

УДК 616.516-053.88 07:616.311-018.74

DOI: 10.34215/1609-1175-2024-1-35-38



Нейротрофины и фактор роста эндотелия сосудов в ротовой жидкости пациентов пожилого возраста: значение в диагностике хронического пародонтита и красного плоского лишая полости рта

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

Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

Цель: оценить содержание фактора роста эндотелия сосудов А и мозгового нейротрофического фактора в ротовой жидкости пациентов зрелого и пожилого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом, пациентов пожилого возраста с красным плоским лишаем слизистой оболочки полости рта. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 56 человек. Контрольную группу составили здоровые добровольцы молодого возраста от 18 до 44 лет ($n = 10$). В группу сравнения вошли относительно здоровые лица пожилого возраста от 60 до 74 лет ($n = 12$). Были выделены группы пациентов с возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями: с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести зрелого возраста от 45 до 59 лет ($n = 10$) и пожилого возраста ($n = 14$), с красным плоским лишаем слизистой рта пожилого возраста ($n = 10$). Пациенты прошли стоматологическое обследование. Методом мультипараметрического флуоресцентного анализа с магнитными микросферами (xMAP, Luminex 200, USA) определяли содержание нейротрофинов и фактора роста эндотелия сосудов А в РЖ (BDNF/ NGF beta/ VEGF-A Human ProcartaPlex Simplex Kit, Invitrogen, USA) согласно протоколу производителя. **Результаты.** Отсутствовали различия в уровне мозгового нейротрофического фактора и фактора роста нервов бета между исследованными группами. Установлено, что пациенты пожилого возраста с красным плоским лишаем слизистой рта характеризовались наибольшим содержанием фактора ангиогенеза, для оценки диагностической ценности которого был выполнен ROC-анализ. Тест отличался умеренной точностью ($AUC = 0,875$). **Заключение.** Мы считаем, что можно рассматривать факторы роста эндотелия сосудов А как инструмент лабораторного мониторинга пациентов пожилого возраста с красным плоским лишаем слизистой рта.

Ключевые слова: ротовая жидкость, мозговой нейротрофический фактор, фактор роста эндотелия сосудов, старение, биомаркеры

Поступила в редакцию: 10.07.23. Получена после доработки: 07.08.23, 10.08.23, 09.11.23. Принята к публикации: 07.03.24

Для цитирования: Базарный В.В., Копенкин М.А., Полушина Л.Г., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В. Нейротрофины и фактор роста эндотелия сосудов в ротовой жидкости пациентов пожилого возраста: значение в диагностике хронического пародонтита и красного плоского лишая полости рта. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2024;1:35–38. doi: 10.34215/1609-1175-2024-1-35-38

Для корреспонденции: Копенкин Максим Александрович – аспирант, младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Уральского государственного медицинского университета (620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3); ORCID: 0000-0002-6092-3734; тел.: +7 (922) 220-43-85; e-mail: maximkopenkin@yandex.ru

Neurotrophins and vascular endothelial growth factor in oral fluid of elderly patients: diagnostic value for chronic periodontitis and oral lichen planus

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

Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

Objective. To evaluate the vascular endothelial growth factor A and brain-derived neurotrophic factor in the oral fluid of mature and elderly patients with chronic periodontitis and oral lichen planus. **Materials and methods.** The study involved 56 participants. The control group consisted of healthy volunteers aged 18–44 ($n=10$). The comparison group included relatively healthy elderly people aged 60–74 ($n=12$). The distinguished groups of patients with age-associated dental diseases included: moderate chronic periodontitis mature patients of 45–59 years ($n=10$) and elderly patients ($n=14$), as well as elderly patients with oral lichen planus ($n=10$). The patients underwent dental examination. The content of neurotrophins and vascular endothelial growth factor A in saliva (BDNF/ NGF beta/ VEGF-A Human ProcartaPlex Simplex Kit, Invitrogen, USA) was determined by the multiparametric fluorescence analysis with magnetic microspheres (xMAP, Luminex 200, USA) in compliance with the manufacturer protocol. **Results.** The groups reveal no differences in the level of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor beta. The elderly patients with oral lichen planus were found to obtain the highest angiogenesis factor, which diagnostic value was assessed by ROC-analysis. The test appears moderately accurate ($AUC=0.875$). **Conclusion.** Vascular endothelial growth factor A can be considered for laboratory monitoring of elderly patients with oral lichen planus.

