

SALIVA BIOMARKERS IN PATHOLOGICAL CONDITIONS OF PERIODONTIUM**Dnipro Medical Institute of Traditional and Nontraditional Medicine (Dnipro, Ukraine)****s.ostr2018@gmail.com**

Many modern studies have identified new diagnostic biomarkers for various systemic diseases. The use of saliva has led to paradigm changes in diagnostic analysis. In this connection, oral fluid is attracting more and more attention due to such essential attributes as non-invasive sampling, low cost, and more accurate diagnosis of oral diseases. Due to the ease of use, such diagnostics are currently helpful for mass screening programs. The recent advent of high-sensitivity technologies, such as next-generation sequencing, mass spectrometry, high-sensitivity enzyme-linked immunosorbent analyses, and homogeneous immune analyses, suggests that even small amounts of salivary biomarkers can be accurately analyzed. The study aimed to explore the current scientific achievements of foreign scientists on the use of salivary biomarkers in periodontal disease. Thus, according to our analysis, salivary biomarkers open up promising prospects for their use as a critical diagnostic environment in periodontitis.

Key words: *saliva biomarkers, periodontal tissue diseases, chemical elements, a correlation between metals, diagnostics.*

Relationship of the publication with the planned research works. This work is a fragment of the scientific topic of the Department of Medical Biology: «Development and morphofunctional condition of organs and tissues of experimental animals and humans in the norm, in ontogenesis under the influence of external factors», State registration № 0111U 009598.

Introduction. Most diagnostic tests used in daily health monitoring are areas of diagnosis using invasive blood tests [1]. However, it has recently become popular to use saliva diagnostics to assess systemic diseases and monitor general health among clinicians. The relatively recent introduction of oral fluid (saliva) diagnostics has led to a severe change in the diagnostic analysis paradigm [2]. Saliva testing has shown promising results in several areas, especially genomics, microbiomics, proteomics, metabolomics, and transcriptomics. Despite the analytical problems associated with the interpretation of large data sets from biochemical studies of body fluids, including saliva, many studies have identified new saliva biomarkers for diagnosing oral diseases and systemic diseases. In this regard, oral biofluids, including saliva, gum exudate, peri-implant, dentin, and tubular fluid, are now increasingly used for analysis because of their essential attributes such as non-invasive sampling, ease of use, low cost, and more accurate diagnosis of oral cavity diseases [3].

The study aims to analyze foreign research on salivary biomarkers used to diagnose periodontal diseases.

Main part. Saliva contains a wide range of protein biomarkers, DNA, and RNA that help diagnose many diseases and conditions, including cancer, cardiovascular disease (CVD), autoimmune and degenerative diseases, respiratory infections, oral diseases, and microbial diseases: viral, bacterial, and fungal. In addition, as non-invasive research methods, saliva biomarkers are used to diagnose periodontal disease, which is especially important in massive children screening pro-

grams and studies related to oral health in adults and for clinical trials in the development of the therapeutic measure [4].

Chronic periodontitis is a widespread inflammatory disease that affects the periodontium, disrupting the supporting teeth apparatus (gums, cementum, periodontal connective, and alveolar bones) and adversely affecting overall health; it is one of the ten most common diseases worldwide [5, 6]. Periodontal disease is mainly a chronic inflammatory condition of the tissues surrounding, supporting, and protecting teeth. Severe periodontitis can lead to loosening and loss of teeth. Weakening of the body's defense mechanisms, resulting in increased susceptibility of periodontal tissues to bacterial infection, depends on many factors. They can divide into two determinants over which a person has no control and risk factors that increase susceptibility to periodontal disease. The first group includes genetics, gender, race, age, and socioeconomic status. In contrast, the second group provides smoking, poor oral hygiene, hormones, poor nutrition, medication, stress, and many diseases such as diabetes, osteoporosis, AIDS, etc. Periodontal diseases are widespread among the population and are considered social diseases [7, 8].

Due to the high prevalence of periodontal disease, it is essential to identify effective biomarkers in the clinical periodontal disease assessment. Therefore, many researchers have tried to identify markers specific to periodontitis. Traditionally, the diagnosis was based on measuring specific biochemical parameters in the blood or gum fracture fluid, but recently saliva has become the best biological material. Various saliva biomarkers have been proposed, promising prospects for its use as a critical diagnostic environment for periodontal disease. Several high-value studies have shown that potential salivary biomarkers can provide important additional diagnostic information and be used as tests for screening diagnosis and prognosis of oral disease progression [9].

Highly conserved single-stranded miRNAs (miRNAs) are members that do not encode ribonucleic acids and function as regulators of essential protein synthesis. It has been found that miRNAs play many roles, from organogenesis and development to homeostasis. Improper miRNAs expression has been almost all diseases feature, and their deregulation is tissue-specific in some cancers, such as gastric, colon and liver, and periodontitis [10]. It is believed that miRNAs play a vital organizing role in such processes. Due to the relative novelty in the study of the miRNA's role in periodontal disease, these issues need further clarification. Previous microarray studies have shown dysregulation of some miRNAs (mi-223, mi-203, and mi-200b) in gum tissue biopsies or chronic periodontitis cell cultures [11].

