

Биомаркеры слюны и протеомика: диагностические и клинические возможности будущего

© Митронин А.В., Хворостенко О.А., Останина Д.А., Митронин Ю.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Резюме:

Поиск новых, быстрых и малоинвазивных методов диагностики заболеваний как полости рта, так и общих заболеваний различной этиологии и внедрения их в практическое здравоохранения является по-прежнему приоритетным направлением в сфере медицины. Среди известных методов анализа биологических жидкостей особое место занимает исследование слюны. Анализ ротовой жидкости обладает высоким потенциалом в скрининге различных заболеваний, поскольку содержит широкий спектр органических и неорганических соединений. Изучению количественного и качественного состава ротовой жидкости, а также исследованию биомаркеров слюны посвящено значительно количество работ, однако исследование протеома слюны находится на стадии накопления данных. Отсутствие стандартизации в сборе образцов и методов анализа, а также малоизученных физиологических и биохимических параметров ротовой жидкости препятствует внедрению достижений в изучении протеома слюны в диагностическую практику. Решение этих задач позволит ротовую жидкость использовать как биологическую среду как для выявления заболеваний, так и прогноза их течения.

Ключевые слова: ротовая жидкость, биохимические маркеры, неинвазивная диагностика, экспресс-диагностика, протеом

Статья поступила: 7.06.2021; **исправлена:** 14.08.2021; **принята:** 19.07.2021;

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Для цитирования: Митронин А.В., Хворостенко О.А., Останина Д.А., Митронин Ю.А. Биомаркеры слюны и протеомика: диагностические и клинические возможности будущего. *Эндодонтия today*. 2021; 19(3):171-174. DOI: 10.36377/1683-2981-2021-19-3-171-174.

Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities

© A.V. Mitronin, O.A. Khvorostenko, D.A. Ostanina, Yu.A. Mitronin

Federal State Budgetary Educational Institution of the Higher Education

"A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Abstract:

The search for new, fast and non-invasive methods of diagnosing diseases of both the oral cavity and general diseases of various etiologies and their introduction into practical health care is still a priority in the field of medicine. Among the known methods of analysis of biological fluids, a special place is occupied by the study of saliva. Oral fluid analysis has a high potential in screening for various diseases, since it contains a wide range of organic and inorganic compounds. A significant number of works have been devoted to the study of the quantitative and qualitative composition of the oral fluid, as well as to the study of saliva biomarkers, however, the study of the saliva proteome is at the stage of data accumulation. The lack of standardization in the collection of samples and methods of analysis, as well as poorly studied physiological and biochemical parameters of the oral fluid, hinders the introduction of advances in the study of the saliva proteome into diagnostic practice. The solution of these problems will allow the oral fluid to be used as a biological environment for both detecting diseases and predicting their course.

Keywords: saliva, biochemical markers, non-invasive diagnostics, express diagnostics, proteome.

Received: 7.06.2021; **revised:** 14.08.2021; **accepted:** 19.07.2021.

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For citation: A.V. Mitronin, O.A. Khvorostenko, D.A. Ostanina, Yu.A. Mitronin. Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities. *Endodontics today*. 2021; 19(3):171-174. DOI: 10.36377/1683-2981-2021-19-3-171-174.

Интерес к быстрым и менее инвазивным диагностическим тестам растет в геометрической прогрессии в последние десятилетия. В настоящее время исследование ротовой жидкости вызывает интерес у большинства исследователей. Слюна – это вязкая жидкость с pH 5,8 – 7,6, состав которой меняется в зависимости от скорости ее секреции. Около 99 – 99,4% слюны составляет вода, 1 – 0,6% – минеральные и органические вещества. Неорганические компоненты слюны находятся в виде растворенных в ней анионами макроэлементов – хлоридов, фосфатов, бикарбонатов, роданидов, иодидов, бромидов, сульфатов, а также катионами Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . В слюне определяются микроэлементы: Fe, Si, Mn, Ni, Li, Zn, Cd, Pb, Li и др. Все минеральные макро и микроэлементы находятся и в виде простых ионов, и в составе соединений – солей, белков и хелатов. Образование и экскреция слюны в ротовую полость осуществляются тремя парами крупных слюнных желез (околоушной, подъязычной и подчелюстной) и множеством мелких слюнных желез. Однако, стоит различать слюну и «ротовую жидкость» или «смешанную слюну». Ротовая жидкость или смешанная слюна, помимо секрета слюнных желез, содержит клетки эпителия, лейкоциты, микроорганизмы, остатки пищи и является важнейшим фактором для поддержания их гомеостаза [1].

