

На правах рукописи

Селезнева Инна Александровна

**САЛИВАДИАГНОСТИКА
ПРИ МОЛЕКУЛЯРНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ
ПОРАЖЕНИЯХ ОРГАНИЗМА**

03.01.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Краснодар – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор
Гильмиярова Фрида Насыровна.

Официальные оппоненты:

Вавилова Татьяна Павловна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, профессор кафедры;

Камилов Феликс Хусаинович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, профессор кафедры;

Терехина Наталья Александровна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, заведующая кафедрой.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 02 марта 2021 г. в 09.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.038.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861)2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «___» _____ 202__ г.

Учёный секретарь
диссертационного совета Д 208.038.02
доктор медицинских наук,
доцент



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Актуальность темы исследования. Молекулярно-деструктивные поражения, оказывающие непосредственное влияние на качество жизни человека, принадлежат к числу патологических состояний, при которых важным является своевременный диагностический подход к выяснению нарушений, происходящих на молекулярном и клеточном уровнях организма. Тяжесть и рецидивирующий характер течения таких патологических процессов, как хронический генерализованный пародонтит, постхимиотерапевтические стоматиты у больных с острыми и хроническими лейкозами, одонтогенная флегмона определяют необходимость всестороннего изучения процессов, происходящих не только в тканях ротовой полости, но и в организме в целом, представляя актуальную медико-социальную проблему [Вавилова Т.П., Митронин А.В., Перевощикова О.А., 2012; Вавилова Т.П., Духовская Н. Е., Островская И. Г., 2017; Dongmei A., Huang R., Wen J. et al., 2017; Coles E. et al., 2017]. Как известно, гомеостаз полости рта подвергается воздействию неблагоприятных средовых и алиментарных агентов [Marsh P.D. et al., 2016]. В результате меняется белковый и минеральный состав биологических жидкостей, в том числе ротовой [Терёхина Н.А., Реук С.Э., Соловьева Л.И., 2012], что, несомненно, отражается на стоматологическом здоровье человека, являющимся важной составляющей его соматического здоровья.

Несмотря на активное развитие высокотехнологичных видов стоматологической помощи, появление новых видов диагностических и терапевтических услуг, как взрослое, так и детское население планеты имеют те или иные признаки хронического воспаления в ротовой полости в связи с малой эффективностью проводимого лечения [Герасимова Л.П., Камилов Ф.Х., Чемикосова Т.С. с соавт., 2018; Candeo L. et al., 2017; Coles E., Kruger E., Anjrini A. A. et al., 2017; Alvarez C., Rojas C., Rojas L. et al., 2018; Pietiäinen M., Liljestränd J. M., Akhi R. et al., 2019]. Развитие воспалительных заболеваний обусловлено несоответствием индивидуальных особенностей иммунитета и агрессивности бактериальной флоры [Гажва С. И., 2003; Курякина Н. В., Кутепова Т. Ф., 2003; Леонова Л. Е., Павлова Г. А., Тоболина Е. Н. с соавт., 2008], способствующей распространению процесса из десны на нижние отделы пародонта и вызывающей деструктивные процессы [Zhang T. et al., 2016; Dongmei A., 2017]. Внедрению патогенной микрофлоры противостоят эпителий полости рта и иммуннологические субстанции, среди которых специфическим белкам – иммуноглобулинам – принадлежит особая роль [Кунин А.А. с соавт., 2001; Waszkiewicz N., Galinska-Skok B., Zalewska A. et al., 2018]. Кроме того, важную роль в формировании ключевых путей антимикробной стратегии защиты организма от агрессивных пародонтопатогенов имеют интерлейкины, обладающие высокой реакционной способностью ответа на флоготенные и инфекционные стимулы. Среди них ин-

терлейкин-8, осуществляющий управление над физиологическими механизмами миграции из кровеносного русла нейтрофильных лейкоцитов и активацией их эффекторных функций [Zhang N. et al., 2014]. При прогрессировании заболеваний тканей пародонтального комплекса обнаружена повышенная экспрессия этого провоспалительного цитокина [Ertugrul A., 2013]. В числе подобных хемокинов [Kim W., An H., Kim J. et al., 2017] находится также интерлейкин-6 [Mozaffari H., Sharifi R., Sadeghi M., 2018], относящийся к категории ранних медиаторов воспалительного процесса, имеющих значение в быстро формирующейся реакции организма в ответ на повреждение тканей и усиливающей продукцию коллагенолитических ферментов.

Таким образом, несомненен тот факт, что играя ведущую роль в системе мукозального иммунитета, ротовая жидкость обеспечивает специфические и неспецифические механизмы защиты целостности слизистой оболочки полости рта. Однако в познании сути воспалительно-деструктивных процессов наряду с изучением дисбаланса цитокинового профиля ротовой жидкости, имеет значение выяснение молекулярных нарушений соединительнотканых структур гемато-саливарного барьера, обуславливающих переход в болезнь. Велика роль данного гистогематического барьера в адекватном реверсировании процессов саливации, непосредственно влияющих на состав метаболических индикаторов слюны, позволяющих прогнозировать тяжесть и потенциальные возможности терапии патологического процесса [Чуйкин С.В., Капустина Е.В., 2007; Чуйкин С.В., Галимова А.З., 2012; Чуйкин С.В., Акмалова Г.М., Штанько М.И., 2014; Камилов Ф.Х. с соавт., 2014; Agre P., Kozono D., 2003; Чуйкин С.В., Акмалова Г.М., 2019; Chuykin S.V., Akmalova G.M., 2014].

Особый интерес представляет изучение механизмов повреждения базальных мембран гематосаливарного барьера, фибриллярных структур соединительной ткани слизистой оболочки полости рта, приводящих к нарушению деятельности его органов и очевидным метаболическим сдвигам ротовой жидкости. Известно, что при формировании физиологических структур соединительной ткани важная функция отводится семейству трансглутаминаз – энзимам, непосредственно реализующим процесс образования биомолекулярных протеиновых ассоциаций на начальных этапах синтеза матрикса соединительной и костной ткани, в частности фибронектинколлагеновых трёхмерных структур [Belkin A. M., Zemskov E. A., Hang J. et al., 2004; Nurminskaya M., Kaartinen M. T., 2006].

Кроме того, трансглутаминазе принадлежит роль ведущего маркера апоптоза [Engbergs-Buijtenhuijs P., Buttafoco L., Poot A. A. et al., 2005] и, соответственно, процессов клеточного обновления, происходящих в том числе в одной из центральных, наряду со слюной [Chojnowska S., Baran T., Wilinska I. et al., 2018; Sarkar A., Xu F., Lee S., 2019], защитных систем полости рта – эпителии ротовой полости [Gorr S. U., 2012]. Закономерным в связи с этим является исследо-

вание в ротовой жидкости белков-медиаторов воспаления и маркеров деструкции соединительной ткани, в частности, связанных с ферментом трансклутаминазой, в качестве информативных показателей воспалительно-деструктивных заболеваний целостного организма.

Степень разработанности темы исследования. Слюна в течение последних двух десятилетий считается потенциальным образцом для выявления заболеваний как полости рта, так и всего организма [Гильмиярова Ф.Н., 2006; Каминская Л.А., 2010; Фотина И.А., 2012; Кочурова Е.В., 2013; Николенко В.Н., 2013; Mirzaai-Dizgah I., Riahi E., 2013; Balan J.J., Rao R.S., Premalatha B.R., Patil S., 2012; Ji and Choi, 2015; Heaney J.L., Phillips A.C., Carroll D., Drayson M.T., 2016; Mal M., 2016; Kaczor-Urbanowicz K. E., Carreras-Presas C. M., Aro K. et al., 2017; Cecchetti A., Finamore F., Puxeddu I. et al., 2019; Vieira-Correa M., Giorgi R.B., Oliveira K.C., 2019; Kaczor-Urbanowicz K., Wei F., Rao S. et al., 2019; McGeer P. L., Lee M., Kennedy K. et al., 2020].