It is known that minerals lack causes dysfunction in the human body. At the same time, the accumulation of toxic or essential metals can also lead to serious health problems or even death [12]. The relationship between the metal level in the body and various diseases has been studied [13]. Most current publications are devoted to the relationship between the trace elements concentration in the body and cancer. Other conditions, such as CVD and hepatitis C, have also been considered [14, 15]. Metals are widely used in dentistry, and their application has various aspects [16, 17, 18, 19, 20]. Given the many biological metal functions, studying their profile in periodontitis and identifying their level changes in the oral fluid are exciting and have potential diagnostic value. The authors of the study [21] came to this conclusion by studying any possible periodontal disease effect on the concentration of the following metals in oral fluid and blood: calcium (Ca), copper (Cu), iron (Fe), magnesium (Mg), manganese (Mn), zinc (Zn), cadmium (Cd) and lead (Pb) to effectively distinguish people with periodontitis from healthy people. The concentration of metals in saliva was measured by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and inductively coupled plasma emission spectrometry (ICP-OES) in 31 patients with periodontitis and 29 healthy volunteers. Metals were divided into two groups: essential (basic) Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, and Zn, and toxic Cd and Pb.

In patients with periodontitis in the oral fluid, the highest average levels were found in Ca (39.2 mg/l), followed by Mg (9.9 mg/l) and Fe (1.0 mg/l). Other metals were present in relatively low quantities. Toxic metals had low concentrations, the highest in Pb (15.8 µg/l). It should be noted that the Mn concentration in the patient's oral fluid (41.1 µg/l) was significantly higher compared to the value given in other publications, where the average concentration of this element was 2.94 ± 2.83 µg/l. It can be concluded that the Mn concentration in saliva varies widely. It is probably due to diet, supplements, or different habitats. Both in the group of patients with periodontitis and the control group – Ca, Mg, and Fe were present in saliva in the highest concentrations among essential metals. Pb was

more common than Cd, being the primary toxic metal. Analysis of the data using the two-way Mann-Whitney test showed no significant differences between Ca, Cd, Fe, Pb, and Zn in the patient's saliva with periodontitis and healthy donors. However, in patients with periodontal disease, there was a statistically significant increase in the concentration of Cu (550 %), Mg (190 %), and Mn (273 %) in saliva. It was evidence that differences in these elements' levels in saliva are associated with periodontal disease.

Concentrations of test metals in the oral fluid were also assessed for relative gender variations in both groups (Mann-Whitney test at $p < 0.05$). Mean levels of Ca, Cd, Mg, Mn, and Pb were higher in saliva in male patients, whereas in Cu, Fe, and Zn, average concentrations were higher in female patients' saliva. In particular, the difference in Mg content between the two groups was quite significant (8.6 ± 5.3 mg/l for women and 11.5 ± 5.3 mg/l for men). In the patients blood with periodontitis were the highest concentrations of essential elements: Fe (451.3 mg/l), Ca (87.0 mg/l), Mg (37.1 mg/l), Zn (2.2 mg/l) and Cu (0.6 mg/l). Other metals were present in trace amounts.

The next step was to compare the metal concentration in the studied biological samples to confirm whether saliva could be used as an alternative material to assess the metal's status throughout the body. Blood and saliva samples were taken simultaneously from nine patients with periodontitis. The correlation coefficient of each selected element pair in these liquids was calculated, ranging from $r = -0.413$ (Zn) to $r = 0.336$ (Ca). The results indicate the absence of a strong linear correlation between metal concentrations ($p < 0.05$). Average concentrations of all elements, except Cd, were statistically significantly different from each other in blood and saliva (Mann-Whitney test, $p < 0.05$). Correlations between metals in the patient's saliva with periodontitis and the control group saliva were studied. Significant positive associations were observed in the patients' group with periodontitis between Zn – Fe, Fe – Pb, Cd – Ca, Cd – Zn, and Pb – Cd. The Cd, Mn, and Mg concentrations in saliva were inversely proportional to the other elements. In the case of the control group, strong positive correlations were found between the following elements: Ca – Mg, Zn – Cd, Ca-Cd, Ca – Zn and Pb – Mg, while Cd was negatively correlated with most metals. The nature of the metals' interdependence in the patients' saliva differed from that in healthy donors.

A hierarchical cluster analysis performed to study the possibility of diagnosing periodontal disease based on the metal content of saliva led to the conclusion that the classification based on the concentrations of eight studied metals in saliva gives satisfactory results. The relationship between metal concentrations and periodontal disease may serve to prevent the disease recurrence in the future. However, there is still much work to be done to identify various molecules, including metals

of clinical value, to assess destructive periodontal disease's current and future activity [22].

Conclusions. 1. Measurements of specific biochemical parameters in blood or gum fluid have shown that saliva is the best biological material for periodontitis, and saliva biomarkers can be used as tests for screening diagnosis and prognosis of periodontal disease progression.

2. A study based on the concentrations of eight metals (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn, Cd, Pb) in saliva showed that the nature of the metals' interdependence in the patients' saliva with periodontitis differed from that

of healthy donors and therefore the identification of changes in their level in the oral fluid has potential diagnostic value.

Prospects for further research. Future developments in proteomic analysis and personalized medicine will create the way for the emergence of new quantitative tests to diagnose various stages of periodontal disease, including the content and dynamics of metals in saliva. Their application in dentistry the field will depend in part on how practitioners will use them in their daily clinical practice.