Keywords: oral fluid, brain-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, aging, biomarkers

Received 10 July 2023; Revised 7, 10 August 2023, 11 November 2023; Accepted 07 March 2024

For citation: Bazarnyi V.V., Kopenkin M.A., Polushina L.G., Sementsova E.A., Mandra Yu.V. Neurotrophins and vascular endothelial growth factor in oral fluid of elderly patients: diagnostic value for chronic periodontitis and oral lichen planus. *Pacific Medical Journal*. 2024;1:35–38. doi: 10.34215/1609-1175-2024-1-35-38

Corresponding author: Maksim A. Kopenkin, postgraduate student, junior research fellow at the central scientific research laboratory of Ural State Medical University (3 Repina Street, Yekaterinburg, 620028, Russia); ORCID: 0000-0002-6092-3734; tel.: +7 (922) 220-43-85; e-mail: maximkopenkin@yandex.ru

Важнейшим компонентом здоровья как состояния физического и психического благополучия является здоровье полости рта (Oral health). Это многогранное понятие, которое подразумевает отсутствие стоматологических заболеваний и сохранность физиологических функций ротовой полости [1]. Особое значение здоровье полости рта приобретает у людей пожилого возраста, так как указанные лица относятся к группе повышенного риска развития стоматологических заболеваний, ассоциированных со старением, таких как хронический генерализованный пародонтит (ХГП) и красный плоский лишай слизистой оболочки рта (КПЛ) [2, 3].

В патогенезе возраст-ассоциированных заболеваний полости рта определенное значение имеет нарушение ангиогенеза и микроциркуляции, важными регуляторами которых являются факторы роста эндотелия сосудов. Выделяют несколько белков данного семейства, однако считают, что наибольшей физиологической значимостью обладает фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A) [4]. Хроническое воспаление, определяющее некоторое патогенетическое сходство ХГП и КПЛ, характеризуется вовлечением в процесс VEGF-A через активацию иммунных клеток. Ангиогенная стимуляция сначала действует как провоспалительный фактор, обуславливая местный отек через повышение проницаемости сосудов. Затем образование новых капилляров способствует регенерации тканей, обеспечивая оксигенацию и поступление иммунных клеток, метаболитов в очаг воспаления [5]. Особенностью регенеративных процессов при возраст-ассоциированных заболеваниях полости рта является активное участие мезенхимальных стволовых клеток – пульпы зуба, периодонтальной связки, десны. Эти клетки продуцируют факторы ангиогенеза, а также нейротрофические факторы, в частности мозговой нейротрофический фактор (BDNF) и фактор роста нервов бета (NGF- β) [6]. Известно также, что BDNF и NGF- β экспрессируются в тканях пародонта, а NGF- β продуцируется слюнными железами и клетками слизистой оболочки рта, играя определенную роль в регенерации тканей [7, 8]. Определение рассмотренных факторов роста в ротовой жидкости (РЖ), органоспецифическом компоненте полости рта, представляет интерес в диагностике и лабораторном мониторинге указанных возраст-ассоциированных заболеваний.

Вышеизложенное определило цель данного исследования – оценить содержание в РЖ VEGF-A и BDNF у пациентов зрелого и пожилого возраста с ХГП и КПЛ.

Материалы и методы

В открытом одноцентровом одномоментном исследовании было обследовано 56 человек. Контрольную группу составили 10 здоровых добровольцев молодого возраста от 18 до 44 лет (медиана – 38,00 (интерквартильный размах составил 32,00–41,00)). Была выделена

группа сравнения, в которую вошли 12 относительно здоровых человек, не имеющих признаков возрастных стоматологических заболеваний, пожилого возраста от 60 до 74 лет (63,00 (60,75–69,25)). Мы сформировали три группы пациентов с возраст-ассоциированными заболеваниями: в первую вошли 10 пациентов с ХГП средней степени тяжести зрелого возраста от 45 до 59 лет (50,00 (47,50–52,50)); во вторую – 14 пациентов пожилого возраста (68,00 (66,00–70,00)) с ХГП средней тяжести; в третью – 10 пациентов пожилого возраста (69,00 (69,00–73,00)) с КПЛ. Возрастная периодизация основана на классификации, рекомендованной VII Всесоюзной научной конференцией по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии.

Клиническая часть работы проведена в стоматологической клинике УГМУ. У всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Все пациенты прошли комплексное стоматологическое обследование, включавшее основные (опрос, осмотр) и дополнительные методы (рентгенологическое исследование, индексная оценка стоматологического статуса). Рентгенологическое исследование включало в себя 3D-исследование на аппарате Orthophos SL (Sirona). Для всех пациентов был определен индекс интенсивности кариеса зубов (КПУ) как сумма кариозных, пломбированных и удаленных зубов. В качестве гигиенического индекса был использован упрощенный индекс гигиены (УИГ) (ONI-S, Green – Vermillion, 1964). В качестве пародонтального индекса для оценки наличия и распространенности воспаления десны был рассчитан папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА).