В настоящее время актуальной проблемой является познание ротовой жидкости в качестве биологически значимой микросреды организма с позиции мультидисциплинарного подхода, её метаболического и иммунологического профиля, антигенного состава, в том числе по системе групп крови АВ0. Принимая во внимание доступность ротовой жидкости, неинвазивность её получения, возможность многократного динамического исследования, данная биосреда всё больше представляет собой интерес как объект исследования в фундаментальной и клинической практике в качестве альтернативы крови при диагностике многих заболеваний [Вавилова Т.П., Митронин А.В., Перевощикова О.А., 2012; Камилов Ф.Х. с соавт., 2014; Вавилова Т.П., Духовская Н. Е., Островская И. Г., 2017; Мякишева Ю.В. с соавт., 2017; Гильмиярова Ф.Н. с соавт., 2018; Nunes L, Sayeeda M, Bindhu O.S., 2015; Ladgotra A., Verma P., Raj S.S., 2016; Coles E. et al., 2017; Cozma S., Dima-Cozma L.C., Ghiciuc C.M. et al., 2017; Kaczor-Urbanowicz K.E., Martín Carreras-Presas C., Kaczor T. et al., 2017]. С помощью исследования этой доступной биожидкости организма выделены ключевые признаки патогенных процессов при заболеваниях пародонта, отражающие инфекционно-индуцированное воспаление и резорбцию костной ткани [Zhang L. et al., 2009; Svärd A., Renvert S., Berglund J. et al., 2019; Arias-Bujanda N., Regueira-Iglesias A., Balsa-Castro C., 2020].

Принятый в настоящее время термин «сальвиомика» («salivaomics») знаменует собой появление в последнее время новых сведений о разнообразных компонентах ротовой жидкости, составляющих её протеом, транскриптом, метаболом и микробиом [Kaczor-Urbanowicz K.E., Martín Carreras-Presas C., K. Aro et al., 2017; Rappa E., Kousvelari E., Vastardis H., 2019]. При этом получены результаты исследования многих биоиндикаторов в зависимости от возрастных и ген-

дерных отличий, условий проведения пробоподготовки и этнографических особенностей обследуемых.

Несмотря на то, что в настоящее время саливадиагностический приём считается признанной технологией с чёткой методологией применения, в литературе отсутствуют данные о специфическом анализе метаболического профиля ротовой жидкости при молекулярно-деструктивных поражениях организма, в частности, о содержании антител к трансклутаминазе и глиадину в качестве молекулярных маркеров состояния соединительной ткани полости рта при хроническом генерализованном пародонтите, острых и хронических лейкозах, одонтогенной флегмоне. Анализ присутствия данных антител, играющих роль в ремоделировании пародонта, позволит выделить дополнительные критерии прогрессирования резорбтивных процессов в полости рта.

Кроме того, появятся также новые данные о значимости определения в ротовой жидкости гликопротеинов А и В при выполнении иммуногематологических исследований, традиционно проводимых в крови. В литературе нет данных о прогностической ценности определения саливаантител к трансклутаминазе и глиадину, *Helicobacter pylori*, про- и противовоспалительных интерлейкинов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, одонтогенными флегмонами при различной групповой принадлежности их крови по системе АВ0. Определение цитокинового статуса саливаобразцов здоровых респондентов в зависимости от присутствия антигенов системы АВ0 в качестве индивидуального параметра поможет оценить генетическую предрасположенность к воспалительно-деструктивным процессам в оральных средах и создать качественно новый персонализированный подход для доклинической диагностики подобных поражений организма.

Полученные данные, безусловно, заинтересуют специалистов практической медицины, поскольку откроют перспективы использования неинвазивно полученного материала, удобно и быстро применяемого для решения вопросов мониторингирования и прогнозирования молекулярно-деструктивных поражений организма.

Цель исследования: выявить патогенетически значимые молекулярно-деструктивные показатели ротовой жидкости и крови при поражениях организма у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом, острыми и хроническими лейкозами, одонтогенной флегмоной в целях диагностики и мониторинга терапии.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать комплекс патохимических изменений при хроническом генерализованном пародонтите, значимый в формировании клинических признаков молекулярно-деструктивного процесса, изучив в крови пациентов с па-

родонтином специфику метаболических и иммунологических изменений в зависимости от групп крови по системе АВ0.

2. Установить группоспецифические особенности клинико-молекулярных процессов при хроническом генерализованном пародонтите, изучив стоматологический профиль пациентов, наличие иммуноглобулинов А и G к трансклутаминазе, глиадину, *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости, и сопоставив полученные данные с результатами в крови в соответствии с групповой принадлежностью по системе АВ0.

3. Дать клинико-молекулярную характеристику поражений полости рта у пациентов с острыми и хроническими лейкозами, изучив стоматологический статус, специфику состава ротовой жидкости и выделив саливадиагностические критерии диагностики первоначальных признаков стоматологических нарушений при лейкозах.

4. Определить индикаторы молекулярно-деструктивных поражений при острых и хронических лейкозах до и после проведения полихимиотерапии, определив в ротовой жидкости антитела IgA- и IgG-классов к трансклутаминазе и глиадину в зависимости от направленности лейкоза и степени тяжести развившихся стоматитов.

5. Охарактеризовать цитокиновый профиль ротовой жидкости пациентов с одонтогенной флегмоной в сопоставлении с данными клинически здоровых лиц с различными группами крови по системе АВ0 для формирования индивидуализированного подхода к неинвазивной диагностике молекулярно-деструктивных поражений организма.

6. Оценить динамику содержания провоспалительных цитокинов и пародонтальных биомаркеров в ротовой жидкости у пациентов с одонтогенной флегмоной в различные периоды стандартной медикаментозной терапии с учётом цитоморфологических признаков развития раневого процесса.

7. Провести цитологическое исследование слизистой оболочки ротовой полости у пациентов при изучаемых воспалительно-деструктивных поражениях организма для выявления общих и отличительных морфологических признаков.

8. Проанализировать общие и специфические саливадиагностические признаки, характерные для хронического генерализованного пародонтита, стоматитов при острых и хронических лейкозах, одонтогенной флегмоны.

Научная новизна:

1. При хроническом генерализованном пародонтите получены ранее неизвестные сведения о повышении в крови гликопротеинов А и G к ферменту трансклутаминазе, отражающие происходящие модификации мультифункционального энзима, сопровождающиеся дисбалансом метаболического и иммунологического профилей ротовой жидкости, патогенетически значимые в формировании клинических признаков молекулярно-деструктивного процесса.

2. Появление антихеликобактерных антител в сливаобразцах респондентов с носительством антигена А при хроническим генерализованном пародонтите свидетельствует об увеличении проницаемости гемато-саливарного барьера, позволяя индивидуализировать подход к терапии клинко-метаболических нарушений, обусловленных группоспецифическими особенностями организма (Патент № 84402702 от 26.01.2009 «Способ оценки эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита»).

3. Установлено, что клинические проявления поражения слизистой оболочки полости рта в виде геморрагического, язвенно-некротического, гиперпластического синдромов у больных со стоматитами при острых и хронических лейкозах сопровождаются повышением содержания в ротовой жидкости антител к транслугтаминазе – полифункциональному ферменту, участвующему в образовании межмолекулярных сшивок между белками в процессе синтеза соединительной ткани (Патент РФ № 2572696 от 20.01.2016 «Способ прогнозирования проявлений стоматита у пациентов с острыми лейкозами по изменению содержания антител к транслугтаминазе классов иммуноглобулинов А и G в ротовой жидкости»).

4. Выявлена специфика состава ротовой жидкости в зависимости от вида лейкоза и степени тяжести развившегося при этом стоматита: при острых лейкозах наиболее высокое значение IgG-антител к транслугтаминазе в ротовой жидкости при стоматите I степени тяжести и снижение при стоматитах II – III степени; у больных с хроническими лейкозами достоверно наибольшие уровни IgG-антител к транслугтаминазе при легкой степени стоматита и IgA-антител к транслугтаминазе при III степени стоматита. Впервые детализированы особенности хронических лейкозов после проведения полихимиотерапии в виде достоверно наибольшего количества IgG-антител к транслугтаминазе у пациентов, имевших I степень стоматита до лечения.

5. Определен цитокиновый профиль ротовой жидкости клинически здоровых лиц и пациентов с одонтогенными флегмонами при различной групповой принадлежности крови по системе АВ0 в качестве неинвазивного метода диагностики, формирующего персонализированный подход к доклинической диагностике и мониторингу терапии воспалительно-деструктивных поражений организма.

6. Дана цитоморфологическая референция состояния полости рта при молекулярно-деструктивных поражениях в качестве метода объективной оценки патологического процесса и эффективности применяемого лечения. Использование цитологического метода для исследования слизистой оболочки ротовой полости помогло разработать устройство для взятия браш-биопсии (Патент на полезную модель RU 84690 от 20.07.2009).

7. Получена системная характеристика молекулярно-деструктивных поражений организма, таких, как хронический генерализованный пародонтит, стоматиты у пациентов с острыми и хроническими лейкозами, одонтогенная флегмона, метаболическим фундаментом которых является нарушение функции белков коллагена и эластина, приводящее к метаболическим сдвигам ротовой жидкости в виде повышения содержания антител к трансклутаминазе и глиадину, впервые рассматривающихся в качестве ведущего фактора повреждения соединительной ткани.