Смешанная слюна представляет собой среду, в которой органы полости рта находятся на протяжении всей жизни и является важнейшим фактором для поддержания их гомеостаза [2]. Несомненно, что неотъемлемой частью гомеостаза ротовой полости является количественный и качественный (микроэлементы, белки, иммуноглобулины) состав ротовой жидкости, который свидетельствует о местном иммунитете. Основными и самыми важными свойствами ротовой жидкости являются механическая, иммунологическая и антибактериальная активность. Показатели смешанной слюны тесно связаны с физиологическим состоянием организма и патологией зубочелюстной системы. Наличие сопутствующей патологии, а также прием лекарственных препаратов, приводит к нарушению ее физико-химических и метаболических параметров, что непосредственно влияет на развитие заболеваний твердых тканей зубов, тканей пародонта, слизистой оболочки рта [3-5].

Еще более 2000 лет назад ротовую жидкость применяли в клинической диагностике. Врачи китайской медицины считали, что слюна и кровь имеют одинаковое происхождение [6]. Однако, анализ ротовой жидкости получил свое широкое распространение лишь в XX веке, в связи с развитием новых биологических дисциплин «омик» и новых разработок чувствительных методов амплификации, методологии забора и обработки образцов слюны, а также развитием метагеномного анализа [7].

На протяжении длительного времени многочисленные исследования были направлены на изучение морфологических и физиологических особенностей строения и функционирования слюнных желез. В результате многочисленных исследований был определен количественного и качественного состава слюны, определены значения соотношения в ней электролитов, белков, ферментов, а также изучены ее кристаллогенные свойства [8]. Имеются данные об изменении параметров ротовой жидкости с возрастом, так на протяжении периода от новорожденности до периода старческого возраста отмечается уменьшение коли-

чества суточной выработки слюны, что связано с возрастными изменениями морфологии слюнных желез. По данным различных исследований, основываясь на изученных параметрах ротовой жидкости, а именно иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG и секреторного IgA, провоспалительных факторов (интерлейкин-1 β , интерлейкин-6, интерлейкин-8, фактор некроза опухоли- α) отмечается, что у представителей пожилого и старческого возрастов снижается выработка маркеров иммунной защиты, что приводит к увеличению риска развития аутоиммунных и воспалительных процессов в полости рта [9].

Благодаря постоянному развитию технологий расширяется диапазон исследуемых биомаркеров различных заболеваний в слюне. В качестве биомаркеров могут быть ДНК, РНК, белковые молекулы, выступающие в роли индикатора физиологического состояния организма. В настоящее время по литературным данным накоплено достаточно сведений, свидетельствующих о том, что ротовая жидкость является своеобразным индикатором как локального состояния ротовой полости, так отдельных систем организма. В ротовой жидкости насчитывается более 2000 пептидов и белков и с каждым годом спектр обнаруживаемых биомолекул увеличивается. Ряд биологических маркеров свидетельствуют о физиологических изменениях организма и находятся в плазме крови и слюне в корреляционных соотношениях.

В связи с чем появилась возможность, основываясь на анализе ротовой жидкости, диагностировать различные заболевания не только в полости рта, такие как кариес [10], [11], пародонтит [12], заболевания слизистой оболочки рта [13], но и ряд системных заболеваний: аутоиммунные заболевания [14], [15], вирусные [16], [17], [18], бактериальные заболевания [19], сердечно-сосудистые заболевания [20], сахарный диабет [21], болезнь Альцгеймера [22], психоневрологические расстройства [23], а также онкологические заболевания [24], [25].

