

На правах рукописи



ТРИФОНОВ

Николай Игоревич

**МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ АСПЕКТЫ ДИСФУНКЦИИ
БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У ЛЮДЕЙ
ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА
С ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ**

14.01.30 – геронтология и гериатрия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Белгород - 2018

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Оценка процессов развития патологии зубочелюстной системы у лиц старших возрастных групп представляется весьма актуальной задачей предиктивной медицины и геронтологии. На сегодняшний день рассматривается возможность применения буккального эпителия (БЭ) в качестве легко доступного биологического материала для проведения прижизненных молекулярно-клеточных исследований, позволяющих диагностировать различную соматическую патологию организма, в том числе и воспалительные поражения ткани пародонта [Кветная Т.В. и соавт., 2013].

В настоящее время БЭ применяется как альтернативный источник биологического материала для диагностики и оценки эффективности ряда заболеваний, а неинвазивность этой методики особенно важна при работе с пожилыми людьми. Буккальный эпителий в настоящее время рассматривают пограничной зоной между внешней и внутренней средой организма. Нарушения дифференцировки клеток и процессов клеточного обновления буккального эпителия, происходящие при нарушении функциональной активности клеток, в том числе и при старении организма, в целом могут показать функционирование системы гомеостаза организма. Поэтому и была предложена гипотеза, согласно которой возможно использование буккального эпителия, совместно с другими тканями, для определения биологического возраста человека. Исследования В.Х. Хавинсона показали, что данный метод является достаточно объективным [Хавинсон В.Х., 2013]. В исследованиях многих авторов было установлено, что полиморбидный фон, точнее, в большей степени продолжительность течения ассоциированных с возрастом заболеваний, напрямую коррелируют с биологическим возрастом человека. В частности, у всех людей старшей возрастной группы встречаются воспалительные заболевания пародонта [Волкова М.Н., 2009]. Воспаление пародонта у пожилых пациентов усугубляется множеством факторов, к которым относятся соматические заболевания и сам процесс старения [Цимбалистов А.В., 2011]. Особенно чувствительным к возникновению и развитию воспалительных заболеваний пародонта, а в процессе возрастных инволютивных изменений их течение усугубляется, является опорно-удерживающий аппарат зуба.

Значимость отрицательного влияния патологии пародонта воспалительного характера на организм в целом связана не только с высокой распространенностью и тяжестью заболевания, но и с низкой эффективностью проводимого лечения, так как до сих пор в полной мере не выявлены все механизмы этиологии и патогенеза изменений тканей пародонта, что и определяет невысокую эффективность консервативной терапии и профилактики заболевания. Высокая распространенность хронического пародонтита, низкая эффективность лечения, особенно у лиц пожилого и старческого возраста, свидетельствует об актуальности этой проблемы.

Цель исследования: выявить молекулярно-клеточные механизмы дисфункции буккального эпителия у пациентов среднего, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом.

Для достижения этой цели были поставлены и последовательно решены следующие **задачи**:

1. Оценить динамику экспрессии маркера воспаления TNF- α - в буккальном эпителии у людей среднего, пожилого и старческого возраста в норме и при хроническом пародонтите.

2. Изучить возрастные особенности экспрессии маркера митохондриального апоптоза AIF в буккальном эпителии у людей среднего, пожилого и старческого возраста в норме и при хроническом пародонтите.

3. Выявить возрастную динамику экспрессии маркеров старения и каспаза-зависимого апоптоза p53, p21, p16 в буккальном эпителии у людей среднего, пожилого и старческого возраста в норме и при хроническом пародонтите.

4. Оценить экспрессию маркера иммунной функции организма β -дифенсина-2 в буккальном эпителии у людей среднего, пожилого и старческого возраста в норме и при хроническом пародонтите.

5. Провести сравнительный анализ экспрессии изученных сигнальных молекул в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите и выявить потенциальные маркеры развития пародонтита у лиц старших возрастных групп.

Научная новизна работы

Впервые установлено, что у людей среднего, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом в буккальном эпителии экспрессия провоспалительного цитокина TNF- α возрастает в 7-10 раз по сравнению с этим показателем у здоровых доноров в соответствующих возрастных группах. Выявлены возрастные различия между экспрессией TNF- α в норме и при хроническом пародонтите: показано, что экспрессия этого фактора с возрастом увеличивается практически в 1,5 раза по сравнению с группой доноров среднего возраста.

Показано, что хронический генерализованный пародонтит приводит к гиперэкспрессии маркеров клеточного старения – p16, p21, p53 в буккальном эпителии. Экспрессия данных маркеров возрастает в 2-7 раз при наличии патологии пародонта по сравнению с группой здоровых доноров. Также выявлены возрастные различия в экспрессии маркеров p16, p21, p53 среди лиц старческого и пожилого возраста по сравнению с донорами среднего возраста в норме и при патологии. Показано, что площадь экспрессии данных маркеров каспаза-зависимого апоптоза увеличивается в среднем в 2-5 раза у лиц пожилого и старческого возраста по сравнению с донорами среднего возраста в норме и при патологии.

Новыми являются данные о том, что в норме в буккальном эпителии при переходе от среднего к старческому возрасту практически в 2 раза повышается синтез маркера митохондриального апоптоза AIF. При хроническом ге-

нерализованном пародонтите также наблюдается эта тенденция: экспрессия AIF увеличивается практически в 1,2 раза в сравнении с группой доноров среднего возраста.

Впервые выявлено, что у людей среднего, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом в буккальном эпителии экспрессия β -дифенсина-2 возрастает в 2-7 раз по сравнению с этим показателем у здоровых доноров в соответствующих возрастных группах. При этом впервые показано, что при хроническом генерализованном пародонтите экспрессия β -дифенсина-2 в 1,5-3,5 раза снижается при переходе от среднего к пожилому и старческому возрасту.

Практическая значимость работы

Выявленное изменение экспрессии паттерна сигнальных молекул при хроническом генерализованном пародонтите у людей разного возраста по сравнению с нормой может быть использовано для неинвазивной прижизненной диагностики этого заболевания на ранних стадиях развития и оценке эффективности проводимого лечения. Основываясь на полученных в работе данных, очень важно учитывать возрастные особенности экспрессии изученных сигнальных молекул (TNF- α , p16, p21, p53 AIF, β -дифенсина-2) в буккальном эпителии в норме, так как от этого во многом будет зависеть оценка выраженности патологических процессов при наличии хронического генерализованного пародонтита. Кроме того, полученные данные об изменении экспрессии в буккальном эпителии молекул апоптоза AIF, p16 у здоровых доноров разного возраста позволяют применять этот показатель для интегральной оценки старения организма человека, т.к. известно, что буккальный эпителий отражает многие системные сдвиги гомеостаза.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста в буккальном эпителии верифицировано повышение экспрессии провоспалительного цитокина TNF- α соответственно в 7,84; 9,94; 9,15 раза по сравнению со здоровыми донорами. Установлено повышение экспрессии провоспалительного цитокина TNF- α в буккальном эпителии пациентов старческого и пожилого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом в 1,38; 1,38 раза соответственно по сравнению с донорами среднего возраста.

2. В буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста площадь экспрессии маркера митохондриального апоптоза AIF возрастала соответственно в 4,59; 4,41; 2,82 раза по сравнению со здоровыми донорами. Установлено повышение экспрессии AIF в норме у лиц старческого возраста в 1,89 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста. Выявлено повышение экспрессии AIF у лиц пожилого и старческого возраста с хроническим пародонтитом в 1,14 и 1,16 раза соответственно по сравнению с донорами среднего возраста.

