., Муханов А.А., Николенко В.Н.; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет).

[The patent application for the invention RU 2 017 105 149 A (positive priority from the 17.02.2017). Method the qualitative

determination of the dental status of a patient with inflammation of the mucous membrane of the alveolar process of the jaw on the content of biomarkers in oral fluid. Kochurova E.V., Mukhanov A.A., Nikolenko V.N.; applicant and patentee Federal STATE Autonomous educational institution of First Moscow state medical University them. I.M. Sechenov Of Ministry Of Healthcare (Sechenovskiy University) (In Russian).]