Таким образом, анализ ротовой жидкости обладает высоким потенциалом в скрининге различных заболеваний, поскольку содержит широкий спектр органических и неорганических соединений. Изучение состава и свойств ротовой жидкости, а также исследование биомаркеров слюны дает возможность в ряде случаев определить не только состояние организма в целом и тканей полости рта, но и в некоторых случаях прогнозировать течение заболевания [26], [27], [28]. Изучению количественного и качественного состава ротовой жидкости, а также исследованию биомаркеров слюны посвящено значительно количество работ, однако исследование протеома слюны находится на стадии накопления данных. Отсутствие стандартизации в сборе образцов и методологии анализа, а также малоизученных физиологических и биохимических параметров ротовой жидкости препятствует внедрению достижений в изучении протеома слюны в диагностическую практику. Решение этих задач позволит использовать ротовую жидкость как экспресс-тест, который может стать альтернативой инвазивным технологиям для ранней диагностики, составления плана лечения и прогнозирования течения заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Е.В. Боровский, В.С. Иванов, Ю.М. Максимовский, Л.Н. Максимовская. – Под ред. Е. В. Боровского, Ю. М. Максимовского. Учебник. – М.: Медицина, 2001. – 736 с.
2. Янушевич О.О., Духовская Н.Е., Вавилова Т.П., Островская И.Г., Еварицкая Н.Р. Показатели смешанной слюны у лиц с соматической патологией Dental Forum 2019; 1(75):2-5
3. Вавилова Т.П., Митронин А.В., Духовская Н.Е., Островская И.Г., Алекберова Г.И. Диагностическая ценность слюны у пациентов с различной соматической патологией. Российская стоматология. 2017; 10(1): 96-107
4. Духовская А.А., Островская Ю.А., Митронин Ю.А., Ахмедов К.Г. Исследование уровня цитокинов в смешанной слюне для оценки воспалительных изменений в тканях полости рта. Медицинские этюды 2018; 61(06): 217-218.
5. Леонтьев В.К., Питаева А.Н., Скрипкина Г.И., Адкина Г.В. Энергетическое взаимодействие в системе "эмаль – слюна" и его связь с составом и свойствами ротовой жидкости. Институт Стоматологии, 2014.-№1.- С 110 -111.
6. Zhang L., Xiao H., Wong D.T. Salivary biomarkers for clinical application. Mol. Diagn. Ther. 2009; 13(4):245-59
7. Khurshid Z., Zohaib S., Najeib S. et al. Human saliva collection devices for proteomics: an update. Int. J. Mol. Sci. 2016; 17: 846.
8. Мартусевич А.К., Шубина О.И., Краснова С.Ю. Комплексная оценка кристаллогенных свойств слюны человека. Медицинский альманах. 2018. №2 (53). С.54-56.
9. Лобейко В.В., Иорданишвили А.К., Малышев М.Е. Возрастная характеристика иммунологических показателей слюны у взрослых людей. Кубанский научный медицинский вестник. 2015. №1. С.74-79.
10. Леонтьев В.К., Питаева А.Н., Скрипкина Г.Т., Адкина Г.В. Влияние состава и свойств ротовой жидкости на энергетическое взаимодействие в системе эмаль-слюна. Материалы XXIV Международного юбилейного симпозиума «Инновационные технологии в стоматологии», посвященного 60-летию стоматологического факультета Омского государственного медицинского университета: сборник статей. 2017.-С. 240-243
11. Mishra S., Saadat D., Kwon O. et al. Recent advances in salivary cancer diagnostics enabled by biosensors and bioelectronics. Biosens. Bioelectron. 2016; 81: 181-97.
12. Du Y., Zhang W., Wang M.L. An on-chip disposable salivary glucose sensor for diabetes control. J. Diabetes Sci. Technol. 2016. 10(6): 1344-52.
13. Гожая Л.Д., Тапалай Т.Ю., Арунов Т.И. Содержание калия и натрия в смешанной слюне при красном плоском лишае на фоне гальваноза Стоматология для всех 2010; 2. С.30-32
14. Du Y., Zhang W., Wang M.L. An on-chip disposable salivary glucose sensor for diabetes control. J. Diabetes Sci. Technol. 2016; 10(6): 1344-52.

REFERENCES:

1. E.V. Borovsky, V.S. Ivanov, Yu.M. Maksimovsky, L.N. Maximovskaya. – Ed. E. V. Borovskiy, Yu. M. Maksimovskiy. Textbook. Therapeutic dentistry – M.: Medicine, 2001. – 736 p.
2. Yanushevich O.O., Dukhovskaya N.E., Vavilova T.P., Ostrovskaya I.G., Evarnitskaya N.R. Indicators of mixed saliva in persons with somatic pathology Dental Forum 2019; 1(75):2-5
3. Vavilova T.P., Mitronin A.V., Dukhovskaya N.E., Ostrovskaya I.G., Alekberova G.I. Diagnostic value of saliva in patients with various somatic pathologies. Russian dentistry. 2017; 10(1): 96-107
4. Dukhovskaya A.A., Ostrovskaya Yu.A., Mitronin Yu.A., Akhmedov K.G. Study of the level of cytokines in mixed saliva to assess inflammatory changes in the tissues of the oral cavity. Medical studies 2018; 61(06): 217-218.
5. Leontiev V.K., Pitaeva A.N., Skripkina G.I., Adkina G.V. Energy interaction in the system "enamel – saliva" and its relationship with the composition and properties of the oral fluid. Institute of Dentistry, 2014.-№1.- С 110 -111.
6. Zhang L., Xiao H., Wong D.T. Salivary biomarkers for clinical application. Mol. Diagn. Ther. 2009; 13(4):245-59
7. Khurshid Z., Zohaib S., Najeib S. et al. Human saliva collection devices for proteomics: an update. Int. J. Mol. Sci. 2016; 17: 846.
8. Martusevich A.K., Shubina O.I., Krasnova S.Yu. Comprehensive assessment of the crystallogenic properties of human saliva. Medical Almanac 2018. №2 (53). P.54-56
9. Lobeiko V.V., Iordanishvili A.K., Malyshev M.E. Age characteristics of immunological parameters of saliva in adults. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2015. No. 1. S.74-79.
10. Leontiev V.K., Pitaeva A.N., Skripkina G.T., Adkina G.V. Influence of the composition and properties of the oral fluid on the