3. В буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонитом среднего, пожилого и старческого возраста площадь экспрессии маркеров каспаза-зависимого апоптоза p16, p21, p53 возрастала в 2-7 раза по сравнению со здоровыми донорами соответствующего возраста. Выявлено повышение маркеров p16, p21, p53 в 2-5 раза у лиц пожилого и старческого возраста в норме и при патологии по сравнению с донорами среднего возраста.

4. В буккальном эпителии пациентов среднего, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонитом площадь экспрессии β -дифенсина-2 повышалась соответственно в 7,76; 7,03; 2,11 раза по сравнению со здоровыми донорами. Выявлено снижение экспрессии β -дифенсина-2 у лиц пожилого и старческого возраста с хроническим пародонитом в 1,25 и 3,47 раза соответственно по сравнению с группой доноров среднего возраста.

5. Выявленное возрастное изменение экспрессии TNF- α , p16, p21, p53 AIF, β -дифенсина-2 в буккальном эпителии у пациентов с хроническим пародонитом может явиться основой для разработки нового метода оценки эффективности лечения этой патологии и ее диагностики на ранних стадиях.

Личный вклад автора

Личный вклад автора в диссертационное исследование состоял в анализе литературы по изучаемой проблеме, написании обзора по результатам проведенного анализа, разработке плана исследования, постановке цели и формулировании задач, проведении всех исследований с помощью молекулярно-клеточных методов, статистической обработке, анализе и описании полученных данных, а также в формулировании заключения, выводов и практических рекомендаций. Также автор принимал участие с докладами по выбранной тематике на конференциях, участвовал в написании тезисов и статей по теме диссертации.

Апробация работы

Основные результаты и положения диссертационной работы доложены и обсуждены на международной конференции «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии» (Санкт-Петербург, 2014); международной юбилейной конференции «100 лет Отговской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» (Санкт-Петербург, 2014); международной конференции «Пушковские чтения» (Санкт-Петербург, 2014); российской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы возрастной патологии в арктическом регионе: биологические, клинические и социальные аспекты» (г. Якутск, Республика Саха, Якутия, 2016); на конференции «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге». (Санкт-Петербург, 2016); научно-практической конференции «Инновационные российские технологии в геронтологии и гериатрии», посвященной 25-летию Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии (Санкт-Петербург, 2017).

Реализация результатов исследования

Результаты работы используются в научной, педагогической и практической деятельности АННО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» (г. Санкт-Петербург), ФГБУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург), ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (г. Белгород).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 3 статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК Минобрнауки РФ, и 10 тезисов докладов.

Связь с научно-исследовательской работой института

Диссертационная работа является научной темой, выполняемой по основному плану НИР АННО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Текст диссертации изложен на 120 страницах, содержит 6 таблиц, проиллюстрирован 12 рисунками. Список литературы содержит 179 источников, из них отечественных – 77, зарубежных – 102.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика исследуемого материала

Образцы буккального эпителия были получены у 90 пациентов, страдающих хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести и проходивших лечение на кафедре пропедевтики и профилактики стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ. Исследование образцов проводилось в лаборатории иммунологии старения АННО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». Проведено изучение образцов у 34 пациентов среднего возраста (45-59 лет), 32 пациентов пожилого возраста (60-74 года) и 24 пациентов старческого возраста (75-89 лет) с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести, и 77 пациентов без признаков воспалительной патологии пародонта: 27 пациентов среднего возраста, 25 пациентов пожилого возраста и 20 пациентов старческого возраста, поступивших по поводу клинических проявлений ишемической болезни сердца: стабильная стенокардия напряжения I-II функционального класса, хроническая сердечная недостаточность IIА стадии, гипертоническая болезнь 1-2 стадии. Все пациенты получали стандартную терапию по сердечно-сосудистой патологии (нитраты, β-блокаторы, ингибиторы АПФ, дезагреганты, антагонисты кальция, ноотропы, ангиопротекторы).

Клиническое состояние тканей пародонта оценивали с помощью 7 различных параметров: индекс кровоточивости (ИК), проба Шиллера-Писарева, индекс гигиены (ИГ), йодное число по Свракову, наличие и глубина зубодесневых карманов, подвижность зубов, комплексный периодонтальный индекс (КПИ). На основании этих данных был поставлен диагноз: хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести. При постановке диагноза использовали классификацию болезней пародонта, принятую на XVI пленуме Всесоюзного научного общества стоматологов (1983) и одобренную на президиуме одонтологии Российской Академии стоматологии (2001).

В качестве объекта исследования выбран БЭ людей разного возраста, так как он может рассматриваться в качестве доступного биологического материала для прижизненных молекулярно-клеточных исследований, позволяющих диагностировать ускоренное старение и возрастную патологию. Было проведено иммуноцитохимическое исследование ряда сигнальных молекул – маркеров функционального состояния слизистой оболочки щеки и гомеостаза организма в целом.

Забор буккального эпителия и приготовление цитологических мазков

Забор БЭ из ротовой полости (слизистая оболочка щеки) осуществляли либо натощак, либо не ранее чем через 4 часа после приема пищи. Непосредственно перед получением материала пациенты полоскали полость рта физиологическим раствором. Получение БЭ производили стерильными разовыми зондами с синтетическим ворсом, отрезанную рабочую часть которых помещали в стерильную одноразовую пробирку «Эппендорф» с транспортной средой. Цитологические мазки готовили с применением 2-х методов: стандартных цитологических мазков на предметных стеклах и методом жидкостной цитологии с использованием автоматизированной системы системы Novoprep <<NRS>> (Франция).

Метод иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии

Иммунофлуоресцентную конфокальную микроскопию проводили на нефиксированных суспензиях клеток БЭ. Образцы БЭ помещали на покрытые поли-L-лизинном предметные стекла (Sigma). Для иммунофлуоресцентного исследования использовали первичные и вторичные антитела. В качестве первичных антител были взяты моноклональные мышинные анти-человеческие антитела к маркерам фактора некроза опухоли TNF- α (1:75, Dako), ингибитору циклин-зависимой киназы 1A белок p21 (1:100, Dako), проапоптотическому белку p53 (1:50, Novocastra), ингибитору циклин-зависимой киназы 2A белку p16 (1: 100, Novocastra), апоптоз индуцирующему фактору AIF (1:75, Dako), бета-дефенсину-2 (1:60, Dako). В качестве вторых антител использовали универсальный набор, содержащий анти-мышинные и анти-кроличьи иммуноглобулины (Novocastra).

Инкубацию со вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом Alexa Fluor 488 (зеленое свечение) или с Alexa Fluor 647

(красное свечение), осуществляли в темноте в течение 30 мин при комнатной температуре. Ядра клеток докрашивали 4'-6-диамино-2- фенилидолом (DAPI) («Sigma», США, 1:100) в течение 1 мин. Этот краситель используется в качестве флуоресцентного маркера ДНК, при связывании с которой его флуоресценция усиливается. Таким образом, синим цветом флуоресцируют все ядра клеток. Выявление экспрессии указанных сигнальных молекул проводили с использованием наборов для иммунофлуоресцентной визуализации щелочной фосфатазы Vector Red (Vector Lab.) согласно коммерческому протоколу фирмы. Левамизол (1.25 mM) добавлялся при инкубации со щелочной фосфатазой набора для блокады эндогенной активности фермента. Изучение препаратов проводили в конфокальном микроскопе Olympus FluoView FV1000 при увеличении 200. Для анализа полученных результатов использовали конфокальный микроскоп Olympus FluoView 1000 (Япония).