References

1. Zhai G. Clinical relevance of biochemical and metabolic changes in osteoarthritis. *Advances in Clinical Chemistry*. 2021;101:95–120.
2. He W, You M, Li Z, Cao L, Xu F, Li F, et al. Upconversion nanoparticles-based lateral flow immunoassay for point-of-care diagnosis of periodontitis. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 2021;334:29673.
3. El Azazy O, Amr K, And A, Fattah E, Abouzaid M. Evaluation of serum and gingival crevicular fluid microRNA-223, microRNA-203 and microRNA-200b expression in chronic periodontitis patients with and without diabetes type 2. *Archives of Oral Biology*. 2020;121:104949.
4. Khurshid Z, Warsi I, Moin SF, Slowey PD, Latif M, Zohaib S, et al. Biochemical analysis of oral fluids for disease detection *Advances in Clinical Chemistry*. 2021;100:205–253.
5. Goudouri OM, Kontonasaki E, Boccaccini AR. *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering*. Woodhead Publishing; 2017. Chapter 17, Layered scaffolds for periodontal regeneration; p. 279–295.
6. Preshaw PM, Taylor JJ, Jaedicke KM, De Jager M, Bikker JW, Selten W, et al. Treatment of periodontitis reduces systemic inflammation in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Periodontology*. 2020;47(6):737–746.
7. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;22(3):17038.
8. Altun E, Walther C, Borof K, Petersen E, Lieske B, Kasapoudis D, et al. Association between Dietary Pattern and Periodontitis-A. *Cross-Sectional Study Nutrients*. 2021;13(11):4167.
9. Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Archives of Oral Biology*. 2018;87:115–124.
10. Olsen I, Singhrao S.K, Osmundsen H. Periodontitis, pathogenesis and progression: miRNA-mediated cellular responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Oral Microbiology*. 2017;9(1):1333396.
11. Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, Honma Y, Yamada Y, Furuta K, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PLoS One*. 2014;9(4): e92921.
12. Zhang L, Zhu Y, Hao R, Shao M, Luo Y. Cadmium levels in tissue and plasma as a risk factor for prostate carcinoma: a meta-analysis. *Biological Trace Element Research*. 2016;172(1):86–92.
13. Saghir M, Shaheen N, Shah MH. Comparative evaluation of trace metals in the blood of hepatitis C patients and healthy donors. *Biological Trace Element Research*. 2011;143:751–63.
14. Tan C, Chen H. Screening of prostate cancer by analyzing trace elements in hair and chemometrics. *Biological Trace Element Research*. 2011;144:97–108.
15. Wozniak A, Napierala M, Golasik M, Herman M, Walas S, Piekoszewski W, et al. Metal concentrations in hair of patients with various head and neck cancers as a diagnostic aid. *BioMetals*. 2016;29:81–93.
16. Yousefi H. Replacing dental amalgam by mercury-free restorative materials; it's time to take action. *DARU*. 2018;26(1):1–3.
17. Nikolova MP, Chavali MS. Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials. *Biomimetics (Basel)*. 2020;5(2):27.
18. Olszewska A, Hanc A. The potential of trace elements mapping in child's natal tooth by laser ablation-ICPMS method. *Biological Trace Element Research*. 2020;196(2):646–653.
19. Kulkarni P, Bansal SA, Jain A, Tiwari U, Anand A. Assessment of nickel release from various dental appliances used routinely in pediatric dentistry. *Indian Journal of Dental Research*. 2016;7(2):81–85.
20. Ashtiani RE, Alam M, Tavakolizadeh S, Abbasi K. The Role of Biomaterials and Biocompatible Materials in Implant-Supported Dental Prosthesis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:3349433.
21. Herman M, Golasik M, Piekoszewski W, Walas S, Napierala M, Wyganowska-Swiatkowska M, et al. Essential and Toxic Metals in Oral Fluid-a Potential Role in the Diagnosis of Periodontal Diseases. *Biological Trace Element Research*. 2016;173(2):275–82.
22. Gupta A, Govila V, Saini A. Proteomics – The research frontier in periodontics. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 2015;5(1):46–52.

БИОМАРКЕРИ СЛИНИ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ ПАРОДОНТА

Островська С.С., Герасимчук П.Г., Крижанівський Д.Г., Зайцев Л.О., Терещенко Н.М., Великородний В.І.

Резюме. В огляді іноземної літератури наданий аналіз використання ротової рідини для діагностики захворювань пародонту. Тестування слини показало багатообіцяючі результати в ряді областей, особливо в галузях геноміки, мікробіоміки, протеоміки, метаболоміки та транскриптоміки. Слина містить широкий спектр біомаркерів білка, ДНК та РНК, які допомагають у діагностиці безлічі захворювань та станів, включаючи рак, серцево-судинні, аутоімунні і дегенеративні хвороби, а також захворювання тканин пародонта. У низці досліджень з високою цінністю доказів показано, що біомаркери слини можуть використовуватися як тести для скринінгового діагнозу,

прогнозу та оцінки прогресування захворювань пародонта. Вивчали вплив патологічного стану пародонта на концентрацію металів у ротовій рідині та в крові: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, Cd та Pb для того, щоб можна було ефективно відрізнити людей, які страждають на пародонтит, від здорових людей. Концентрацію металів у слині вимірювали у пацієнтів із пародонтитом та здорових добровольців. Як у групі пацієнтів з пародонтитом, так і в контрольній групі Ca, Mg і Fe були присутні в слині в найвищих концентраціях серед есенціальних металів, серед токсичних Pb зустрічався значно частіше ніж Cd. У пацієнтів із захворюваннями пародонту спостерігалось статистично значуще збільшення концентрації Cu, Mg та Mn. Середні рівні Ca, Cd, Mg, Mn та Pb були вищими в слині у пацієнтів чоловіків, а середні рівні Cu, Fe та Zn були вищими у пацієнтів жінок. Були досліджені кореляції між металами у слині пацієнтів з пародонтитом та у слині контрольної групи. У першому випадку значні позитивні асоціації спостерігалися між Zn – Fe, Fe – Pb, Cd – Ca, Cd – Zn та Pb – Cd. У разі контрольної групи сильні позитивні кореляції були виявлені між такими елементами: Ca – Mg, Zn – Cd, Ca – Cd, Ca – Zn та Pb – Mg, тоді як Cd негативно корелював з більшістю металів. Характер взаємної залежності металів у ротовій рідині пацієнтів відрізнявся від такого у здорових донорів. Таким чином, дослідження взаємозв'язку між концентраціями металів у слині при пародонтитах може мати діагностичну та профілактичну цінність.