Испытуемые пожилого возраста характеризовались полиморбидностью (сочетанием 2–3 соматических и стоматологических заболеваний). Критерии включения пациентов: соответствие требованиям принятой возрастной периодизации, клиническое подтверждение стоматологического статуса, отсутствие тяжелой соматической патологии в стадии суб- и декомпенсации. Критерии исключения пациентов: наличие острых травм, сахарный диабет 1-го, 2-го типа. Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Helsinki, 2000). Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета УГМУ (протокол № 8 от 21.10.2022 г.).

Материалом для исследования послужила нестимулированная РЖ, полученная путем пассивного слюноотечения в микропробирку. Концентрацию факторов роста в РЖ определяли методом мультипараметрического флуоресцентного анализа с магнитными микросферами (технология xMAP, Luminex 200, USA) [9]. Определяли содержание BDNF (BDNF Human ProcartaPlex Simplex Kit, Invitrogen, USA), VEGF-A (VEGF-A Human ProcartaPlex Simplex Kit, Invitrogen, USA) и NGF- β (NGF beta Human ProcartaPlex Simplex Kit, Invitrogen, USA) согласно протоколу производителя.

Статистическая обработка результатов была проведена с помощью языка программирования Python (версия 3.9.12), открытых библиотек SciPy (версия 1.7.3), scikit-posthocs (версия 0.7.0), Scikitlearn (версия 1.0.2). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены как медиана, 25-й; 75-й квартиль – Ме (Q1–Q3). Распределение данных оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Использовали критерий Краскела – Уоллиса (непараметрическая альтернатива ANOVA) при сравнении трех и более групп, а для проверки различий между отдельными группами применялся тест Данна с поправкой Холма – Бонферрони. Для сравнения двух независимых групп использовали критерий Манна – Уитни. При оценке диагностической эффективности использовали ROC-анализ с оценкой площади под ROC-кривой (AUC), определением диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) теста.

Результаты исследования

В данной работе было обследовано 56 человек трех возрастных групп, 34 из которых страдали возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями. Для объективной оценки состояния здоровья полости рта в исследуемых группах были проведены следующие индексы: КПУ, РМА и УИГ (табл. 1).

Значение индекса интенсивности кариеса зубов КПУ не имело различий между группами. Пациенты пожилого возраста с ХГП и КПЛ имели схожие результаты оценки индекса РМА. Индекс УИГ отличался наибольшими значениями в группе пациентов пожилого возраста с ХГП и в группе с КПЛ.

В данной работе определяли содержание BDNF и VEGF-A в РЖ у относительно здоровых лиц пожилого возраста (группа сравнения), пациентов зрелого

и пожилого возраста с ХГП средней степени тяжести, пациентов пожилого возраста с КПЛ (табл. 2).

Не было выявлено отличий в содержании BDNF между исследованными когортами. Было установлено, что пациенты пожилого возраста с КПЛ имели статистически значимо больший уровень VEGF-A в РЖ по сравнению с группой сравнения и контрольной группой. В одной из групп было оценено содержание NGF- β (пг/мл) в РЖ. Уровень указанного пептида в группе пациентов зрелого возраста с ХГП составил 38,40 (14,77–49,03), что было несколько выше, чем в контрольной группе – 17,60 (6,30–38,40). Однако различия в содержании NGF- β отсутствовали ($p = 0,16$).

Был выполнен ROC-анализ для оценки диагностической ценности определения VEGF-A в РЖ. Установлено, что тест отличался умеренной точностью при выявлении пациентов с КПЛ при сравнении со здоровыми людьми молодого и пожилого возраста. При значении критической точки (cut-off) «более 642,80 пг/мл» AUC составил 0,875, ДЧ – 100,00%, ДС – 83,40%.

Обсуждение полученных данных

Пациенты с пожилого возраста с ХГП и КПЛ имели сопоставимые значения индекса РМА, отличаясь неудовлетворительным уровнем гигиены. Это согласуется с представлениями об этиологии и патогенезе рассматриваемых заболеваний, так как нарушение микробиома полости рта и образование биопленок как ведущий этиологический фактор пародонтита может опосредовать развитие КПЛ за счет локального воспаления СОПР и модуляции аутоиммунных реакций [10].