Характеристика сигнальных молекул

В качестве исследуемых сигнальных молекул были выбраны следующие:

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- α , tumor necrosis factor) используется как маркер воспаления и инфицирования, так как не обнаруживается в сыворотке крови здоровых людей. Повышенное количество TNF- α и других провоспалительных цитокинов провоцирует процессы и химические реакции, разрушающие пародонт [de Freitas M.N., 2007], что делает его информативным маркером патологических состояний пародонта.

Белки p53, p16, p21 представляют собой маркеры каспаза-зависимого апоптоза, характеризующие процессы клеточного обновления [Park I.K., 2004; Tu H.P., 2008; Shahbazi J., 2013]. Измеряя уровни экспрессии данных факторов, можно делать выводы о выживаемости клеток буккального эпителия у пациентов разного возраста в норме и при патологии.

AIF (апоптоз индуцирующий фактор) – маркер митохондриального (каспаза-независимого) апоптоза [Sevrioukova I.F., 2011]; измерение уровня экспрессии данного маркера также позволяет оценивать процессы клеточного обновления в буккальном эпителии пациентов разного возраста в норме и при патологии.

Бета-дефенсин-2 (hBD-2) представляет собой катионный пептид иммунной системы и является маркером воспаления, так как экспрессируется, в основном, в очагах воспаления и проявляет активность в отношении бактерий, грибков и многих вирусов [Levy O., 2004]. Измерение уровня экспрессии бета-дефенсина-2 позволяет оценить выраженность воспалительного процесса при хроническом пародонтите.

Морфометрия и анализ микрофотографий

Морфометрический анализ полученных изображений проводили на персональном компьютере Intel Pentium 4 в программе «Видеотест-Морфология 5.2». На каждом препарате исследовали 10 полей зрения при

увеличении 200. Площадь экспрессии (%) рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади поля зрения. Указанный параметр отражает интенсивность синтеза или накопления исследуемых сигнальных молекул.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Методы описательной (дескриптивной) статистики включали в себя оценку среднего арифметического значения стандартного отклонения от среднего значения и доверительного интервала – для признаков, имеющих непрерывное распределение; а также частоты встречаемости признаков с дискретными значениями. Характер статистического распределения признаков анализировали с помощью χ^2 -критерия. Для оценки межгрупповых различий значений признаков, имеющих непрерывное распределение, применяли t-критерий Стьюдента. Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа (Statistica 7.0). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых различий) принимали равным 0,05.

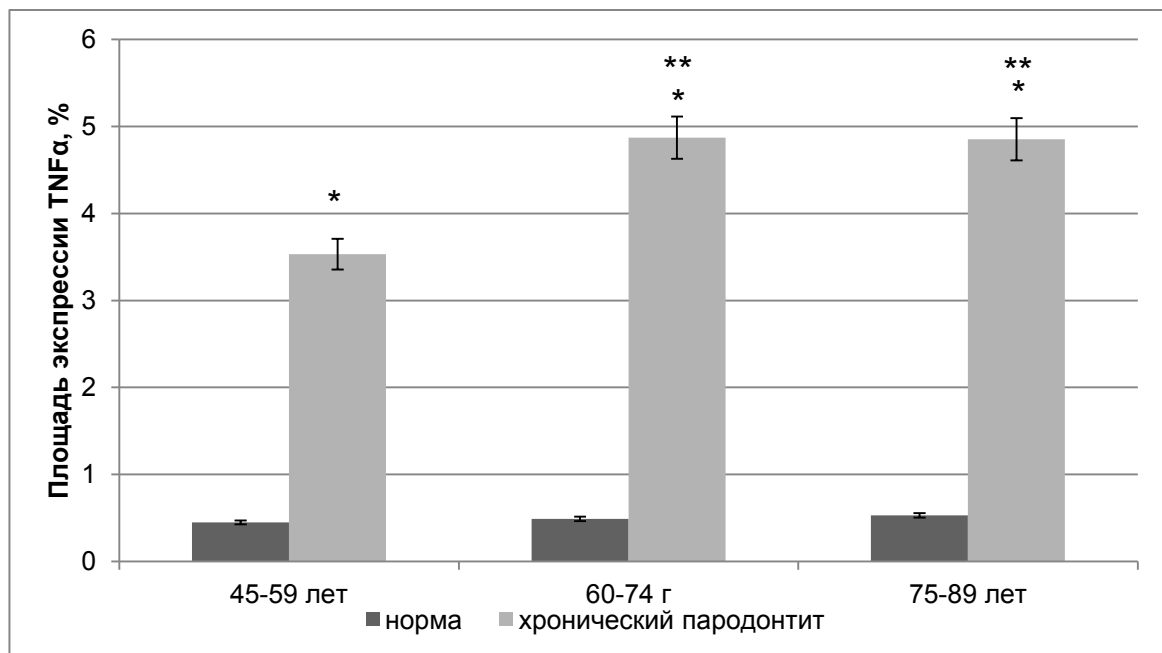
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспрессия сигнальных молекул в буккальном эпителии у людей разного возраста в норме и при хроническом пародонтите

Экспрессия TNF- α . По данным иммуноцитохимического анализа площадь экспрессии фактора некроза опухоли (TNF- α) у пациентов с хроническим пародонтитом выше по сравнению со здоровыми донорами (рис. 1).

В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α увеличилась до $3,53 \pm 0,22$, т.е. в 7,84 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста, площадь экспрессии которых составила $0,45 \pm 0,07$. У лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α в БЭ составила $4,87 \pm 0,20$, что было в 9,94 раза больше по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста ($0,49 \pm 0,06$). У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α в БЭ возрастала в 9,15 раза (до $4,85 \pm 0,17$) по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста, у которых этот показатель был равен $0,53 \pm 0,06$. У здоровых доноров не наблюдалось достоверных различий в экспрессии TNF- α в БЭ у лиц пожилого и старческого возраста по сравнению со средним. У доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α в БЭ возрастала в 1,38 раза (до $4,87 \pm 0,20$) по сравнению с площадью экспрессии TNF- α в БЭ доноров среднего возраста. Площадь экспрессии

TNF- α в БЭ у лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом также возрастала в 1,38 раза (до $4,85 \pm 0,17$) по сравнению с этим показателем у лиц среднего возраста ($3,53 \pm 0,22$).



* $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров

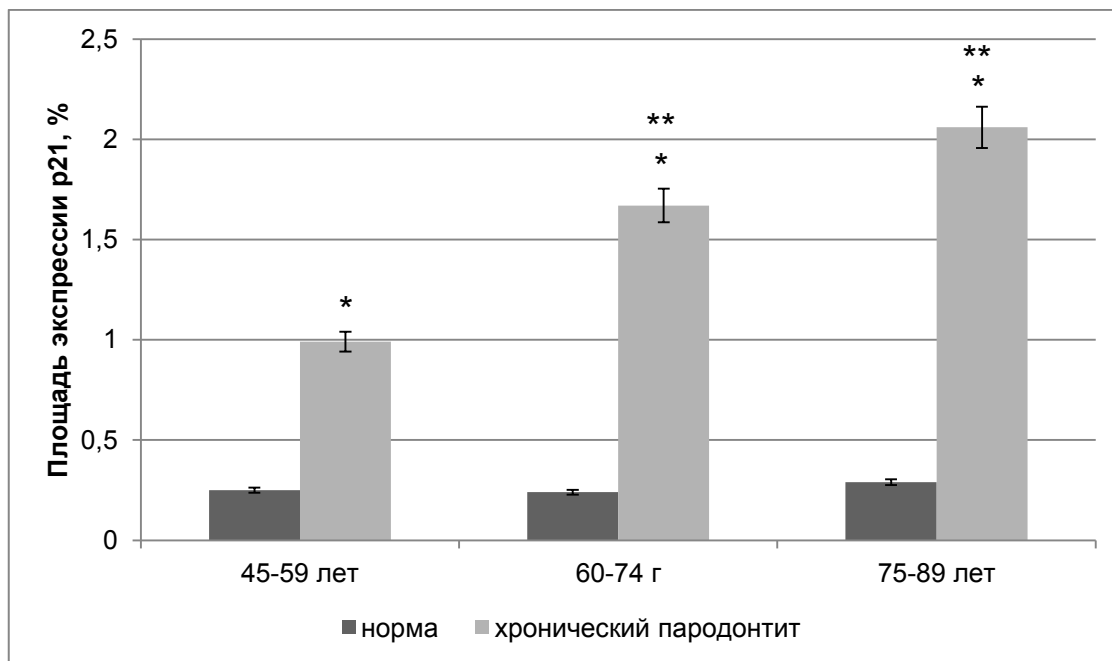
** $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом

Рис.1. Возрастные особенности экспрессии фактора некроза опухоли TNF α в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите

Экспрессия p21. По данным иммуноцитохимического исследования площадь экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 1A p21 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (рис. 2).

Отмечено достоверное увеличение площади экспрессии белка p21 в группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом в 3,96 раза до $0,99 \pm 0,08$ по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста, площадь экспрессии которых составила $0,25 \pm 0,03$. Площадь экспрессии белка p21 у лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом увеличивалась в 6,96 раз по сравнению со здоровыми донорами той же возрастной группы. Так, у лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом этот показатель составил $1,67 \pm 0,09$, а у здоровых доноров - $0,24 \pm 0,04$. В группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка p21 составила $2,06 \pm 0,09$, что в 7,1 раза больше по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста, у которых этот показатель равен $0,29 \pm 0,05$. У здоровых доноров не наблюдалось достоверных различий экспрессии белка p21 в БЭ между различными возрастными группами. Экспрессия p21 в БЭ лиц пожилого

возраста с хроническим пародонтитом также достоверно возрастала до $1,67 \pm 0,09$ в 1,69 раза по сравнению с этим показателем у лиц среднего возраста с хроническим пародонтитом ($0,99 \pm 0,08$). У лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом экспрессия p21 в БЭ возрастала в 2,08 раза (до $2,06 \pm 0,09$) по сравнению с донорами среднего возраста.



* $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров

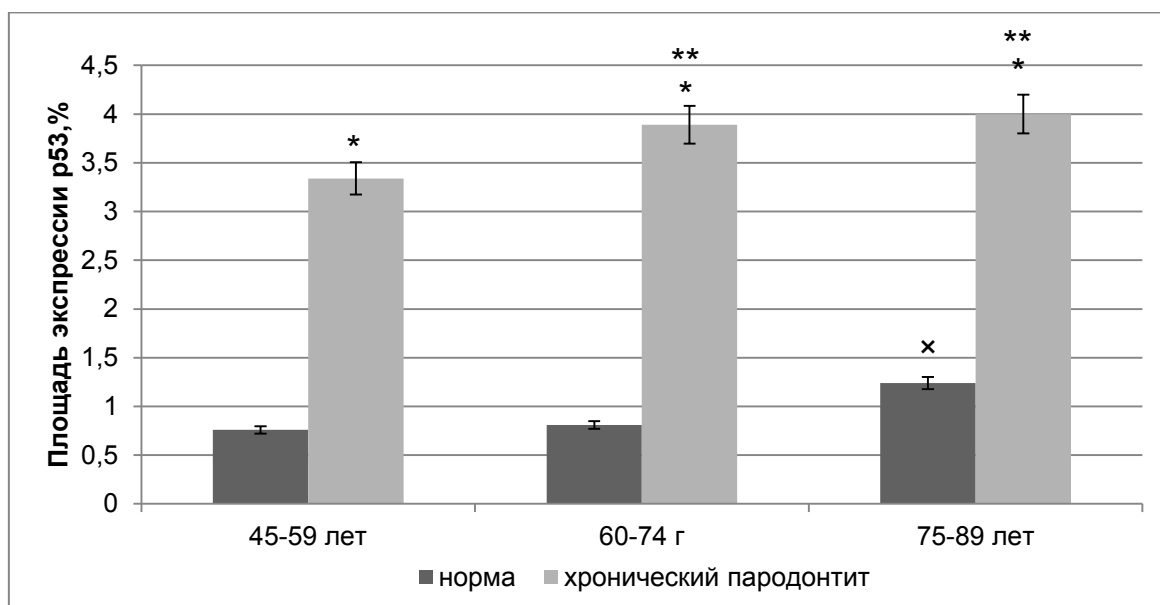
** $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом

Рис. 2. Возрастные особенности экспрессии ингибитора p21 в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите

Экспрессия p53. Согласно данным иммуноцитохимического исследования площадь экспрессии проапоптотического белка p53 в БЭ у доноров с хроническим пародонтитом достоверно была выше по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (рис. 3).

Так, в группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка p53 составила $3,34 \pm 0,23$, и была в 4,39 раза выше того же показателя ($0,76 \pm 0,09$) в группе здоровых доноров среднего возраста. В группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом отмечено увеличение экспрессии p53 в 4,8 раза по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы. Площадь экспрессии маркера p53 в этих группах составила $3,89 \pm 0,19$ и $0,81 \pm 0,10$ соответственно. У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии p53 в БЭ возрастала в 3,23 раза (до $4,00 \pm 0,18$) по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста, у которых этот показатель был равен $1,24 \pm 0,10$. У здоровых доноров старческого возраста показатель площади экспрессии белка p53 возрастает в 1,63 раза (до $1,24 \pm 0,10$) по сравнению с

этим показателем в группе здоровых доноров среднего возраста ($0,76 \pm 0,09$). Показатель площади экспрессии p53 в группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом возрастает в 1,17 раза (до $3,89 \pm 0,19$) по сравнению с этим показателем в группе доноров среднего возраста. У лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка p53 возрастает в 1,2 раза (до $4,00 \pm 0,18$) по сравнению с площадью экспрессии p53 у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом.



* $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров

** $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом

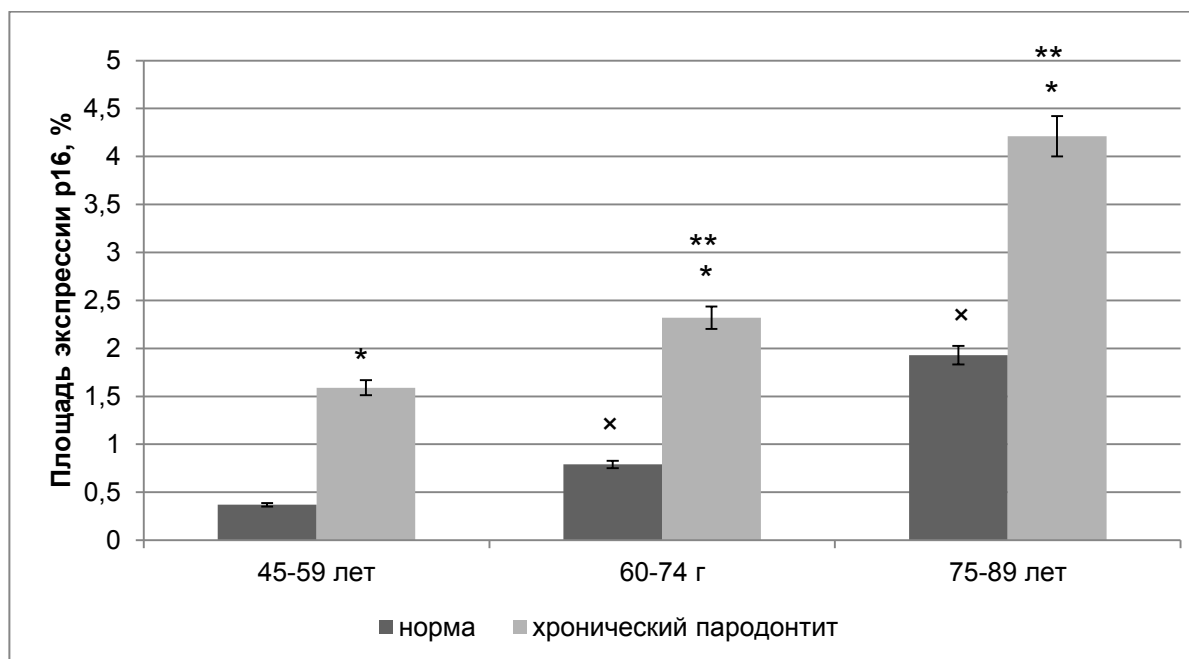
× $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста без патологии