Ключові слова: біомаркери слини, пародонтит, діагностика, хімічні елементи, кореляція між металами.

SALIVA BIOMARKERS IN PATHOLOGICAL CONDITIONS OF PERIODONTIUM

Ostrovska S.S., Gerasimchuk P.G., Krizhanivsky D.G., Zaitsev L.O., Tereshchenko N.M., Velikorodni V.I.

Abstract. In the review of foreign literature, an analysis of the use of oral fluid for the diagnosis of diseases of oral cavity is provided.

Due to the high prevalence of periodontal disease, it is important to identify biomarkers that are effective in the clinical assessment of periodontal disease. Therefore, many researchers have tried to identify markers specific to periodontitis. Traditionally, the diagnosis has been based on the measurement of specific biochemical parameters in blood or gingival crack fluid, but recently saliva has become the best biological material. Various biomarkers of saliva have been proposed opening promising prospects for its use as a key diagnostic environment for periodontal disease. Saliva testing has shown promising results in a number of areas, especially in the those of genomics, microbiomics, proteomics, metabolomics and transcriptomics. Saliva contains a wide range of protein, DNA and RNA biomarkers, which help in the diagnosis of many diseases and conditions, including cancer, cardiovascular, autoimmune and degenerative diseases, as well as diseases of the oral cavity. A number of studies with high value of evidence have shown that saliva biomarkers can be used as tests for screening diagnosis, prognosis and evaluation of periodontal disease progression. They studied the effect of the pathological condition of the periodontium on the concentration of metals in the oral fluid and in the blood: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, Cd and Pb in order to be able to effectively distinguish people suffering from periodontitis from healthy people. It was showed, that the average concentrations of all elements studied, with the exception of Cd, were statistically significantly different from each other in blood and saliva. The concentration of metals in saliva was measured in patients with periodontitis and healthy volunteers. Both in the group of patients with periodontitis and in the control group Ca, Mg and Fe were present in the highest concentrations among essential metals, and among the toxic ones Pb was much more common than Cd. In patients with periodontal diseases there is a statistically significant increase in the concentration of Cu, Mg and Mn. The average Ca, Cd, Mg, Mn and Pb levels were higher in saliva in men, and the average Cu, Fe and Zn levels were higher in women. The correlations between metals in the saliva of patients with periodontitis and in the saliva of the control group were investigated. In the first case, significant positive associations were observed between Zn – Fe, Fe – Pb, Cd – Ca, Cd – Zn and Pb – Cd. In the case of the control group, strong positive correlations were detected between the following elements: Ca – Mg, Zn – Cd, Ca – Cd, Ca – Zn and Pb – Mg, while Cd negatively correlated with most metals. The nature of the mutual dependence of metals in the oral fluid of patients was different from that of healthy donors. Thus, the study of the relationship between the concentrations of metals in saliva in periodontitis can have diagnostic and prophylactic value.

Key words: saliva biomarkers, periodontitis, chemical elements, metals correlation, diagnosis.

ORCID and contributionship:

Ostrovska S.S.: 0000–0002–0373–3491 ^{ABDF}

Gerasimchuk P.G.: 0000–0001–9698–1912 ^{DE}

Krizhanivsky D.G.: – ^F

Zaitsev L.O.: 0000–0002–0840–729X ^E

Tereshchenko N.M.: 0000–0001–6380–2551 ^B

Velikorodni V.I.: 0000–0002–3183–7036 ^C

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest.

Corresponding author
Ostrovska Svitlana Serhiyivna
Dnipro Medical Institute of Traditional and Nontraditional Medicine
Ukraine, 49005, Dnipro, 17 Sevastopol's'ka str.
Tel: +380675915184
E-mail: s.ostr2018@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 26.11.2021

Accepted 25.04.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-46-54

УДК 616.314.17:612.313]-07

Островська С.С., Герасимчук П.Г., Крижанівський Д.Г., Зайцев Л.О., Макарець М.Ф., Великородний В.І.

БИОМАРКЕРИ СЛЮНИ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ ПАРОДОНТА

Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини (м. Дніпро, Україна)

s.ostr2018@gmail.com

Багато сучасних досліджень виявили нові біомаркери для діагностики захворювань різних системних захворювань. Використання слини привело до змін парадигми діагностичного аналізу. У зв'язку з цим оральна рідина привертає все більше уваги із-за таких важливих атрибутів як неінвазивне взяття проб, невисока вартість та більш точна діагностика захворювань ротової порожнини. Завдяки простоті застосування, у даний час така діагностика корисна для програм масового скринінга. Недавня поява високочутливих технологій, таких як секвенування наступного покоління, мас-спектрометрія, високочутливі імуноферментні аналізи і гомогенні імуноаналізи, припускає, що навіть невеликі кількості біомаркерів слини можуть бути точно проаналізовані, що відкриває можливість для розробки багатьох майбутніх діагностичних методів. Метою дослідження було проаналізувати сучасні наукові досягнення зарубіжних науковців щодо використання біомаркерів слини при захворюваннях тканин пародонта. Таким чином, у відповідності до нашого аналізу, біомаркери слини відкривають багатообіцяючі перспективи їх використання в якості ключового діагностичного середовища при пародонтиті.

Ключові слова: біомаркери слини, захворювання тканин пародонта, хімічні елементи, кореляція між металами, діагностика.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дана робота є фрагментом наукової теми кафедри медичної біології: «Розвиток і морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин і людей в нормі, в онтогенезі під впливом зовнішніх факторів», № держ. реєстрації 0111U 009598.