8. В процессе проведения этапов диссертационного исследования создана Программа для импорта данных, полученных с биохимического анализатора COBAS INTEGRA 400 Plus (Свидетельство № 2010611397 от 21.12.2009), а также автоматизировано рабочее место регистратора диагностической лаборатории (Свидетельство №2011610473 от 11.01.2011).

Теоретическая и практическая значимость исследования:

1. Впервые получены новые данные, раскрывающие особенности антиген-антительного представительства крови среди лиц с хроническим генерализованным пародонтитом, свидетельствующие о преобладании носителей антигена А – 44%. Сыворотка данных лиц содержит наибольшее количество гликопротеинов IgA-класса к ферменту трансклутаминазе (10,08 Ед/мл), а ротовая жидкость характеризуется приростом анти-IgG к трансклутаминазе на 55,7% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями крови, свидетельствуя о хроническом течении заболевания в условиях молекулярных нарушений процессов ремоделирования пародонта.

2. Охарактеризованные данные стоматологического статуса свидетельствуют о выраженных клинических изменениях у представителей А(II) группы крови по системе АВ0 и позволяют прогнозировать появление индивидуальных особенностей клинической картины при хроническом генерализованном пародонтите.

3. Выделены особенности первоначальных стоматологических нарушений в ротовой жидкости при острых лейкозах: наименьшее количество иммуноглобулинов А к трансклутаминазе в сочетании с высоким уровнем IgG-антител к трансклутаминазе ($8,73 \pm 0,92$ Ед/мл), максимальный уровень которых превышает их в 4 раза (38,80 Ед/мл).

4. После проведения химиотерапевтического лечения в группе пациентов с первоначальными признаками стоматологических нарушений выявлены молекулярные изменения в ротовой жидкости в виде увеличения содержания IgA-антител к трансклутаминазе практически в 2,5 раза, что способствует возникновению сразу II (средней) степени стоматита, минуя I, выделяя группу риска по возможному возникновению у данных лиц тяжёлых осложнений химиотерапии.

5. Показано, что после химиотерапевтического вмешательства наиболее высокое содержание в ротовой жидкости иммуноглобулинов А, специфичных к трансклутаминазе и глиадину, сопровождается увеличением количества и размера геморрагических элементов, а также ростом значений гигиенического индекса и индекса кровоточивости у больных с острым миелобластным лейкозом на 65,1% ($p < 0,05$) и 82,3% ($p < 0,05$), у больных острым лимфобластным лейкозом на 40,07% ($p < 0,05$) и 57,8% ($p < 0,05$) соответственно.

6. Стоматиты III степени тяжести при хронических формах лейкозов сопровождаются трансформацией наибольшего содержания гликопротеинов А к трансклутаминазе, выявленных до химиотерапии, в наименьший их уровень ($1,90 \pm 0,52$ Ед/мл; $p < 0,05$) после проведенного химиотерапевтического лечения, объективно подтверждая клиническое ухудшение состояния полости рта в условиях нарушения локальных механизмов защиты при лейкозах.

7. При одонтогенной флегмоне впервые проведено комплексное динамическое исследование, позволяющее объективно определить период раневого процесса и эффективность применяемых лечебных мероприятий путём определения в ротовой жидкости провоспалительных цитокинов, антител к трансклутаминазе и глиадину, а также морфологических изменений, происходящих в ране, путём цитологической оценки мазков-отпечатков раневой поверхности.

8. У здоровых респондентов выделены маркеры генетической предрасположенности к альтеративным процессам в оральных средах с учётом АВ0-принадлежности крови. Показано, что в качестве неинвазивных маркеров риска развития воспалительно-деструктивных процессов в ротовой полости может использоваться оценка содержания интерлейкина-6, интерлейкина-8 в ротовой жидкости. У лиц с В(III) группой крови обнаружены группоспецифические особенности в виде повышенного уровня содержания интерлейкина-6 на 32,5% и интерлейкина-8 на 63,1% в отличие от ротовой жидкости обследованных с 0(I), А(II), АВ(IV) группами крови.

Методология и методы диссертационного исследования. Методология диссертационного исследования была построена из следующих этапов:

- изучение актуальности поставленной проблемы (молекулярно-деструктивные поражения организма);
- выбор предмета исследования как совокупности взаимосвязанных объектов (изучение в динамике клинических особенностей стоматологического статуса при хроническом генерализованном пародонтите, лейкозах и одонтогенной флегмоне; биохимических и иммунологических характеристик ротовой жидкости и крови; цитологических показателей поражения органов полости рта у пациентов групп сравнения и клинически здоровых лиц);
- обоснование научных данных, объясняющих механизм формирования изучаемой проблемы;

– применение теоретической интерпретации анализа полученных практических результатов исследования для формулирования выводов и новых рекомендаций (единство теории и практики);

– формирование перспектив дальнейшей разработки темы исследования.

Дизайн работы складывался согласно поставленным цели и задачам из последовательного применения методов сравнительного анализа данных клинического обследования, комплекса лабораторных методов исследования (биохимических, иммунологических, иммуногематологических, цитологических), методов статистической обработки полученных результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Комплекс патохимических изменений ротовой жидкости и крови при хроническом генерализованном пародонтите, отражающий структурные изменения полифункционального фермента транслугтаминазы и процессов ремоделирования тканей пародонтального комплекса, формирующий разнообразие клинических признаков в зависимости от групп крови по системе АВ0, наиболее выраженные проявления молекулярно-деструктивного процесса у пациентов с А(II) группой крови.

2. Специфика молекулярного состава ротовой жидкости у пациентов с гемобластозами в зависимости от вида лейкоза и тяжести развившегося при этом стоматита, отражающая степень повреждения полости рта до и после проведения химиотерапевтического лечения.

3. Молекулярные и клеточные индикаторы воспалительно-деструктивных поражений, патогенетически значимые при одонтогенной флегмоне: дисбаланс цитокинового профиля и содержания пародонтальных биомаркеров в сливаобразцах пациентов с различными группами крови по системе АВ0, сопровождающиеся цитоморфологическими особенностями количественного и качественного клеточного состава раневой поверхности, в динамике медикаментозной терапии, отражающие выраженность повреждения тканей пародонтального комплекса у лиц с принадлежностью к В(III) группе крови.

4. Общие и специфические саливадиагностические биомаркеры структурно-функциональной неполноценности фермента транслугтаминазы в качестве ведущего фактора повреждения соединительной ткани при молекулярно-деструктивных поражениях организма, таких, как хронический генерализованный пародонтит, стоматиты у пациентов с острыми и хроническими лейкозами, одонтогенная флегмона.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных результатов и выводов диссертационного исследования подтверждается достаточным числом клинических обследований основной группы (n=258) и контрольной группы (n=251), лабораторных исследований (биохимических, иммунологических, иммуногематологических, цитологических), личным участием

диссертанта во всех этапах исследования, включая современные методы статистического анализа и интерпретацию полученных данных.

Результаты диссертационного исследования доложены на XIV Всероссийском конгрессе «Экология и здоровье человека» (Самара, 2009), X международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» «Инновационные технологии в биологии и медицине» (Москва, 2009), научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете программы социально-экономического развития России до 2020г.» (Москва, 2009), региональной конференции дипломированных специалистов «Молодые ученые - медицине» (Самара, 2009, 2011, 2013), Всероссийской научно-практической конференции «Медицинская биохимия и клиническая лабораторная диагностика» (Омск, 2011), 12-й Международной конференции – олимпиады «Актуальные проблемы современной науки» (Самара, 2012), Всемирном конгрессе ДНК и генома (Китай, 2016), Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием (Рязань, 2016), конференции, посвященной 50-летию стоматологического образования в СамГМУ (Самара, 2016), XXII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Теория и практика клинической лабораторной диагностики» (Москва, 2017), XXIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и новации клинической лабораторной диагностики» (Москва, 2018), обсуждались на межкафедральном заседании кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой и кафедр нормальной физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф; медицинской генетики, биологии и экологии; сотрудников Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (Самара, 2020).

Внедрение результатов исследования. Полученные результаты внедрены в учебный процесс на кафедре фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, а также в клинико-диагностический процесс ведущих медицинских учреждений г. Самара (Клиник СамГМУ, ГБУЗ СО СГКБ №1 им. Н.И. Пирогова, ГБУЗ СОКБ им. В.Д. Середавина), ООО «Диагностика и лечение» г. Самара.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 46 печатных работ, из них 28 – в изданиях, включённых в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе 14 статей в базах данных Scopus и Web of Science, 1 монография, 5 патентов.