Рис. 3. Возрастные особенности экспрессии проапоптотического белка p53 в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите

Экспрессия p16. По данным иммуноцитохимического исследования площадь экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 2A p16 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (рис. 4).

В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом отмечено увеличение экспрессии маркера p16 в 4,3 раза по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы. Площадь экспрессии маркера p16 в этих группах составила $1,59 \pm 0,12$ и $0,37 \pm 0,05$ соответственно. Площадь экспрессии белка p16 в группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом и у здоровых доноров составила $2,32 \pm 0,14$ и $0,79 \pm 0,06$ соответственно. Таким образом, в группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии p16 увеличилась в 2,94 раза по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста. В

группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка p16 составила $4,21 \pm 0,21$, что в 2,18 раза больше по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста, у которых этот показатель равен $1,93 \pm 0,11$.



* $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров

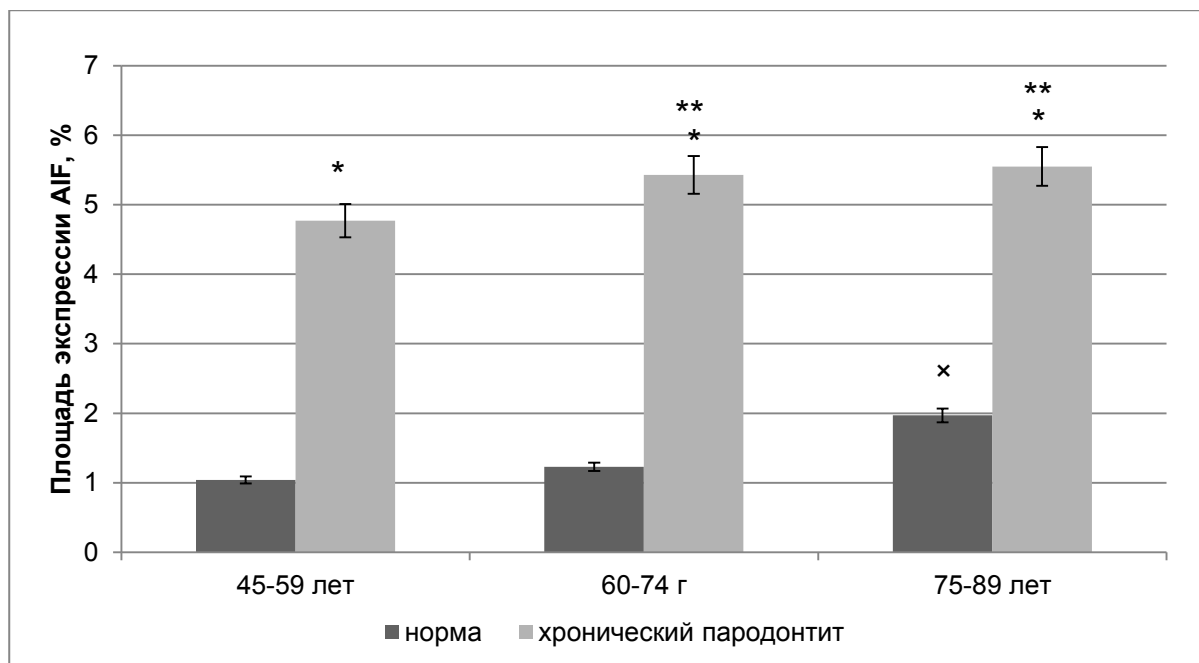
** $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом

× $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста без патологии

Рис. 4. Возрастные особенности экспрессии маркера старения p16 в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите

Площадь экспрессии p16 у здоровых доноров пожилого возраста была в 2,14 выше по сравнению с этим показателем у лиц среднего возраста. Площадь экспрессии p16 у здоровых доноров старческого возраста увеличивалась в 5,22 раза по сравнению с площадью экспрессии p16 у здоровых доноров среднего возраста. Площадь экспрессии p16 у лиц пожилого возраста была в 1,46 раза выше по сравнению с этим показателем у лиц среднего возраста с хроническим пародонтитом. Площадь экспрессии p16 у лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом возрастала в 2,65 раза по сравнению с этим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом.

Экспрессия апоптоз-индуцирующего фактора AIF. Площадь экспрессии апоптоз-индуцирующего фактора AIF в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах согласно данным иммуноцитохимического исследования (рис. 5).



* $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров

** $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом

× $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста без патологии

Рис. 5. Возрастные особенности экспрессии апоптоз индуцирующего фактора

AIF в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите

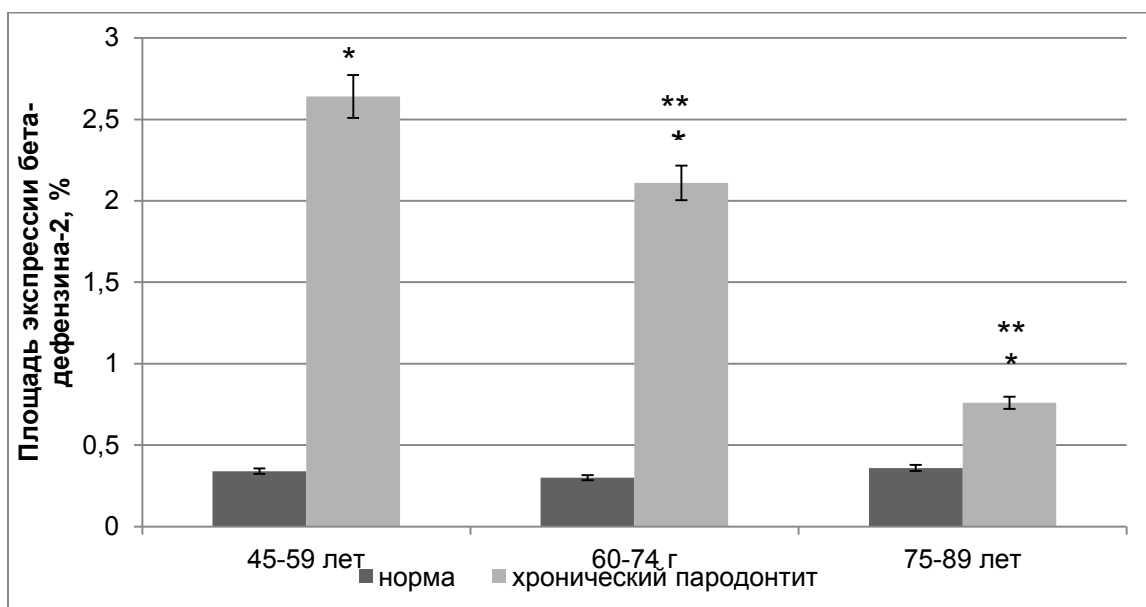
В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии маркера AIF увеличилась до $4,77 \pm 0,17$, т.е. в 4,59 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста, площадь экспрессии которых составила $1,04 \pm 0,12$. У лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии AIF в БЭ составила $5,43 \pm 0,21$, что было в 4,41 раза больше по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста ($1,23 \pm 0,14$). У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии AIF в БЭ возрастала в 2,82 раза (до $5,55 \pm 0,19$) по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста, у которых этот показатель был равен $1,97 \pm 0,10$.