Вступ. Більшість діагностичних тестів, що використовуються у рамках повсякденного моніторингу здоров'я – це область діагностики з використанням інвазивного аналізу крові [1]. Останнім часом стало популярним серед клініцистів. використання діагностики слини для оцінки системних захворювань і моніторингу загального стану здоров'я. Відносно недавнє впровадження діагностики ротової рідини (слини) привело до серйозної зміни парадигми діагностичного аналізу [2]. Тестування слини показало багатообіцяючі результати в ряді областей, особливо в таких як геноміка, мікробіоміка, протеоміка, метаболоміка і транскриптоміка. Не зважаючи на аналітичні проблеми, зв'язані з інтерпретацією великих наборів даних, отриманих у результаті біохімічних досліджень рідин організму, включаючи слину,

багато досліджень виявили нові біомаркери слини для діагностики захворювань порожнини рота і системних захворювань. У зв'язку з цим оральні біорідини, включаючи слину, ясеневий ексудат, періімплантатну, дентинну і каналцеву рідину у даний час все більше залучають для аналізів через їхні важливі атрибути, таких як неінвазивний забір проб, простота використання, невисока вартість і більш точна діагностика захворювань порожнини рота [3].

Мета дослідження. Аналіз зарубіжних наукових досліджень щодо використання біомаркерів слини для діагностики захворювань тканин пародонта.

Основна частина. Слина містить широкий спектр біомаркерів білка, ДНК і РНК, що допомагають у діагностиці безлічі захворювань і станів, включаючи рак, серцево-судинні захворювання (ССЗ), аутоімунні і дегенеративні захворювання, респіраторні інфекції, захворювання порожнини рота і мікробні захворювання: вірусні, бактеріальні і грибові. Біомаркери слини, як неінвазивні методи дослідження, застосовуються для діагностики хвороб тканин пародонту, що особливо важливо в програмах масового скринінгу при обстеженні дітей, а також

досліджень, зв'язаних зі здоров'ям порожнини рота у дорослих та для клінічних іспитів в процесі розробки терапевтичних заходів [4].

Хронічний пародонтит – широко розповсюджене запальне захворювання, що уражає пародонт, порушуючи підтримуючі зуби апарати (ясна, цемент, періодонтальну зв'язуючу й альвеолярну кістки) і роблячи несприятливий вплив на загальний стан здоров'я, є одним з десяти найбільш розповсюджених захворювань в усім світі [5, 6]. Захворювання пародонта – це в основному хронічні запальні стани тканин, що оточують, підтримують і захищають зуби. Важкий періодонтит може привести до розхитування і втрати зубів. Послаблення захисних механізмів організму, унаслідок чого підвищується сприйнятливість тканин пародонта до бактеріальної інфекції, залежить від багатьох факторів. Їх можна розділити на дві детермінанти, над якими людина не владна, і фактори ризику, що підвищують сприйнятливість до захворювань пародонту. До першої групи відносяться такі фактори, як генетика, стать, раса, вік і соціально-економічний статус, а до другої – паління, погана гігієна порожнини рота, гормони, неправильне харчування, прийом певних ліків, стрес і численні захворювання, такі як діабет, остеопороз, СНІД тощо. Захворювання пародонта широко поширені серед населення і вважаються соціальним захворюванням [7, 8].

Через високу поширеність захворювань пародонта важливо визначити біомаркери, що ефективні в клінічній оцінці стану пародонта. Тому багато дослідників намагалися ідентифікувати маркери, специфічні для пародонтиту. Традиційно діагноз ґрунтувався на вимірі конкретних біохімічних параметрів у крові або ясеневій трещинній рідині, але останнім часом слина стала кращим біологічним матеріалом. Були запропоновані різні біомаркери слини, що відкривають багатообіцяючі перспективи її використання в якості ключового діагностичного середовища для захворювань пародонта. У цілому ряді досліджень з високою цінністю доказів показано, що потенційні біомаркери слини можуть надати важливу додаткову діагностичну інформацію і можуть використовуватися як тести для скринінгового діагнозу, прогнозу прогресування захворювань ротової порожнини [9].

Висококонсервативні одноланцюгові мікроРНК (miRNA) відносяться до членів, що не кодують рибонуклеїнові кислоти і функціонують як регулятори синтезу основного білка. Було виявлено, що miRNAs виконують безліч ролей, починаючи з органогенезу і розвитку до гомеостазу. Неправильна експресія miRNA була характерною рисою майже всіх захворювань і їхня дерегуляція є тканинспецифічною як при деяких типах раку, таких як рак шлунку, товстої кишки і печінки, так і при пародонтиті [10]. Вважається, що miRNAs відіграють життєво важливу організуючу роль у таких процесах, і завдяки від-

носній новизні в дослідженні ролі miRNAs у захворюваннях пародонта ці питання мають потребу в подальшому з'ясуванні. Попередні дослідження мікромасивів продемонстрували порушення регуляції деяких miRNA (таких як mi-223, mi-203 і mi-200b) у біоптатах тканин ясен або культурах кліток хронічного пародонтиту [11].