Личный вклад автора в исследование. Выполнение разработки схемы исследования (100%), обзор источников литературы, участие в выполнении клинического и лабораторного разделов исследования, статистическая обработка результатов (98%). Соискатель непосредственно выполнял лабораторные исследования, формулировал выводы и научные положения, разрабатывал практические рекомендации (96%), участвовал в подготовке к публикации статей (80%), тезисов (70%), написании текста и оформлении в целом всей диссертационной работы (100%).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 264 страницах машинописного текста, состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований, заключение, выводы, практические рекомендации. Список литературы включает 549 источников, из которых 254 составляют отечественные и 295 зарубежные авторы. Диссертация содержит 47 таблиц и 31 рисунок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 509 человек, сформированных в группы соматически здоровых лиц и пациентов с молекулярно-деструктивными поражениями организма.

Контрольная группа была представлена 251 соматически здоровым человеком $30,3 \pm 2,1$ лет, с отсутствием любых нозологических форм острых или обострения хронических заболеваний внутренних органов, включая полость рта, с отсутствием вредных привычек и приёма каких-либо лекарственных средств. Распределение по полу в данной группе оказалось следующим: 85 мужчин (33,9%) и 166 женщин (66,1%).

Среди пациентов с молекулярно-деструктивными поражениями первую группу составили 89 человек с хроническим генерализованным пародонтитом $43 \pm 2,2$ лет, среди которых оказалось 24 мужчины и 65 женщин.

Вторую группу составили 90 пациентов с лейкозами, диагностированными на основании результатов клинического обследования, общего анализа крови с подсчётом лейкоформулы, данных миелограммы и иммунофенотипирования. Среди них было 45 пациентов с острыми лейкозами в возрасте $43 \pm 0,5$ лет, мужчин – 21, женщин – 24 человека; а также 45 пациентов с хроническими лейкозами, из них мужчин – 20, женщин – 25 человек, средний возраст $59 \pm 0,3$ лет.

Все пациенты с острыми лейкозами были обследованы до начала химиотерапии и после её проведения, в периоде постцитостатического агранулоцитоза. У 59% из них был диагностирован острый миелобластный лейкоз (M1, M2 по FAB-классификации), и они получали унифицированный протокол лечения для лиц в возрасте моложе 60-ти лет. У 41% лиц был поставлен диагноз острого лимфобластного лейкоза (пре-пре В (Common), лечение которых проводилось в

соответствии с протоколом терапии Ph-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых «ALL-2009».

Пациенты с хроническими формами лейкозов были обследованы до начала лечения и в фазу ремиссии. Среди пациентов с хроническими лейкозами оказалось 16 лиц с хроническим миелолейкозом (Ph-позитивным или bcr-abl-позитивным), которые получали в качестве терапии иматиниб или гидроксикарбамид, и 29 – с хроническим лимфолейкозом (В-клеточным), лечившихся по схеме RFC. В случае инфекционных осложнений во время проведения полихимиотерапии пациентам назначалась массивная антибактериальная, противовирусная, противогрибковая терапия.

Третья группа обследованных состояла из 79 пациентов с одонтогенными флегмонами поднижнечелюстной, подподбородочной, щёчной областей отделения челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Клиник СамГМУ, средний возраст которых составил $34 \pm 2,7$ года, среди них 46 мужчин и 33 женщины.

Клинические исследования проводились в отделениях Клиник СамГМУ: терапевтической стоматологии, челюстно-лицевой хирургии и стоматологии, гематологического отделения клиники госпитальной терапии с курсами поликлинической терапии и трансфузиологии; лабораторные исследования велись на базе Клинико-диагностической лаборатории.

Концепция диссертационного исследования (дизайн) представлена на рисунке 1.

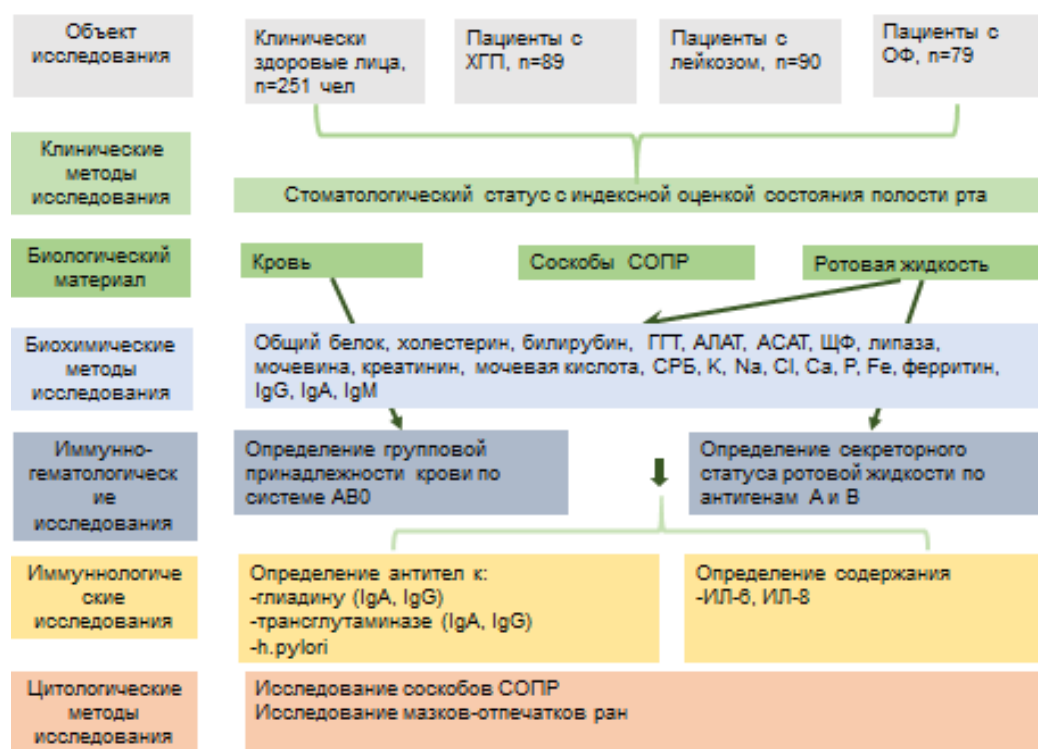


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Клинические методы исследования. Исследование стоматологического статуса проводилось традиционными методами и инструментами и включало основные методы обследования (сбор анамнеза, жалоб, комплексный осмотр с оценкой изменения цвета слизистой оболочки десны, степени кровоточивости дёсен (Cowell I., 1975); глубины пародонтальных карманов (по ВОЗ, 1989); патологической подвижности зубов (Fleszar T.J. et al., 1980). Проводили индексную оценку состояния тканей пародонта, используя индекс кровоточивости по Мюллеману (РВІ), упрощённый гигиенический индекс Green-Vermillion (1964); индекс нуждаемости в лечении болезней пародонта CPITN (ВОЗ, 1980); папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА; Parma G., 1960); пародонтальный индекс (ПИ; Russel A., 1967); оценку болевой чувствительности с использованием 5-балльной вербальной шкалы оценки боли (Frank A. J.M., Moll J. M. H., Hort J.F., 1982). Пациентам проводили комплексное рентгенологическое обследование тканей пародонта, которое включало внутриротовые контактные снимки отдельных групп зубов и ортопантомографию на ортопантомографе Кранекс-Д 3 (Финляндия): условия съёмки: 60 – 75 кв, 7 – 10 мА, длительность движения системы 10 – 12 сек. На ортопантомограммах определяли состояние зубов, периапикальных тканей, нижнечелюстного канала, структуру и объём костной ткани.

Биохимические методы исследования ротовой жидкости проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Hitachi – 902» фирмы «Roch-Diagnostics» производства Японии с помощью коммерческого набора реактивов фирмы «Roch-Diagnostics» (Швейцария). Контроль качества при выполнении исследований осуществляли с использованием контрольной сыворотки двух уровней "Precinorm", "Precipat" фирмы «Roch-Diagnostics» (Швейцария) с построением контрольных карт и применением критериев Вестгарда. Определяли активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, амилазы, щелочной фосфатазы, концентрацию кальция, фосфора, холестерина.