Площадь экспрессии AIF у здоровых доноров старческого возраста была в 1,89 раза выше по сравнению с этим показателем в группе здоровых доноров среднего возраста. Площадь экспрессии AIF в группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом была в 1,14 раза выше по сравнению с группой доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом. У лиц старческого возраста с хроническим пародонтитом показатель площади экспрессии AIF возрастал в 1,16 раза по сравнению с этим показателем в группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом.

Экспрессия β -дефенсина-2. По данным иммуноцитохимического исследования площадь экспрессии β -дефенсина-2 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах (рис. 6, 7). В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом отмечено увеличение экспрессии маркера β -дефенсина-2 в 7,76 раза по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы.

Площадь экспрессии маркера β -дефенсина-2 в этих группах составила $2,64 \pm 0,14$ и $0,34 \pm 0,05$ соответственно. В группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии маркера β -дефенсина-2 увеличилась до $2,11 \pm 0,09$ в 7,03 раза по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста, площадь экспрессии которых составила $0,30 \pm 0,06$. В группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка β -дефенсина-2 составила $0,76 \pm 0,08$, что в 2,11 раза больше по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста, у которых этот показатель равен $0,34 \pm 0,05$.

У здоровых доноров не наблюдалось различий в экспрессии β -дефенсина-2 в группах пожилого и старческого возраста по сравнению с группой доноров среднего возраста. Площадь экспрессии β -дефенсина-2 в группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом понижалась в 1,25 раза по сравнению с этим показателем в группе доноров среднего возраста. У лиц старческого возраста показатель площади экспрессии β -дефенсина-2 в БЭ снижался в 3,47 раза по сравнению с площадью экспрессии β -дефенсина-2 в группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом.



* $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у здоровых доноров

** $p < 0,05$ - по сравнению с соответствующим показателем у доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом

Рис. 6. Возрастные особенности экспрессии β -дефенсина-2 в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите

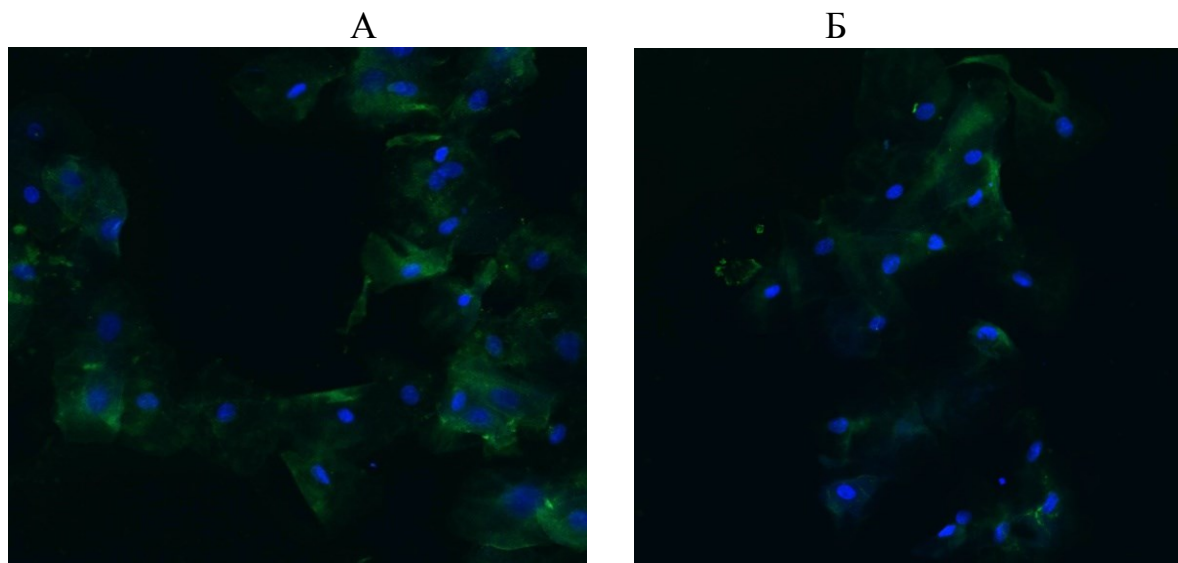


Рис. 7. Буккальный эпителий. Иммунофлуоресцентная конфокальная микроскопия с антителами к β -дефенсину-2 (зеленая флуоресценция, Alexa Fluor 488), ядра окрашены DAPI (синий), x200. А – норма, пациент 65 лет, Б – хронический пародонтит, пациент 63 лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что пародонтит у людей старших возрастных групп, особенно хронический, является одной из наиболее сложных стоматологических патологий [Аболмасов Н.Н., 2003]. Начальной стадией развития пародонтита является гингивит, при котором происходит раздражение и воспаление десен [Боровский Е.В., Леонтьев В.К., 2001]. При продолжении воспаления происходит образование карманов между зубами и деснами, которые заполняются налетом, зубным камнем и бактериями. В последствии эти бактерии вызывают более острое заболевание – пародонтит [Горбачева И.А., 2001]. Пародонтит проявляется кровоточивостью и воспалением десен, болевыми ощущениями при надавливании, неприятным запахом из полости рта, подвижностью зубов. Дальнейшее развитие пародонтита приводит к гноетечению, расшатыванию и выпадению зубов [Вавилов Т.П., 2007]. В запущенном состоянии пародонтит способен вызвать более серьезные проблемы, такие как повышение уровня сахара в крови, возможность инфаркта и инсульта [Грудянов А.И., 1997].

Развитие патологического процесса в пародонте происходит под воздействием комплекса биологических, экологических и социальных условий [Addy M., 1996]. В настоящее время большинство пациентов пожилого возраста обращаются к стоматологу уже на терминальной стадии развития пародонтита, что осложняет лечение заболевания. В связи с этим, разработка мер по профилактике и своевременной диагностике начальных стадий развития пародонтита является актуальной проблемой современной геронтологии и стоматологии. Одним из неинвазивных методов для

достижения этой цели является использование молекулярной диагностики БЭ, что и было отражено в нашей работе. В ходе исследования нами были получены следующие основные результаты, указывающие на возрастное изменение экспрессии ряда сигнальных молекул в БЭ при хроническом генерализованном пародонтите.

Установлено, что площадь экспрессии фактора некроза опухоли TNF- α у пациентов с хроническим пародонтитом выше по сравнению со здоровыми донорами. В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α увеличилась в 7,84 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста. У лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α в БЭ была в 9,94 раза больше по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста. У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии TNF- α в БЭ возрастала в 9,15 раза по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста.