Відомо, що недолік мінералів викликає порушення функцій людського організму. У той же час нагромадження токсичних або есенціальних металів також може привести до серйозних проблем зі здоров'ям або навіть до смерті [12]. Вивчався зв'язок між рівнем металів в організмі і різних захворюваннях [13]. Більшість актуальних публікацій присвячені взаємозв'язкам між змістом мікроелементів в організмі і захворюваністю раком. Інші захворювання, такі як ССЗ і гепатит С, також розглядалися в цьому контексті [14, 15]. Метали широко використовуються в стоматології і їхнє застосування має різні аспекти [16, 17, 18, 19, 20]. З огляду на багато біологічних функцій металів, вивчення їхнього профілю при пародонтиті й ідентифікація змін їхнього рівня в ротовій рідині представляються цікавими і мають потенційну діагностичну цінність. До цього висновку автори дослідження [21] прийшли, вивчаючи будь-який можливий вплив захворювань пародонту на концентрацію наступних металів у ротовій рідині й у крові: кальцію (Ca), міді (Cu), заліза (Fe), магнію (Mg), марганцю (Mn), цинку (Zn), кадмію (Cd) і свинцю (Pb) для того, щоб можна було ефективно відрізнити людей, що страждають пародонтитом, від здорових людей. Концентрацію металів у слині вимірювали за допомогою методу мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-MS) і оптичної емісійної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-OES) у двох групах: 31 пацієнт із пародонтитом і 29 здорових добровольців. Метали були розділені на дві групи: есенціальні (основні) Ca, Cu, Fe, Mg, Mn і Zn, і токсичні Cd і Pb.

У пацієнтів з парадонтитом у ротовій рідині найбільш високі середні рівні були виявлені в Ca (39,2 мг/л), за ним випливали Mg (9,9 мг/л) і Fe (1,0 мг/л). Інші метали були присутні у відносно низьких кількостях. Токсичні метали мали низькі концентрації, найвища з яких була в Pb (15,8 мкг/л). Варто відзначити, що концентрація Mn у ротовій рідині пацієнтів (41,1 мкг/л) була значно вище в порівнянні зі значенням, приведеним в інших публікаціях, де середня концентрація цього елемента складала $2,94 \pm 2,83$ мкг/л. Можна зробити висновок про те, що концентрація Mn у слині коливається в широких межах. Імовірно, це зв'язано з впливом дієти, харчових добавок або різних місць проживання. Як у групі пацієнтів з парадонтитом, так і в контрольній групі Ca, Mg і Fe були присутні в слині в найвищих концентраціях серед есенціальних металів, при цьому Pb зустрічався частіше, ніж Cd, будучи основним токсичним металом. Аналіз даних за допомогою

двостороннього тесту Манна-Уїтні показав, що не було значних розходжень між рівнями Ca, Cd, Fe, Pb і Zn у слині пацієнтів з пародонтитом і в здорових донорів. Однак у пацієнтів із захворюваннями пародонта спостерігалось статистично значиме збільшення концентрації Cu (550 %), Mg (190 %) і Mn (273 %) у слині. Це було свідченням того, що розходження в рівнях цих елементів у слині зв'язані з захворюваннями пародонта.

Концентрації досліджуваних металів у ротовій рідині також оцінювали на предмет відносних гендерних варіацій в обох групах (критерій Манна-Уїтні при $p < 0,05$). Середні рівні Ca, Cd, Mg, Mn і Pb були вище в слині в пацієнтів чоловіків, у той час як у випадках з Cu, Fe і Zn середні концентрації були вище в слині в пацієнтів жінок. Зокрема, різниця в змісті Mg між двома групами була досить значною ($8,6 \pm 5,3$ мг/л для жінок і $11,5 \pm 5,3$ мг/л для чоловіків). У крові пацієнтів з пародонтитом були самі високі концентрації есенціальних елементів: Fe (451,3 мг/л), Ca (87,0 мг/л), Mg (37,1 мг/л), Zn (2,2 мг/л) і Cu (0,6 мг/л). Інші метали були присутні в слідових кількостях.

На наступному етапі порівнювали концентрацію металів у досліджуваних біологічних зразках, щоб підтвердити, чи можна використовувати слину як альтернативний матеріал для оцінки статусу металів всього організму. Зразки крові і слини були узяті одночасно в дев'яти пацієнтів з пародонтитом. Був розрахований коефіцієнт кореляції кожної пари обраних елементів у цих рідинах, що знаходився в діапазоні від $r = -0,413$ (Zn) до $r = 0,336$ (Ca). Результати свідчать про відсутність сильної лінійної кореляції між концентраціями металів ($p < 0,05$). Середні концентрації всіх елементів, за винятком Cd, статистично значимо відрізнялися один від одного в крові й у слині (тест Манна-Уїтні, $p < 0,05$). Були досліджені кореляції між металами в слині пацієнтів з пародонтитом і в слині контрольної групи. У групі пацієнтів з пародонтитом значимі позитивні асоціації спостерігалися між Zn – Fe, Fe – Pb, Cd – Ca, Cd – Zn і Pb – Cd. Концентрація Cd, Mn і Mg у слині була зворотно пропорційна іншим елементам. У випадку

контрольної групи сильні позитивні кореляції були виявлені між наступними елементами: Ca – Mg, Zn – Cd, Ca – Cd, Ca – Zn і Pb – Mg, у той час як Cd негативно корелював з більшістю металів. Характер взаємної залежності металів у слині пацієнтів відрізнявся від такого в здорових донорів.

Щоб вивчити можливість діагностики захворювань пародонту на основі змісту металів у слині, був проведений ієрархічний кластерний аналіз, на підставі якого зроблений висновок про те, що класифікація на основі концентрацій восьми досліджених металів у слині дає задовільні результати. Взаємозв'язок між концентраціями металів і захворюваннями пародонту може в майбутньому послужити запобіганню рецидиву захворювання. Проте, має бути ще багато роботи з ідентифікації різних молекул, у тому числі металів, що мають клінічну цінність для оцінки поточної і майбутньої активності деструктивних захворювань тканин пародонта [22].

Висновки. 1. Виміри конкретних біохімічних параметрів у крові або ясеневій рідині показали, що слина є кращим біологічним матеріалом при пародонтиті і біомаркери слини можуть використовуватися як тести для скринінгового діагнозу, прогнозу прогресування захворювань пародонта.