Иммуноферментный анализ крови и ротовой жидкости проводили с помощью иммуноферментного комплекса, состоящего из вошера «Проплан» (Рисон, Россия), шейкера «Elmi Sky Line» (Эстония) и спектрофотометра «Тесап» (Швейцария). В качестве диагностических тест-систем использовали наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия): "IgA-трансглутаминаза-ИФА-Бест", "IgG-трансглутаминаза-ИФА-Бест", "IgA-Глиадин-ИФА-Бест" и "IgG-Глиадин-ИФА-Бест", "ХеликоБест-антитела", "Интерлейкин-6-ИФА-Бест", "Интерлейкин-8-ИФА-Бест".

Спектрометрический анализ ротовой жидкости проводили на спектрометре Lambda – 20 фирмы Perkin Elmer в ультрафиолетовой области.

Группы крови по системе АВ0 определяли перекрёстным способом с помощью моноклональных антител эритрогест-цоликлоны анти-А, анти-В ООО

«Гематолог», а также набора стандартных эритроцитов 0(I), A(II), B(III) групп производства ГБУЗ «Самарская областная клиническая станция переливания крови» по Инструкции по определению групп крови системы ABO от 9.01.1998.

Цитологическое исследование соскобов слизистой оболочки полости рта при эрозивных и язвенных поражениях, мазков-отпечатков раневой поверхности при одонтогенной флегмоне, окрашенных по Романовскому, осуществляли с помощью светового микроскопа «Zeiss» при увеличении объектива $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$.

Статистические исследования Для статистической обработки полученных данных они были систематизированы по общим признакам в определённые группы. Затем в качестве расчётных единиц были использованы такие общепринятые статистические характеристики, как, средняя арифметическая (M) в качестве информативной меры "центрального положения" наблюдаемой переменной и на основе своих результатов позволяющая сделать вывод относительно генеральной совокупности в целом; стандартная ошибка средней арифметической (m); медиана (Me). Так как на среднюю арифметическую могут значительно влиять крайние члены ранжированного вариационного ряда, в качестве расчётных единиц применяли также квартили (Q1-Q3) для характеристики данной совокупности. Кроме того, исследовали показатели max, min, 95 %-го интервала.

В качестве сравнения здоровых лиц и опытных групп мы применяли однофакторный дисперсионный анализ. Для тех показателей, при которых формы распределения признаков часто отличались от нормальной, или наблюдались разные по величине дисперсии, мы применяли непараметрический аналог классического дисперсионного анализа — анализ Краскела-Уоллиса.

Для непараметрического дисперсионного анализа для результатов, имеющих значительные выбросы, к которым некорректно применять классический ANOVA, мы применяли тест Манна-Уитни (для парных сравнений) с поправкой Бонферони.

Для изучения взаимосвязей изученных показателей сыворотки крови и ротовой жидкости применяли ранговый корреляционный анализ Спирмена.

Расчёты проводили в среде статистического пакета SPSS 12.0 (statistical package for social sciences) и Microsoft Excel 2007. Критическое значение уровня значимости принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Молекулярно-деструктивные поражения принадлежат к числу патологических состояний, при которых важным является современный биомаркерный диагностический подход к выяснению нарушений на молекулярном и клеточном уровнях, способных фундаментально отражать суть патогенетических процес-

сов, обуславливающих степень выраженности клинических признаков и переход заболевания в стадию обострения. Первыми симптомами развития подобных общесоматических процессов, как хронический генерализованный пародонтит, постхимиотерапевтические стоматиты при острых и хронических лейкозах, одонтогенная флегмона являются локальные модификации слизистой оболочки полости рта. Она крайне чувствительна к воздействию любых патологических экзогенных и эндогенных факторов, и нередко трансформации в полости рта отражают причины возникновения соматической патологии. В этом случае залогом успеха своевременной диагностики может стать изучение ранних симптомов-маркеров сочетанных поражений полости рта и внутренних органов [Банченко Г. В., 1979; Балобанова И.Г., Чуршина Т.В., Балобанов В.Ю., 1995; Кирсанов А.И., 1999; Окороков А.Н., 1999; Лепилин А.В., 2004; Булкина Н.В., 2005; Горбачева И.А., Кирсанов А.И., 2000; Трухан Д.И., 2012; Вавилова Т.П., Духовская Н. Е., Островская И. Г., 2017].

Воспалительно-деструктивные процессы, происходящие в полости рта, являются причиной снижения как стоматологического здоровья пациентов, так и качества их жизни в целом. В связи с этим принципиально важным диагностическим решением является поиск специфических параметров, которые позволяют индивидуализировать человека и адекватно отражают в динамике общий статус организма [Malamd D., 2011]. В этом отношении огромное значение имеет определение искомым метаболических критериев в ротовой жидкости – неинвазивно получаемой биологической среде человека, демонстрирующей широкую палитру аналитических возможностей как с фундаментальных позиций, так и с клинической точки зрения [Вавилова Т.П., Митронин А.В., Перовщикова О.А., 2012; Терёхина Н.А., Реук С.Э., Соловьева Л.И., 2012; Камилов Ф.Х. с соавт., 2014; Быков И.М. с соавт., 2016; Гильмиярова Ф.Н. с соавт., 2018; Камилов Ф.Х. с соавт., 2018; Coles E. et al., 2017; Candeo L. et al., 2017].

Однако, рецидивирующий характер патологических процессов в полости рта, несомненно, диктует необходимость углубленного изучения процессов, происходящих в организме в целом. В этом отношении велика роль состояния соединительной ткани, обеспечивающей поддержание целостности многих тканей и органов. Стабильность молекулярного состава соединительной ткани во многом зависит от входящего в её структуру фермента транsgлутаминазы, одной из функций которого является образование ковалентной связи между остатком глутамина, лизина и двух молекул фибронектина с коллагеном и другими белками внеклеточного матрикса на ранних стадиях синтеза соединительной ткани [Nurminskaya M., Kaartinen M. T., 2006]. Поскольку изоферменты транsgлутаминазы широко представлены в организме [Haroon Z.A., Amin K., Lichtlen P. et al., 2004], представляет интерес определение индикаторов, присутствующих как в ротовой жидкости, так и в крови, связанных с данным ферментом.

Кроме того, под действием транsgлутаминазы осуществляется процесс дезаминирования аминокислоты глутамина, входящей в значительном количестве (60%) в состав белка gliадина. Комплекс транsgлутаминазы с gliадином активизирует пролиферацию и дифференцировку плазматических клеток, которые синтезируют специфические антиgliадиновые антитела [Lindh E., Ljunghall S., Larsson K., et al., 1992].

В связи с этим, в качестве показателей, являющихся «молекулярными рецепторами» состояния соединительной ткани, мы проанализировали количественные уровни иммуноглобулинов А- и G-классов, специфичных в отношении gliадина и транsgлутаминазы, при некоторых молекулярно-деструктивных поражениях организма.

Выявлено, что при хроническом генерализованном пародонтите нарастает содержание в крови антител к транsgлутаминазе: класса IgA на 19% – $6,88 \pm 2,78$ Ед/мл и класса IgG на 37% ($p=0,05$) – $2,49 \pm 0,28$ Ед/мл по сравнению с данными здоровых респондентов: $5,77 \pm 1,57$ Ед/мл и $1,80 \pm 0,13$ Ед/мл соответственно. Поскольку транsgлутаминаза играет важную роль в обеспечении прочности и непрерывности молекул соединительной ткани, подобное увеличение содержания антител к полифункциональному ферменту может выступать фактором, дестабилизирующим соединительную ткань.

В отношении антител к gliадину, напротив, выявлена обратная тенденция: падение в крови содержания иммуноглобулинов класса IgA на 57% ($p<0,05$) – $4,02 \pm 0,62$ Ед/мл и еще более выраженное падение иммуноглобулинов класса IgG в 5 раз ($p<0,01$) – $1,61 \pm 0,31$ Ед/мл при хроническом генерализованном пародонтите в отличие от содержания соответствующих антител у клинически здоровых обследованных: IgA к gliадину – $7,20 \pm 1,19$ Ед/мл, IgG – $8,23 \pm 1,06$ Ед/мл. Это, в свою очередь, отражает падение защитных функций IgG и участия их в неспецифических защитных реакциях, позволяющих служить медиаторами воспаления, по-видимому, за счёт способности антител данного класса фиксироваться с антигенами в тканях пародонта и оказывать цитотоксическое воздействие на клетки-мишени.

Происходящие структурные изменения фермента транsgлутаминазы способствуют прогрессированию патологических изменений тканей полости рта, итогом которых являются данные клинического обследования пациентов, дающие основание диагностировать хронический генерализованный пародонтит.