Известно, что TNF- α стимулирует продукцию IL-1, IL-6, IL-8, активирует лейкоциты, под его влиянием резко увеличивается образование макрофагами и нейтрофилами перекиси водорода и других свободных радикалов. Повышенное количество IL-1, IL-6 и TNF- α провоцирует процессы и химические реакции, разрушающие пародонт. IL-1 и TNF- α активируют остеокласты, IL-1 увеличивает синтез коллагеназ, IL-6 активирует дифференциацию В-клеток на плазматические клетки с выработкой IgG, который способствует фиксированию комплемента и выделению хемотаксических компонентов [de Freitas M.N., 2007]. Образующиеся цитокины повреждают ткани пародонта и приводят к резорбции альвеолярной кости. Таким образом, выявленное повышение экспрессии этого цитокина в БЭ является неблагоприятным фактором, указывающим на прогрессивное развитие хронического пародонтита.

Площадь экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 1A p21 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах. Выявлено увеличение площади экспрессии белка p21 в группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом в 3,96 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста. Площадь экспрессии белка p21 у лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом увеличивалась в 6,96 раз по сравнению со здоровыми донорами той же возрастной группы. В группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом этот показатель был в 7,1 раза больше по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста.

Площадь экспрессии проапоптотического белка p53 в БЭ у доноров с хроническим пародонтитом достоверна была выше по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах. У лиц среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии p53 составила была в 4,39 раза выше того же показателя в группе здоровых доноров среднего возраста. В группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом отмечено

увеличение экспрессии p53 в 4,8 раза по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы. У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии p53 в БЭ возрастала в 3,23 раза по сравнению со здоровыми донорами соответствующего возраста.

Площадь экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы 2A p16 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах. В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом отмечено увеличение экспрессии маркера p16 в 4,3 раза по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы. В группе доноров пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии p16 увеличилась в 2,94 раза по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста. В группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии белка p16 была в 2,18 раза больше по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста.

Белки p16, p21 и p53 являются маркерами каспаза-зависимого апоптоза и позволяют характеризовать процессы клеточного обновления БЭ. Так, белок p21 играет ключевую роль в остановке клеточного цикла после повреждения ДНК, и сверхэкспрессия p21 ведет к аресту клеточного цикла в G1,G2 или S фазах [Tu H.P., 2008]. Известно, что в быстро делящихся клетках, в том числе и в БЭ, было обнаружено увеличение концентрации белка p53 по сравнению с медленно пролиферирующими клетками [Shahbazi J., Lock R., Liu T., 2013]. Белок p16 играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, блокируя сигнальный путь циклин-D-pRb и в механизмах клеточного старения [Park I.K. et al., 2004]. Таким образом, повышение экспрессии всех указанных белков при хроническом пародонтите, нарастающее с возрастом, указывает на преобладание гибели клеток БЭ и его ускоренного старения.

Площадь экспрессии индуцирующего апоптоз в митохондриях фактора AIF в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах. В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии маркера AIF увеличилась в 4,59 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста. У лиц пожилого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии AIF в БЭ была в 4,41 раза больше по сравнению со здоровыми донорами пожилого возраста. У пациентов старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии AIF в БЭ возрастала в 2,82 раза по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста. Известно, что апоптоз-индуцирующий фактор AIF запускает путь апоптоза, независимый от каспаз, вызывая конденсацию хроматина и фрагментацию ДНК в клетке [Daugas E., 2000]. Таким образом, при хроническом пародонтите у людей разного возраста одновременно активируется сразу 2 механизма клеточной гибели – по каспаза-зависимому и митохондриальному пути.

Установлено, что площадь экспрессии β -дефенсин-2 в БЭ достоверно увеличивалась у доноров с хроническим пародонтитом по сравнению со здоровыми пациентами во всех возрастных группах. В группе доноров

среднего возраста с хроническим пародонтитом отмечено увеличение экспрессии маркера β -дефенсин-2 в 7,76 раза по сравнению со здоровыми пациентами этой возрастной группы. В группе доноров среднего возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии β -дефенсин-2 увеличилась в 7,03 раза по сравнению со здоровыми донорами среднего возраста. В группе доноров старческого возраста с хроническим пародонтитом площадь экспрессии β -дефенсин-2 была в 2,11 раза больше по сравнению со здоровыми донорами старческого возраста. Известно, что β -дефенсин-2, как и другие молекулы этого семейства, является антимикробным пептидом.

Наличие дисульфидных связей обеспечивает сохранение устойчивости молекул дефенсинов к многочисленным лейкоцитарным и микробным протеиназам и сохранение антибиотических свойств в очаге воспаления и тканевой деструкции, в том числе и при хроническом пародонтите [Levy O., 2004]. Таким образом, повышение экспрессии этого белка в БЭ при хроническом пародонтите у людей среднего и пожилого возраста можно отнести к защитным противовоспалительным механизмам. Снижение этого механизма иммунной защиты при пародонтите наблюдалось только у лиц старческого возраста, вероятно, с общим истощением пролиферативного потенциала БЭ и иммунной функции при старении организма.

Таким образом, выявленное возрастное изменение экспрессии пула сигнальных молекул (TNF- α , p16, p21, p53 AIF, β -дефенсин-2) в БЭ у пациентов с хроническим пародонтитом может явиться основой для разработки нового метода определения эффективности лечения этой патологии и ее диагностики на ранних стадиях в зависимости от возраста пациента.

ВЫВОДЫ

1. Экспрессия провоспалительного цитокина TNF- α в буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста повышается в 8-10 раз в зависимости от возраста по сравнению со здоровыми донорами.

2. Экспрессия маркера митохондриального апоптоза AIF возрастала в буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста в 2-5 раз в зависимости от возраста по сравнению со здоровыми донорами.

3. Экспрессия маркеров каспаз-зависимого апоптоза p16, p21, p53 в буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом среднего, пожилого и старческого возраста повышалась в 2-7 раз в зависимости от возраста по сравнению со здоровыми донорами.

4. У здоровых доноров при переходе от среднего к старческому возрасту экспрессия белка p16 возрастала в 4,5 раза, что указывает на наличие механизмов клеточного старения в буккальных эпителиоцитах.

5. Экспрессия антимикробного пептида β -дефенсин-2 в буккальном эпителии пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом

среднего, пожилого и старческого возраста повышалась в 2-8 в зависимости от возраста по сравнению со здоровыми донорами.

6. Выявленное возрастное изменение экспрессии пула сигнальных молекул (TNF- α , p16, p21, p53 AIF, β -дифенсина-2) в БЭ у пациентов с хроническим пародонтитом может явиться основой для разработки нового метода определения эффективности лечения этой патологии и ее диагностики на ранних стадиях в зависимости от возраста пациента.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов среднего, пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом рекомендуется проведение иммуноцитохимического исследования буккального эпителия для выявления изменения паттерна экспрессии сигнальных молекул (TNF- α , p16, p21, p53, AIF, β -дифенсина-2).

2. У людей среднего, пожилого и старческого возраста в норме и при различной соматической патологии рекомендуется проведение иммуноцитохимического исследования буккального эпителия для выявления изменения выраженности экспрессии молекул-маркеров клеточного старения и апоптоза (p16, AIF) для интегральной оценки степени старения организма.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК Минобрнауки РФ

1. Трифонов Н.И., Полякова В.О., Медведев Д.С., Линькова Н.С. Экспрессия сигнальных молекул в буккальном эпителии у людей разного возраста с хроническим пародонтитом // Молекулярная медицина. 2017. - Т. 15, № 4. - С. 29-31.