2. Дослідження на основі концентрацій восьми металів (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn і Zn, Cd, Pb) у слині показав, що характер взаємної залежності металів у слині пацієнтів при пародонтитах відрізнявся від такого в здорових донорів і тому ідентифікація змін їхнього рівня в ротовій рідині має потенційну діагностичну цінність.

Перспективи подальших досліджень. Майбутні розробки в області протеомного аналізу і персоналізованої медицини прокладуть шлях до появи нових кількісних тестів для діагностики різних стадій захворювання тканин пародонта, у тому числі по вмісту і динаміці металів у слині. Їхнє застосування в області стоматології буде залежати в тому числі від того, як практикуючі лікарі будуть використовувати їх у своїй повсякденній клінічній практиці.

Література

1. Zhai G. Clinical relevance of biochemical and metabolic changes in osteoarthritis. *Advances in Clinical Chemistry*. 2021;101:95–120.
2. He W, You M, Li Z, Cao L, Xu F, Li F, et al. Upconversion nanoparticles-based lateral flow immunoassay for point-of-care diagnosis of periodontitis. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 2021;334:29673.
3. El Azazy O, Amr K, And A, Fattah E, Abouzaid M. Evaluation of serum and gingival crevicular fluid microRNA-223, microRNA-203 and microRNA-200b expression in chronic periodontitis patients with and without diabetes type 2. *Archives of Oral Biology*. 2020;121:104949.
4. Khurshid Z, Warsi I, Moin SF, Slowey PD, Latif M, Zohaib S, et al. Biochemical analysis of oral fluids for disease detection *Advances in Clinical Chemistry*. 2021;100:205–253.
5. Goudouri OM, Kontonasaki E, Boccaccini AR. *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering*. Woodhead Publishing; 2017. Chapter 17, Layered scaffolds for periodontal regeneration; p. 279–295.
6. Preshaw PM, Taylor JJ, Jaedicke KM, De Jager M, Bikker JW, Seltzer W, et al. Treatment of periodontitis reduces systemic inflammation in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Periodontology*. 2020;47(6):737–746.
7. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017;22(3):17038.
8. Altun E, Walther C, Borof K, Petersen E, Lieske B, Kasapoudis D, et al. Association between Dietary Pattern and Periodontitis-A. Cross-Sectional Study *Nutrients*. 2021;13(11):4167.

9. Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Archives of Oral Biology*. 2018;87:115–124.
10. Olsen I, Singhrao S.K, Osmundsen H. Periodontitis, pathogenesis and progression: miRNA-mediated cellular responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Oral Microbiology*. 2017;9(1):1333396.
11. Ogata-Kawata H, Izumiya M, Kurioka D, Honma Y, Yamada Y, Furuta K, et al. Circulating exosomal microRNAs as biomarkers of colon cancer. *PLoS One*. 2014;9(4): e92921.
12. Zhang L, Zhu Y, Hao R, Shao M, Luo Y. Cadmium levels in tissue and plasma as a risk factor for prostate carcinoma: a meta-analysis. *Biological Trace Element Research*. 2016;172(1):86–92.
13. Saghir M, Shaheen N, Shah MH. Comparative evaluation of trace metals in the blood of hepatitis C patients and healthy donors. *Biological Trace Element Research*. 2011;143:751–63.
14. Tan C, Chen H. Screening of prostate cancer by analyzing trace elements in hair and chemometrics. *Biological Trace Element Research*. 2011;144:97–108.
15. Wozniak A, Napierala M, Golasik M, Herman M, Walas S, Piekoszewski W, et al. Metal concentrations in hair of patients with various head and neck cancers as a diagnostic aid. *BioMetals*. 2016;29:81–93.
16. Yousefi H. Replacing dental amalgam by mercury-free restorative materials; it's time to take action. *DARU*. 2018;26(1):1–3.
17. Nikolova MP, Chavali MS. Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials. *Biomimetics (Basel)*. 2020;5(2):27.
18. Olszewska A, Hanc A. The potential of trace elements mapping in child's natal tooth by laser ablation-ICPMS method. *Biological Trace Element Research*. 2020;196(2):646–653.
19. Kulkarni P, Bansal SA, Jain A, Tiwari U, Anand A. Assessment of nickel release from various dental appliances used routinely in pediatric dentistry. *Indian Journal of Dental Research*. 2016;7(2):81–85.
20. Ashtiani RE, Alam M, Tavakolizadeh S, Abbasi K. The Role of Biomaterials and Biocompatible Materials in Implant-Supported Dental Prosthesis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:3349433.
21. Herman M, Golasik M, Piekoszewski W, Walas S, Napierala M, Wyganowska-Swiatkowska M, et al. Essential and Toxic Metals in Oral Fluid—a Potential Role in the Diagnosis of Periodontal Diseases. *Biological Trace Element Research*. 2016;173(2):275–82.
22. Gupta A, Govila V, Saini A. Proteomics – The research frontier in periodontics. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 2015;5(1):46–52.

БИОМАРКЕРИ СЛИНИ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНАХ ПАРОДОНТА

Островська С.С., Герасимчук П.Г., Крижанівський Д.Г., Зайцев Л.О., Терещенко Н.М., Великородний В.І.