В данной работе была проведена оценка уровня нейротрофинов в РЖ у пациентов пожилого возраста с ХГП и КПЛ. Мы не обнаружили различий в уровнях слюварного BDNF и NGF- β в обследованных группах. Сообщалось, что пациенты с ХГП отличались выраженной экспрессией

Клиническая характеристика пациентов

Таблица 1

Индекс	Группа сравнения (n = 12)	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n = 14)	Пациенты зрелого возраста с ХГП (n = 10)	Пациенты пожилого возраста с КПЛ (n = 10)	Контрольная группа (n = 10)	p
КПУ	20,0 (18,0–22,0)	25,0 (20,0–25,5)	11,00 (10,2–23,7)	23,0 (21,7–24,0)	11,5 (10,2–16,7)	0,443
РМА	43,0 (35,0–54,0)	67,0 (60,0–77,5)	48,0 (32,2–53,2)	71,5 (56,7–84,0)	14,5 (11,5–19,0)	0,019
УИГ	1,9 (1,9–2,0)	2,6 (2,2–2,7)	1,9 (1,7–2,0)	2,5 (2,2–2,8)	1,3 (1,0–1,6)	0,009

Содержание BDNF и VEGF-A в РЖ в исследованных группах

Таблица 2

Показатель	Группа сравнения (n = 12)	Группа пожилого возраста с ХГП (n = 14)	Группа зрелого возраста с ХГП (n = 10)	Группа пожилого возраста с КПЛ (n = 10)	Контрольная группа (n = 10)	p
BDNF, пг/мл	15,80 (15,80–299,52)	15,50 (15,25–241,65)	15,00 (7,50–1142,00)	16,00 (15,60–19,50)	106,50 (15,30–197,70)	0,526
VEGF-A, пг/мл	454,20 (207,47–566,22) ¹	457,10 (281,50–1178,65)	742,60 (537,10–747,45)	1414,00 (1293,00–1496,00) ^{1,2}	175,40 (144,40–582,60) ²	0,017

¹ $p = 0,031$; ² $p = 0,019$.

BDNF в тканях пародонта по сравнению с контрольной группой [7]. При этом выработка BDNF стволовыми клетками пародонтальной связки снижалась по мере старения, что сопровождалось уменьшением экспрессии остеогенных пептидов с увеличением маркеров клеточного старения [11]. Оценка содержания NGF- β в РЖ отличалась аналитическими сложностями, поскольку основным источником данного нейротрофина в РЖ являются слюнные железы, продуцирующие преимущественно проформу NGF, а не зрелый NGF- β [12]. Вероятно, низкая концентрация исследованных нейротрофинов в РЖ при возраст-ассоциированных заболеваниях полости рта не позволила установить ожидаемые взаимосвязи.

Значимое место в патогенезе хронических воспалительных заболеваний отводится «дефициту» ангиогенеза, в частности ангиогенным факторам роста. В данном исследовании были установлены существенные различия в содержании VEGF-A между группой пациентов с КПЛ и здоровыми лицами пожилого и молодого возраста. Известно, что ткани СОПР характеризуются выраженной экспрессией VEGF при КПЛ, а пациенты с данным заболеванием отличаются более высоким уровнем VEGF в сыворотке крови по сравнению со здоровыми людьми [13]. Результаты проведенного ROC-анализа говорят о высокой диагностической ценности определения слюварного VEGF-A у пациентов пожилого возраста с КПЛ. В данном исследовании уровень VEGF-A РЖ у пациентов с ХГП не имел существенных отличий, хотя в литературе представлены данные, демонстрирующие ценность определения VEGF в РЖ при указанной патологии [4]. Отсутствие подобных результатов объясняется тем, что в приведенных исследованиях определяли суммарное содержание белков семейства VEGF. Поэтому можно с осторожностью предположить, что VEGF-A не является ключевым ангиогенным пептидом при ХГП.