Однако, несмотря на полученные общие клинико-метаболические данные каждый организм индивидуален. В пользу этого неоспоримого факта получены убедительные результаты особенностей биохимических процессов, функционирования системы гемостаза, вариабельности клеточного состава крови, ассоциированные с принадлежностью к 0(I)-AB(IV) группам крови по системе АВ0 [Гильмиярова Ф.Н. с соавт., 2007, 2008, 2009; Гусякова О.А. с соавт., 2009;

Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Зубова И.А., 2011; Косякова Ю.А. с соавт., 2015; Selezneva I.A. et al., 2017].

В связи с этим мы провели оценку стоматологического статуса обследуемых в зависимости от принадлежности их крови по системе АВ0 (таблица 1).

Таблица 1 – Стоматологический профиль лиц с различной групповой принадлежностью крови при хроническом генерализованном пародонтите

Групповая АВ0-принадлежность пациентов	Индекс РВІ (Muhleman, 1971), баллы	Степень патологической подвижности зубов (Fleszar T.J. et al., 1980)	Глубина карманов, мм	Индекс ОНІ-S по Green-Vermilion (1964), усл.ед.	PI Russel (1967), усл.ед.
О(I)	2	1-2	4,60±0,12	3,08±0,02	2,77±0,07
А(II)	3	2	5,65±0,09	4,55±0,05	3,66±0,08
В(III)	1 - 2	1	4,33±0,12	2,77±0,05	2,35±0,05
АВ(IV)	2	1-2	5,11±0,13	3,65±0,06	3,30±0,12

При этом было выявлено, что 3 степень индекса РВІ (Muhleman, 1971); 2 степень патологической подвижности зубов (Fleszar T.J. et al., 1980); результат индекса ОНІ-S по Green-Vermilion 4,55±0,05; значение PI Russel 3,66±0,08; пародонтальные карманы глубиной 5,65±0,09 мм наблюдались у пациентов с А(II) группой крови, число которых преобладало среди всех обследованных пациентов с пародонтитом, составляя 42%.

Далее для получения более детальных молекулярных характеристик хронического генерализованного пародонтита нами были проанализированы показатели количественного содержания иммуноглобулинов к транслугтаминазе и глиадину в крови пациентов также в зависимости от принадлежности к О(I)-АВ(IV) группам крови в сравнении с данными клинически здоровых лиц (таблица 2).

В крови здоровых респондентов с носительством В(III) наибольшим оказалось содержание антител к глиадину обоих классов: IgA 9,32±3,61 и IgG 11,72±3,67 Ед/мл. Примечательно, что пациенты с хроническим генерализованным пародонтитом в случае присутствия антигена В также имели наиболее высокий уровень IgA-антител к глиадину – 6,59±2,18 (Ме 5,00) Ед/мл, а носители антигена антигена А – IgG-антител: 1,97±0,64 (Ме 0,75) Ед/мл.

Таблица 2 – IgA- и IgG-антитела к глиадину, трансглутаминазе в крови обследованных, (M±m), Ед/мл

Группы крови	Обследованные	IgA к глиадину	IgG к глиадину	IgA к трансглутаминазе	IgG к трансглутаминазе
O(I)	Здоровые	7,74±2,44	7,28±1,26	7,44±3,26	1,65±0,19
	Больные	3,93±0,99	1,74±0,32	2,77±0,81	2,00±0,47
A(II)	Здоровые	5,33±0,90	7,12±1,51	4,58±2,53	1,61±0,19
	Больные	3,38±0,47	1,98±0,64	10,08±6,13	2,14±0,38
B(III)	Здоровые	9,32±3,61	11,72±3,67	7,10±3,65	2,00±0,42
	Больные	6,59±2,18	1,19±0,36	4,63±2,25	3,15±0,61*
AB(IV)	Здоровые	6,48±1,69	7,11±1,92	2,02±0,50	2,20±0,37
	Больные	0,87±0,09*	0,33±0,28*	3,17±1,16	3,97±1,99
Генеральная совокупность	Здоровые	7,19±1,20	8,22±1,07	5,76±1,56	1,79±0,14
	Больные	4,02±0,62	1,61±0,31	6,46±2,78	2,48±0,29

*– $p < 0,05$

Относительно иммуноглобулинов к трансглутаминазе были получены данные, что в крови практически здоровых лиц наблюдается наибольшее их количество класса IgA у лиц с O(I) группой крови – 7,44±3,26 Ед/мл, а IgG-класса – с AB(IV) группой крови: 2,20±0,37 (Me 1,80) Ед/мл.

При пародонтите наибольшее содержание IgA к трансглутаминазе обнаружено у пациентов со A(II) группой крови: 10,08±6,13 Ед/мл (таблица 3), а IgG-антител у пациентов с принадлежностью к AB(IV), как и у клинически здоровых: 3,97±1,99 (Me 3,30) Ед/мл (таблица 4).

Чтобы установить присутствие маркеров деструктивных поражений полости рта в ротовой жидкости, антитела к трансглутаминазе и глиадину далее были определены в сливаобразцах, градируемых также согласно АВ0-принадлежности.

Таблица 3 – IgA-антитела к транслугтаминазе (Ед/мл) в крови при хроническом генерализованном пародонтите

Группа кро- ви	M±m	Me	Min	Max	95% интервал	Q1 – Q3
O(I)	2,77±0,81	2,00	0	8,30	0,89 – 4,63	1,50 – 3,50
A(II)	10,08±6,13	2,20	0	100,00	2,99 – 23,15	1,10 – 6,95
B(III)	4,62±2,25	2,10	0	19,00	0,68 – 9,93	0,50 – 6,40
AB(IV)	3,17±1,16	3,30	1,10	5,10	1,81 – 8,14	1,10 – 5,10
Суммарный показатель	6,46±2,78	2,20	0	100,00	0,81 – 12,11	1,05 – 5,85

Таблица 4 – IgG-антитела к транслугтаминазе (Ед/мл) в крови при хроническом генерализованном пародонтите

Группа крови	M±m	Me	Min	Max	95% интервал	Q1 – Q3
O(I)	2,00±0,47	1,30	0,70	4,20	0,91 – 3,08	0,90 – 3,20
A(II)	2,14±0,38	1,65	0,50	5,80	1,32 – 2,95	0,80 – 3,20
B(III)	3,15±0,61	2,55	1,40	5,80	1,71 – 4,59	1,90 – 4,55
AB(IV)	3,97±1,99	3,30	0,90	7,70	4,60 – 12,53	0,90 – 7,70
Суммарный показатель	2,48±0,29	1,85	0,50	7,70	1,88 – 3,08	0,95 – 3,35

Так, в ротовой жидкости пациентов с A(II) группой крови количество иммуноглобулинов класса IgG к транслугтаминазе значительно превалировало по сравнению с содержанием антител обоих классов в сливаобразцах всех обследованных с пародонтитом: 3,85±0,41 Ед/мл (таблица 5).

Подобные данные демонстрируют максимальное повреждение соединительной ткани пародонтального комплекса у лиц с принадлежностью к A(II) в связи с изменениями полифункционального фермента тканевой транслугтаминазы.

Количество антител к глиадину в ротовой жидкости при пародонтите значительно превосходило данные клинически здоровых лиц (таблица 6), причём наибольшее содержание антиглиадиновых антител класса IgA зарегистрировано у пациентов с A(II) группой крови (7,10±1,03 Ед/мл) по сравнению с другими обследованными, что свидетельствует о процессах острого воспаления в слизистой оболочке полости рта.

Таблица 5 – IgA- и IgG-антитела к транглутаминазе в ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите, $M \pm m$, Ед/мл

Группы крови	IgA к транглутаминазе	IgG к транглутаминазе
0(I)	2,15 \pm 1,66	0,35 \pm 0,01
A(II)	1,19 \pm 0,08	3,85 \pm 0,41
B(III)	0,48 \pm 0,03	0,32 \pm 0,08
AB(IV)	0,58 \pm 0,07	0,14 \pm 0,08
Генеральная совокупность	1,23 \pm 0,02	1,89 \pm 1,08

Таблица 6 – IgA- и IgG-антитела к глиадину, транглутаминазе в ротовой жидкости, $M \pm m$, Ед/мл

Группы крови	Обследованные	IgA к глиадину	IgG к глиадину
0(I)	Больные	2,14 \pm 0,75	4,58 \pm 0,24
	Здоровые	0,31 \pm 0,03	0
A(II)	Больные	7,10 \pm 1,03	4,87 \pm 0,58
	Здоровые	0,46 \pm 0,04	0
B(III)	Больные	2,41 \pm 0,97	3,55 \pm 2,03
	Здоровые	0,31 \pm 0,03	0
AB(IV)	Больные	2,38 \pm 0,14	1,34 \pm 0,09
	Здоровые	0,22 \pm 0,02	0
Генеральная совокупность	Больные	4,41 \pm 0,83	4,21 \pm 0,89
	Здоровые	0,31 \pm 0,03	0

Иммуноглобулины G к глиадину также имеют наиболее высокий уровень у пациентов с A(II) группой крови: 4,87 \pm 0,58 Ед/мл. Известно, что IgG легко проникают через гематосаливарный барьер в полость рта, где обеспечивают иммунологическую защиту, отражая вторичный иммунный ответ, а наряду с наибольшим содержанием антител к транглутаминазе свидетельствуют о выраженном повреждении тканей гематосаливарного барьера у пациентов с A(II) группой крови.