Резюме. В огляді іноземної літератури наданий аналіз використання ротової рідини для діагностики захворювань пародонту. Тестування слини показало багатообіцяючі результати в ряді областей, особливо в галузях геноміки, мікробіоміки, протеоміки, метаболоміки та транскриптоміки. Слина містить широкий спектр біомаркерів білка, ДНК та РНК, які допомагають у діагностиці безлічі захворювань та станів, включаючи рак, серцево-судинні, аутоімунні і дегенеративні хвороби, а також захворювання тканин пародонта. У низці досліджень з високою цінністю доказів показано, що біомаркери слини можуть використовуватися як тести для скринінгового діагнозу, прогнозу та оцінки прогресування захворювань пародонта. Вивчали вплив патологічного стану пародонта на концентрацію металів у ротовій рідині та в крові: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, Cd та Pb для того, щоб можна було ефективно відрізнити людей, які страждають на пародонтит, від здорових людей. Концентрацію металів у слині вимірювали у пацієнтів із пародонтитом та здорових добровольців. Як у групі пацієнтів з пародонтитом, так і в контрольній групі Ca, Mg і Fe були присутні в слині в найвищих концентраціях серед есенціальних металів, серед токсичних Pb зустрічався значно частіше ніж Cd. У пацієнтів із захворюваннями пародонту спостерігалось статистично значуще збільшення концентрації Cu, Mg та Mn. Середні рівні Ca, Cd, Mg, Mn та Pb були вищими в слині у пацієнтів чоловіків, а середні рівні Cu, Fe та Zn були вищими у пацієнтів жінок. Були досліджені кореляції між металами у слині пацієнтів з пародонтитом та у слині контрольної групи. У першому випадку значні позитивні асоціації спостерігались між Zn – Fe, Fe – Pb, Cd – Ca, Cd – Zn та Pb – Cd. У разі контрольної групи сильні позитивні кореляції були виявлені між такими елементами: Ca – Mg, Zn – Cd, Ca – Cd, Ca – Zn та Pb – Mg, тоді як Cd негативно корелював з більшістю металів. Характер взаємної залежності металів у ротовій рідині пацієнтів відрізнявся від такого у здорових донорів. Таким чином, дослідження взаємозв'язку між концентраціями металів у слині при пародонтитах може мати діагностичну та профілактичну цінність.

Ключові слова: біомаркери слини, пародонтит, діагностика, хімічні елементи, кореляція між металами.

SALIVA BIOMARKERS IN PATHOLOGICAL CONDITIONS OF PERIODONTIUM

Ostrowska S.S., Gerasimchuk P.G., Krizhanivsky D.G., Zaitsev L.O., Tereshchenko N.M., Velikorodny V.I.

Abstract. In the review of foreign literature, an analysis of the use of oral fluid for the diagnosis of diseases of oral cavity is provided.

Due to the high prevalence of periodontal disease, it is important to identify biomarkers that are effective in the clinical assessment of periodontal disease. Therefore, many researchers have tried to identify markers specific to periodontitis. Traditionally, the diagnosis has been based on the measurement of specific biochemical parameters in blood or gingival crack fluid, but recently saliva has become the best biological material. Various biomarkers of saliva have been proposed opening promising prospects for its use as a key diagnostic environment for periodontal disease. Saliva testing has shown promising results in a number of areas, especially in the those of genomics, microbiomics, proteomics, metabolomics and transcriptomics. Saliva contains a wide range of protein, DNA and RNA biomarkers, which help in the diagnosis of many diseases and conditions, including cancer, cardiovascular, autoimmune and degenerative diseases, as

well as diseases of the oral cavity. A number of studies with high value of evidence have shown that saliva biomarkers can be used as tests for screening diagnosis, prognosis and evaluation of periodontal disease progression. They studied the effect of the pathological condition of the periodontium on the concentration of metals in the oral fluid and in the blood: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn, Cd and Pb in order to be able to effectively distinguish people suffering from periodontitis from healthy people. It was showed, that the average concentrations of all elements studied, with the exception of Cd, were statistically significantly different from each other in blood and saliva. The concentration of metals in saliva was measured in patients with periodontitis and healthy volunteers. Both in the group of patients with periodontitis and in the control group Ca, Mg and Fe were present in the highest concentrations among essential metals, and among the toxic ones Pb was much more common than Cd. In patients with periodontal diseases there is a statistically significant increase in the concentration of Cu, Mg and Mn. The average Ca, Cd, Mg, Mn and Pb levels were higher in saliva in men, and the average Cu, Fe and Zn levels were higher in women. The correlations between metals in the saliva of patients with periodontitis and in the saliva of the control group were investigated. In the first case, significant positive associations were observed between Zn – Fe, Fe – Pb, Cd – Ca, Cd – Zn and Pb – Cd. In the case of the control group, strong positive correlations were detected between the following elements: Ca – Mg, Zn – Cd, Ca – Cd, Ca – Zn and Pb – Mg, while Cd negatively correlated with most metals. The nature of the mutual dependence of metals in the oral fluid of patients was different from that of healthy donors. Thus, the study of the relationship between the concentrations of metals in saliva in periodontitis can have diagnostic and prophylactic value.

Key words: saliva biomarkers, periodontitis, chemical elements, metals correlation, diagnosis.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Ostrovskya S.S.: 0000–0002–0373–3491^{ABDF}

Gerasimchuk P.G.: 0000–0001–9698–1912^{DE}

Krizhanivsky D.G.: –^F

Zaitsev L.O.: 0000–0002–0840–729X^E

Tereshchenko N.M.: 0000–0001–6380–2551^B

Velikorodni V.I.: 0000–0002–3183–7036^C

Конфлікт інтересів.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Островська Світлана Сергіївна

Дніпровський медичний інститут традиційної та нетрадиційної медицини

Адреса: Україна, 49005, м. Дніпро, вул. Севастопольська 17

Тел.: +380675915184

E-mail: s.ostr2018@gmail.com

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Стаття надійшла 26.11.2021
Стаття прийнята до друку 25.04.2022