Заключение

В данном исследовании оценивалось содержание нейротрофинов и одного из ведущих проангиогенных пептидов в РЖ пациентов с возраст-ассоциированными заболеваниями полости рта. Пациенты зрелого и пожилого возраста с ХГП и КПЛ не имели различий в содержании BDNF и NGF- β , что может быть вызвано их относительно невысокими концентрациями в РЖ. Пациенты пожилого возраста с КПЛ отличались наиболее высоким уровнем VEGF-A в РЖ. Эффективность оценки уровня слюварного VEGF-A при КПЛ характеризовалась умеренной точностью. Мы считаем, что можно рассматривать VEGF-A как инструмент лабораторного мониторинга пациентов пожилого возраста с КПЛ. Относительно невысокий уровень VEGF-A у пациентов зрелого и пожилого возраста с ХГП позволяет предположить, что VEGF-A не является ключевым проангиогенным фактором при данном заболевании.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: работа проводилась в рамках государственного задания «Генетические

и эпигенетические основы прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека». Регистрационный номер 122120100026-3.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – БВВ, МЮВ

Сбор и обработка материала – СЕА, ПЛГ

Статистическая обработка – КМА

Написание текста – БВВ, КМА

Редактирование – БВВ, МЮВ

Литература / References

1. Astvaldsdottir A, Bostrom AM, Davidson T, Gabre P, Gahnberg L, Sandborgh Englund G, Skott P, Stahlacke K, Tranaeus S, Wilhelmsson H, Wardh I, Ostlund P, Nilsson M. Oral health and dental care of older persons-A systematic map of systematic reviews. *Gerodontology*. 2018;35(4):290–304. doi: 10.1111/ger.12368
2. Cafiero C, Matarasso M, Marenzi G, Iorio Siciliano V, Bellia L, Sammartino G. Periodontal care as a fundamental step for an active and healthy ageing. *ScientificWorldJournal*. 2013;2013:127905. doi: 10.1155/2013/127905
3. González-Moles MA, Warnakulasuriya S, Gonzalez-Ruiz I, Gonzalez-Ruiz L, Ayen A, Lenouvel D, Ramos-Garcia P. Worldwide prevalence of oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. *Oral Diseases*. 2021;27(4):813–28. doi: 10.1111/odi.13323
4. Niklander S, Bordagaray MJ, Fernandez A, Hernandez M. Vascular endothelial growth factor: a translational view in oral non-communicable diseases. *Biomolecules*. 2021;11(1):85. doi: 10.3390/biom11010085
5. DiPietro LA. Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. *J Leukoc Biol*. 2016; 100(5):979–84. doi: 10.1189/jlb.4MR0316-102R
6. Liang C, Liao L, Tian W. Stem cell-based dental pulp regeneration: insights from signaling pathways. *Stem Cell Rev Rep*. 2021;17(4):1251–63. doi: 10.1007/s12015-020-10117-3
7. Correa JD, Pereira DS, Madeira MF, Queiroz-Junior CM, Souza DG, Teixeira MM, Costa JE, Teixeira AL, da Silva TA. Brain-derived neurotrophic factor in chronic periodontitis. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:373765. doi: 10.1155/2014/373765
8. Schenck K, Schreurs O, Hayashi K, Helgeland K. The role of nerve growth factor (NGF) and its precursor forms in oral wound healing. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2):386. doi: 10.3390/ijms18020386
9. Базарный В.В., Мандра Ю.В., Копенкин М.А., Абдулкеримов Т.Х., Максимова А.Ю., Полушина Л.Г. Нарушение баланса ангиогенных и нейрогенных полипептидов ротовой жидкости при переломах верхней челюсти. *Уральский медицинский журнал*. 2023;22(1):57–62. [Bazarnyi VV, Mandra YuV, Kopenkin MA, Abdulkirimov TK, Maximova AY, Polushina LG. Impairment of the balance of angiogenic and neurogenic polypeptides of the oral fluid in fractures of the maxilla. *Ural Medical Journal*. 2023;22(1):57–62 (In Russ.)]. doi: 10.52420/2071-5943-2023-22-1-57-62
10. Ide M, Karimova M, Setterfield J. Oral health, antimicrobials and care for patients with chronic oral diseases – a review of knowledge and treatment strategies. *Front Oral Health*. 2022;3: 866695. doi: 10.3389/froh.2022.866695
11. Meng L, Yang P, Zhang W, Zhang X, Rong X, Liu H, Li M. Brain-derived neurotrophic factor promotes orthodontic tooth movement by alleviating periodontal ligament stem cell senescence. *Cell Signal*. 2023;108:110724. doi: 10.1016/j.cellsig.2023.110724
12. Matin MJ, Li D, Peterson J, Taylor MK, Laurent HK, Lucas T, Granger SJ, Granger DA, Granger SW. Measuring nerve growth factor in saliva by immunoassay: a cautionary note. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;63:235–7. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.09.030
13. Al-Hassiny A, Friedlander LT, Parachuru VPB, Seo B, Hussaini HM, Rich AM. Upregulation of angiogenesis in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(2):173–8. doi: 10.1111/jop.12665