Показано, что состояние гематосаливарного барьера оказывает влияние на состав ротовой жидкости [Чуйкин С.В., Акмалова Г.М., 2015]. Известно, что

слюнные железы регулируют избирательную проницаемость метаболитов в ротовую жидкость, в связи с чем часть из них поступает из крови в значительных количествах, либо наоборот, в минимальных [Петрович Ю.А., Подорожная Р.П., 1977]. Для рассмотрения функционирования гематосаливарного барьера, его проницаемости, мы провели анализ на наличие антител к *Helicobacter pylori* в крови и ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в сравнении со здоровыми респондентами (таблица 7).

Таблица 7 – Положительные тесты на антитела к *Helicobacter pylori* в крови обследованных лиц (%)

Группы обследованных	Группы крови			
	0(I)	A(II)	B(III)	AB(IV)
Клинически здоровые лица	45%	25%	22%	8%
Пациенты с ХГП	32%	48%	11%	9%

Оказалось, что гемообразцы здоровых лиц показали положительный результат наличия антихеликобактерных антител в 45% случаев, если их кровь принадлежала к О(I), в 25% у лиц с А(II) группой крови, в 22% – с В(III) и у 8% лиц с АВ(IV) группами крови. При хроническом генерализованном пародонтите был установлен максимальный результат положительных ИФА-тестов в крови пациентов с носительством антигена А – 48%, при этом также положительный результат был зарегистрирован у 32% лиц с принадлежностью к О(I), у 11% с В(III) и у 9% с АВ(IV) группой крови [Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Зубова И.А. с соавт., 2011].

Результаты тестирования ротовой жидкости клинически здоровых лиц показали негативную реакцию в 100% случаев. Что касается саливаобразцов пациентов с пародонтитом, лишь 8% из них показали положительную ИФА-реакцию, и все они, как оказалось, принадлежали лицам с носительством антигена А(II). Вероятно, гемато-саливарный барьер становится высокопроницаемым для антител к *Helicobacter pylori* у этих пациентов в условиях выраженных молекулярно-деструктивных процессов, сопутствующих пародонтиту, способствуя переходу их из крови в ротовую жидкость.

Чтобы подтвердить предположение о структурных нарушениях, происходящих в тканях пародонта с разных сторон, мы провели спектрометрический анализ ротовой жидкости при пародонтите, как до начала противовоспалительной терапии, так и в динамике её проведения.

Результаты спектрометрии показали (рисунок 2), что у пациентов с О(I) и В(III) группами крови после 10-дневной терапии происходило падение на 30%

пиков абсорбции в области длины волны в 245 нм и на 40% ($p<0,05$) в диапазоне длин волн 288-290 нм, клинически сопровождаясь значительным улучшением состояния тканей пародонта в виде снижения индексов кровоточивости и гигиены.

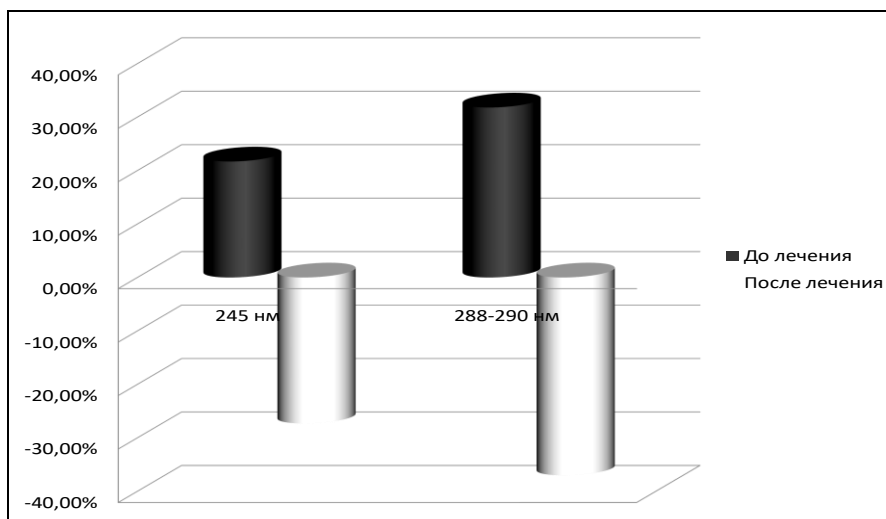


Рисунок 2 – Спектрограмма ротовой жидкости у пациентов с пародонтитом с О(І) группой крови

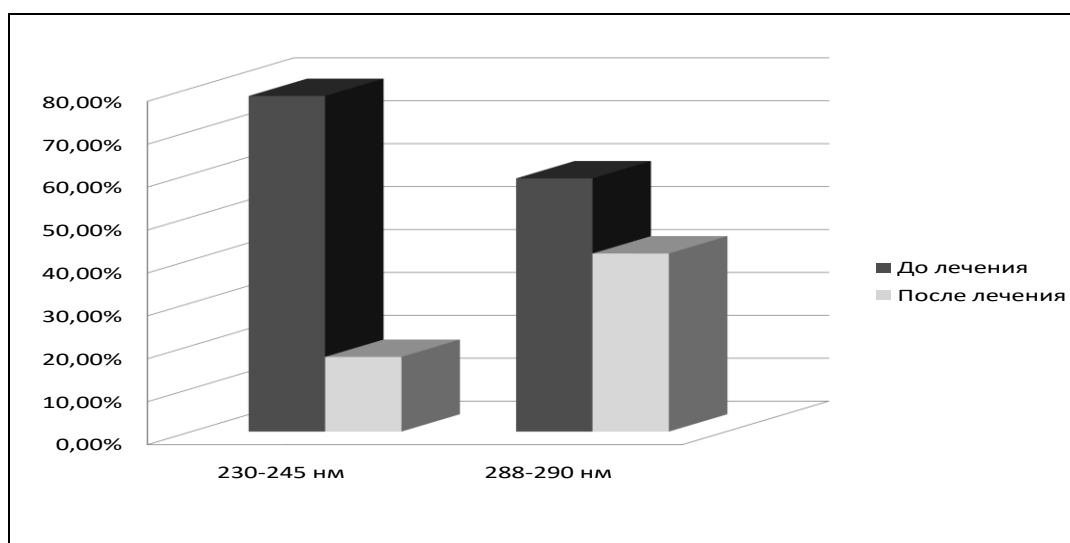


Рисунок 3 – Спектрограмма ротовой жидкости у пациентов с пародонтитом с А(ІІ) группой крови

У пациентов с А(ІІ) группой крови (рисунок 3) на 12-й день лечебных мероприятий пики абсорбции выросли практически на 18% в диапазоне 230-245 нм и на 42% при 288-290 нм ($p<0,05$), отражая выраженный молекулярно-деструктивный процесс в пародонтальном комплексе. Индексы кровоточивости и гигиены при этом не изменились, свидетельствуя, что назначенное комплексное лечение не привело к положительным сдвигам.

Данные пациентов с принадлежностью к АВ(ІV) группе, как спектрометрического анализа, так и клинического исследования, занимали промежуточное

положение между результатами лиц с носительством антигенов А и В. Полученные данные позволили индивидуализировать подход к терапии клинικο-метаболических нарушений с учётом группоспецифических особенностей организма (Патент № 84402702 от 26.01.2009 «Способ оценки эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита»).