15. Dutta G., Nagarajan S., Lapidus L.J., Lillehoj P.B. Enzyme-free electrochemical immunosensor based on methylene blue and the electro-oxidation of hydrazine on Pt nanoparticles. Biosens Bioelectron. 2017; 92: 372-7.
16. Kuwayama K., Miyaguchi H., Yamamuro T. et al. Effectiveness of saliva and fingerprints as alternative specimens to urine and blood in forensic drug testing. Drug. Test. Anal. 2016; 8(7): 644-51.
17. Jaspard M., Le Moal G., Saberan-Roncato M. et al. Fingerstick whole blood HIV-1/-2 home-use tests are more sensitive than oral fluidbased in-home HIV tests. PLoS One. 2014; 9(6): e101148
18. Adornetto G., Fabiani L., Volpe G. et al. An electrochemical immunoassay for the screening of celiac disease in saliva samples. Anal. Bioanal. Chem. 2015; 407(23): 7189-96
19. Liu C., Geva E., Mauk M. et al. An isothermal amplification reactor with an integrated isolation membrane for point-of-care detection of infectious diseases. Analyst. 2011; 136(10): 2069-76
20. Chen Z., Zhu H., Malamud D. et al. A rapid, self-confirming assay for HIV: simultaneous detection of anti-HIV antibodies and viral RNA. J. AIDS Clin. Res. 2016; pii: 540
21. Тишков Д.С. Исследования состава слюны у больных сахарным диабетом Региональный вестник 2020; 2(41). С. 7-8
22. Reale M., Gonzales-Portillo I., Borlongan CV. Saliva, an easily accessible fluid as diagnostic tool and potent stem cell source for Alzheimer's Disease: Present and future applications Brain Res. 2020; 1727: 146535
23. Kuřak-Bejda A., Waszkiewicz N., Bejda G., Zalewska A., Maciejczyk M. Diagnostic Value of Salivary Markers in Neuropsychiatric Disorders. Dis Markers. 2019 May 2;2019:4360612.
24. Бельская Л.В. Возможности применения слюны для диагностики онкологических заболеваний. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (6):333-336
25. Arunachalam SR, Tang KD, Punyadeera C. Isolation and Quantification of MicroRNAs from Human Saliva. Methods Mol Biol. 2019;2054:105-114.
26. Митронин А.В., Вавилова Т.П., Сажина Е.Н. и др. Стоматологический статус и клиничко-лабораторные аспекты диагностики и течения болезней пародонта у пациентов старших возрастных групп. Пародонтология. 2007;2:3-8.
27. Цепов Л.М., Цепова Е.Я., Нестерова ММ Физико-химические и метаболические параметры ротовой жидкости и слюны как индикаторы состояния организма. Дентал Юг. -2010.-№ 10(82).-С. 54-57.
28. Lazaro A.S., Mussavira S., Bindhu O.S. Clinical and diagnostic utility of saliva as a noninvasive diagnostic fluid: a systematic review. Biochemia Medica. 2015; 25(2): 177-92.

energy interaction in the enamel-saliva system. Materials of the XXIV International Anniversary Symposium "Innovative Technologies in Dentistry" dedicated to the 60th anniversary of the Faculty of Dentistry of Omsk State Medical University: collection of articles. 2017.- S. 240-243