2. Янова О.А., Трифонов Н.И., Медведев Д.С., Полякова В.О. Особенности экспрессии патогенетически значимых сигнальных молекул у пациентов пожилого и старческого возраста с хроническим генерализованным пародонтитом // Клиническая геронтология. – 2017. – Т. 23, №1-2.- С. 14-18.

3. Янова О.А., Медведев Д.С., Линькова Н.С., Трифонов Н.И., Дьяконов М.М. Молекулярные механизмы сочетанного действия крайневысокочастотной и инфракрасной терапии у пациентов разных возрастных групп с хроническим пародонтитом // Успехи геронтологии. – 2014. – Т.27, №4. – С. 657-661.

Тезисы

4. Трифонов Н.И., Полякова В.О., Медведев Д.С., Костылев А.В. Перспективы применения буккального эпителия для ранней неинвазивной диагностики пародонтита у людей разного возраста // Научно-практическая конференция «Инновационные российские технологии в

геронтологии и гериатрии», посвященная 25-летию Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии. – 2017. С. 76.

5. Трифонов Н.И., Полякова В.О., Медведев Д.С. Экспрессия маркера p16 в буккальном эпителии людей разного возраста с хроническим пародонтитом // Материалы конференции «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге». СПб. 2016. С. 281-282.

6. Трифонов Н.И., Полякова В.О., Медведев Д.С., Линькова Н.С. Экспрессия TNF- α в буккальном эпителии как маркер хронического пародонтита у лиц разного возраста// Научно-практическая конференция с международным участием «Проблемы возрастной патологии в Арктическом регионе: биологические, клинические и социальные аспекты». Якутск, 2016. С. 153-155.

7. Янова О.А., Трифонов Н.И., Медведев Д.С., Полякова В.О. КВЧ-излучение снижает интенсивность экспрессии интерлейкина-2 в буккальном эпителии у пожилых пациентов с хроническим пародонтитом// Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии – СПб, в журнале «Успехи геронтологии» - 2014. – Т.27, №2. – С. 70.

8. Янова О.А., Полякова В.О., Медведев Д.С., Трифонов Н.И. Сигнальные молекулы буккального эпителия и новые возможности молекулярной диагностики ассоциированных с возрастом заболеваний // Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии – СПб, в журнале «Успехи геронтологии» - 2014. – Т.27, №2. – С. 70.

9. Медведев Д.С., Янова О.А., Трифонов Н.И., Полякова В.О. КВЧ-излучение снижает выраженность митохондриального апоптоза в буккальном эпителии у лиц старшего возраста с хроническим пародонтитом// Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии – СПб, в журнале «Успехи геронтологии» - 2014. – Т.27, №2. – С. 49.

10. Янова О.А., Трифонов Н.И., Медведев Д.С., Полякова В.О. КВЧ-терапия снижает интенсивность апоптоза буккального эпителия у пациентов с хроническим пародонтитом// Международная юбилейная конференция «100 лет оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» - СПб., 2014. – С. 43-44.

11. Янова О.А., Медведев Д.С., Полякова В.О., Трифонов Н.И. КВЧ-излучение стимулирует пролиферацию клеток буккального эпителия при пародонтите// Международная юбилейная конференция «100 лет оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» - СПб., 2014.– С. 44-45.

12. Янова О.А., Трифонов Н.И. Экспрессия маркеров иммунных клеток в буккальном эпителии в норме и при хроническом пародонтите// Международная юбилейная конференция «100 лет оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» - СПб., 2014. – С. 45-46.

13. Янова О.А., Молодцова И.Д., Трифонов Н.И., Красковская Н.А., Полякова В.О., Медведев Д.С., Костылев А.В. Влияние КВЧ-излучения на функциональное состояние клеток эндотелия при старении // Пушковские чтения, СПб., 2014. – С. 153-154.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В АВТОРЕФЕРАТЕ

БЭ	буккальный эпителий
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
IL	интерлейкин
AIF	apoptosis-inducing factor, апоптоз индуцирующий фактор
Ig	иммуноглобулин
TNF- α	tumor necrosis factor, фактор некроза опухоли

УКАЗАТЕЛЬ ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Аболмасов Н.Н. Стратегия и тактика профилактики заболеваний пародонта // *Стоматология.* - 2003. - № 4. - С. 34-39; *Боровский Е.В., Леонтьев В.К.* Биология полости рта // *Н.Новгород.* - изд-во НГМА. - 2001. - 303 с; *Вавилов Т.П.* Особенности метаболических процессов в пульпе зуба при воспалительном стрессе // *Российский стоматологический журнал.* - 2007. - № 4. - С. 13-17; *Волкова М.Н.* Иммунологические основы патогенеза воспалительных заболеваний пародонта механизмы // *Вестник ВГМУ.* - 2009. - Т. 8. - № 3. С. 5-12; *Горбачева И.А.* Общесоматические аспекты патогенеза и лечения генерализованного пародонтита // *Стоматология.* - 2001. - № 1. - С. 26-34; *Грудянов А.И.* Биохимические исследования различных физиологических сред и тканей при воспалительных заболеваниях пародонта // *Пародонтология.* - 1997. - Т. 6. - № 4. - С. 3-12; *Кветная Т.В., Линькова Н.С., Седов Е.В. и соавт.* Экспрессия факторов дифференциации межклеточного матрикса в буккальном эпителии человека при старении. // *Успехи геронтологии.* - 2013. - Т.26, №3. - С. 432-436; *Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Седов Е.В. и соавт.* Буккальный эпителий как объект оценки биологического возраста и темпа старения организма // *Успехи геронтологии.* - 2013. -Т.26. -№4. - С. 123-129; *Цимбалитов А.В., Жданюк И.В., Иорданишвили А.К., Солдатов С.В.* Оценка эффективности лечения патологии пародонта у пациентов перед протезированием // *Пародонтология.* - 2011. - Т. 16, №3. - С. 50-53; *Addy M.* Local and systemic chemotherapy in the management of periodontal disease: an opinion and review of the concept.//*J. Oral. Rehabil.* - 1996. - Vol. 23. - № 4. - P. 219 -231; *Daugas E.* Mitochondrio-nuclear translocation of AIF in apoptosis and necrosis // *J Exp Med.* - 2000. - Vol. 192. - № 4. - P. 571-580; *de Freitas M.N.* Analysis of IL- 1A(-889) and TNFA(-308) gene polymorphism in Brazilian patients with generalized aggressive periodontitis // *Eur Cytokine Netw.* - 2007. - Vol. 18. - № 3. - P.142-147; *Gartel A.L., Radhakrishnan S.K.* Lost in transcription: p21 repression, mechanisms, and consequences // *Cancer Res.* - 2005. - Vol.65. - № 10. - P. 3980-3985; *Levy O.* Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes // *J. of Leukocyte Biology.* - 2004. - Vol.76. - P. 909-992; *Park I.K., Morrison S.J., Clarke M.F. et al.* Stem cells, and senescence regulation // *J. Clin. Invest.* - 2004. - Vol. 113. - № 2. - P. 175—179; *Sevrioukova I.F.* Apoptosis-Inducing Factor: Structure, Function, and Redox Regulation // *Antioxid Redox Signal.* - 2011. - Vol. 14. - № 12. - P. 2545-2579; *Shahbazi J., Lock R., Liu T.* Tumor Protein 53-Induced Nuclear Protein 1 Enhances p53 Function and Represses Tumorigenesis // *Front Genet.* - 2013. - Vol.4. - P. 80; *Tu H.P.* Expression of p21 and p53 in rat gingival and human oral epithelial cells after cyclosporine A treatment // *J Periodontal Res.* - 2008. - Vol. 43. - № 1. - P. 32-39.