11. Mishra S., Saadat D., Kwon O. et al. Recent advances in salivary cancer diagnostics enabled by biosensors and bioelectronics. Biosens. Bioelectron. 2016; 81: 181-97.
12. Du Y., Zhang W., Wang M.L. An on-chip disposable salivary glucose sensor for diabetes control. J. Diabetes Sci. Technol. 2016. 10(6): 1344-52.
13. Gozhaya L.D., Tapalay T.Yu., Arunov T.O. The content of potassium and sodium in mixed saliva with lichen planus against the background of galvanism Dentistry for all 2010; 2.P.30-32
14. Du Y., Zhang W., Wang M.L. An on-chip disposable salivary glucose sensor for diabetes control. J. Diabetes Sci. Technol. 2016; 10(6): 1344-52.
15. Dutta G., Nagarajan S., Lapidus L.J., Lillehoj P.B. Enzyme-free electrochemical immunosensor based on methylene blue and the electro-oxidation of hydrazine on Pt nanoparticles. Biosens Bioelectron. 2017; 92: 372-7.
16. Kuwayama K., Miyaguchi H., Yamamuro T. et al. Effectiveness of saliva and fingerprints as alternative specimens to urine and blood in forensic drug testing. Drug. Test. Anal. 2016; 8(7): 644-51.
17. Jaspard M., Le Moal G., Saberan-Roncato M. et al. Fingerstick whole blood HIV-1/-2 home-use tests are more sensitive than oral fluidbased in-home HIV tests. PLoS One. 2014; 9(6): e101148

18. Adornetto G., Fabiani L., Volpe G. et al. An electrochemical immunoassay for the screening of celiac disease in saliva samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015; 407(23): 7189-96
19. Liu C., Geva E., Mauk M. et al. An isothermal amplification reactor with an integrated isolation membrane for point-of-care detection of infectious diseases. *Analyst.* 2011; 136(10): 2069-76
20. Chen Z., Zhu H., Malamud D. et al. A rapid, self-confirming assay for HIV: simultaneous detection of anti-HIV antibodies and viral RNA. *J. AIDS Clin. Res.* 2016; pii: 540
21. Tishkov D.S. Studies of the composition of saliva in patients with diabetes mellitus *Regional Bulletin* 2020; 2 (41). S. 7-8
22. Reale M., Gonzales-Portillo I., Borlongan CV. Saliva, an easily accessible fluid as diagnostic tool and potent stem cell source for Alzheimer's Disease: Present and future applications *Brain Res.* 2020; 1727: 146535
23. Kułak-Bejda A, Waszkiewicz N, Bejda G, Zalewska A, Maciejczyk M. Diagnostic Value of Salivary Markers in Neuropsychiatric Disorders. *Dis Markers.* 2019 May 2;2019:4360612.
24. Belskaya L.V. Possibilities of using saliva for the diagnosis of oncological diseases. *Clinical laboratory diagnostics.* 2019; 64 (6): 333-336
25. Arunachalam SR, Tang KD, Punyadeera C. Isolation and Quantification of MicroRNAs from Human Saliva. *Methods Mol Biol.* 2019;2054:105-114.
26. Mitronin A.V., Vavilova T.P., Sazhina E.N. et al. Dental status and clinical and laboratory aspects of diagnosis and treatment of periodontal disease in patients of older age groups. *Periodontics.* 2007; 2: 3-8.
27. Tsepov LM, Tsepova E.Ya., Nesterova MM Physicochemical and metabolic parameters of the oral fluid and saliva as indicators of the state of the body. *Dental Yug.* 2010.-№ 10 (82).- p. 54-57.
28. Lazaro A.S., Mussavira S., Bindhu O.S. Clinical and diagnostic utility of saliva as a noninvasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochemia Medica.* 2015; 25(2): 177-92.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Митронин А.В. – профессор, доктор медицинских наук, декан стоматологического факультета МГМСУ, заведующий кафедрой, Заслуженный врач РФ; ORCID ID: 0000-0002-3561-6222.

Хворостенко О.А. – аспирант, ассистент.

Останина Д.А. – ассистент, ORCID ID: 0000-0002-5035-5235.

Митронин Ю.А. – студент, ORCID ID: 0000-0002-3118-2869.

Кафедра кариесологии и эндодонтии. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

AUTHOR INFORMATION:

Alexander Mitronin – professor, Doctor of Medical Sciences, Dean of the Faculty of Dentistry, Head of the Department, Honored Doctor of Russian Federation; ORCID ID: 0000-0002-3561-6222.

Olesya Khvorostenko – graduate student, assistant

Diana Ostanina – assistant, ORCID ID: 0000-0002-5035-5235.

Yuri Mitronin – student, ORCID ID: 0000-0002-3118-2869.

Department of Cariology and Endodontics. A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia.

Координаты для связи с авторами / Coordinates for communication with authors:

Митронин А.В. / Alexander Mitronin, E-mail: mitroninav@list.ru