Подтверждением патохимических изменений в ротовой жидкости послужили также данные её метаболического профиля при хроническом генерализованном пародонтите, статистически значимыми из которых оказались следующие: резкое нарастание активности амилазы (+703%, $p < 0,01$), падение активности аланинаминотрансферазы (-31%; $p < 0,05$) и аспартатаминотрансферазы (-74%; $p < 0,01$), что приводит к гипоэнергическому состоянию в тканях ротовой полости, препятствующих развитию регенерации в условиях структурных нарушений пародонта. Это в свою очередь, способствует нарастанию резорбтивных процессов, прогрессирующих на фоне падения содержания кальция (-20%; $p < 0,05$) и фосфора (-48%; $p < 0,05$) в ротовой жидкости (таблица 8).

Таблица 8 – Метаболический профиль (медиана) ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите

Параметры	Клинически здоровые лица	Хронический генерализованный пародонтит	Δ , %
Амилаза, Ед/мл	2712,22	19070,68**	+703
АЛАТ, Ед/мл	10,38	7,12*	-31
АСАТ, Ед/мл	44,22	11,48**	-74
Кальций, ммоль/л	1,39	1,12*	-20
Фосфор, ммоль/л	4,08	2,12*	-48

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Таким образом, проведённые исследования доказывают взаимосвязь присутствия гликопротеинов класса А и G к транслугтаминазе и глиадину в крови и ротовой жидкости с групповой принадлежностью крови по системе АВ0, способствуя тем самым индивидуализации ответной реакции организма на системный молекулярно-деструктивный процесс. Кроме того, анализ содержания антител к транслугтаминазе, глиадину и *Helicobacter pylori* подчёркивает интегрированность ротовой жидкости в общеметаболические процессы целостного организма [Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Зубова И.А. с соавт., 2011].

Чтобы продемонстрировать данный постулат, мы провели исследование ротовой жидкости при стоматитах, сопутствующих острым и хроническим лейкозам. Слизистая оболочка дёсен, нёба, щёк, языка, ротоглотки очень часто вовлекается в молекулярно-деструктивный процесс при заболеваниях крови вследствие единства эмбрионального источника происхождения кроветворной ткани и тканей полости рта [Лаптева Е.С., 2000; Токмакова С.И. с соавт., 2008; Люлякина Е.Г., 2014].

Совокупность клинических данных у обследованных с лейкозами позволила нам выделить следующие подгруппы: пациенты с классическими проявлениями стоматитов I, II, III степеней тяжести и лица с отсутствием каких-либо жалоб на изменение состояния полости рта. При этом в последней подгруппе, составившей около 10% всех обследованных с лейкозами, были обнаружены такие клинические признаки, как отёчность языка, сглаженность и атрофия его нитевидных сосочков, фестончатость боковой поверхности и кончика языка при остром миелобластном (в 71% случаев) и остром лимфобластном лейкозах (в 79% случаев), хроническом миелолейкозе (у 45% пациентов), хроническом лимфолейкозе (у 56% пациентов); бледно-розовый цвет слизистой оболочки полости рта при остром лимфобластном (в 67% случаев) и остром миелобластном лейкозе (у 51% пациентов), хроническом лимфолейкозе (у 82% пациентов), особенно при наличии ангулярного хейлита.

Обнаруженные изменения позволили нам отнести их к так называемым первоначальным признакам стоматологических нарушений при лейкозах. Закономерным при наличии подобных данных оказался вопрос раннего выявления молекулярных нарушений в слизистой оболочке ротовой полости с помощью таких маркеров, которые отражали бы степень выраженности воспалительно-деструктивного процесса и показывали переход в стадию обострения болезни.

Проведённый в связи с этим количественный анализ антител к трансклутаминазе и глиадину показал наиболее низкое содержание антител класса иммуноглобулинов А к трансклутаминазе в ротовой жидкости больных острыми лейкозами с первоначальными признаками стоматологических нарушений по сравнению с другими обследованными ($1,04 \pm 0,66$ Ед/мл); при этом Ig G-антитела к трансклутаминазе, напротив, имели высокий показатель — $8,74 \pm 0,91$ Ед/мл, причём максимальный их уровень значительно превышал среднюю: 38,81 Ед/мл, практически в 4 раза (таблица 9).

Таблица 9 – IgG-антитела к трансклутаминазе (Ед/мл) в ротовой жидкости при острых лейкозах

Степень стоматита	$M \pm m$	Me	Min	Max	95% интервал	Q1 – Q3
Без стоматита	$8,74 \pm 0,91$	0,71	0,41	38,81	0 - 21,01	0,49 - 1,16
I степень	$9,99 \pm 1,51$	2,01	0,39	23,01	1,81 - 18,01	1,12 - 21,59
II степень	$2,95 \pm 0,64$	3,02	0,57	6,21	1,43 - 4,46	1,15 - 3,48
III степень	$1,28 \pm 0,31^*$	1,16	0,67	2,50	0,50 - 2,00	0,80 - 1,26
Суммарный показатель	$5,74 \pm 0,43$	1,72	0,51	17,7	0,92 - 11,41	0,89 - 6,88

*— $p < 0,05$

Данный прирост IgG-антител к трансклутаминазе можно расценить в качестве показателя повреждения соединительной ткани на молекулярном уровне и

признака активной реакции иммунной системы в связи с этим, что может привести к прогрессированию патологических изменений слизистой оболочки полости рта и возникновению в результате этого стоматитов различной степени тяжести. Особенно ярко данная тенденция проявилась среди пациентов с острыми лейкозами при развитии стоматита I степени тяжести, когда среднее значение IgG-антител к трансклутаминазе составило $9,99 \pm 1,51$ Ед/мл, а максимальное превысило её в 2 раза: 23, 01 Ед/мл.

Особенностями пациентов с хроническими лейкозами был наибольший уровень антител к глиадину обоих классов при II степени тяжести стоматита (Ig A – $2,49 \pm 0,33$ Ед/мл; Ig G – $3,41 \pm 0,21$ Ед/мл) наряду с разнонаправленным содержанием антител к трансклутаминазе: Ig G — при лёгкой степени стоматита ($2,45 \pm 0,43$ Ед/мл) и Ig A — напротив, при выраженных проявлениях поражения слизистой рта — стоматите III степени тяжести: $1,76 \pm 0,53$ Ед/мл.

Полученные данные подтвердили предположение, что от вида лейкоза зависит направленность изменений показателей гуморального иммунитета ротовой полости, и позволили разработать способ прогнозирования проявлений стоматита у пациентов с острыми лейкозами по изменению содержания антител к трансклутаминазе классов иммуноглобулинов А и G в ротовой жидкости (Патент РФ № 2572696 от 20.01.2016).

Количественный анализ наличия всех антител к трансклутаминазе и глиадину в ротовой жидкости при различной выраженности поражения слизистой оболочки полости рта при лейкозах свидетельствует, что стоматит I степени тяжести характеризуется наибольшим содержанием иммуноглобулинов G к глиадину и трансклутаминазе, и низким – IgA к глиадину и трансклутаминазе. При стоматите II степени тяжести обнаружено наибольшее количество IgA к глиадину и трансклутаминазе, а также IgG к глиадину. Кроме того, стоматит выраженной степени сопровождается низким уровнем общего количества антител к трансклутаминазе и высоким уровнем антител обоих классов к глиадину.

Далее мы проанализировали результаты исследований, полученных у этих же пациентов после применения химиотерапевтических препаратов. Было выявлено, что многообразие клиничко-молекулярных расстройств со стороны тканей полости рта усиливается, причём особенно ярко у пациентов, изначально имевших первоначальные признаки стоматологических нарушений.

Во-первых, у таких пациентов появилось множество отсутствовавших ранее жалоб на болезненность и кровоточивость дёсен, затруднявших приём пищи, а также выросли показатели стоматологических индексов по сравнению с данными до начала химиотерапевтического лечения (таблица 10). Во-вторых, отражением клинической симптоматики на молекулярном уровне явилось падение в ротовой жидкости данных лиц уровня антител к глиадину класса IgA на фоне значительного прироста одноименных антител к трансклутаминазе: в 4 ра-

за в ротовой жидкости пациентов с острыми лейкозами ($4,03 \pm 0,77$ Ед/мл; $p < 0,05$; рисунок 4) и практически в 2,5 раза с хроническими ($3,24 \pm 0,47$ Ед/мл; $p < 0,05$; рисунок 5).

Таблица 10 – Индексная оценка состояния полости рта до и после химиотерапии

Стоматологический статус	Индекс ОНI-S по Green-Vermilion, усл.ед.	КПУ, усл.ед.	Индекс РВI (Muhleman), усл.ед.
До химиотерапии	$1,61 \pm 0,24$	$10,54 \pm 1,68$	$1,43 \pm 0,23$
После химиотерапии	$2,07 \pm 0,34^*$ (+28%)	$12,62 \pm 1,72$ (+19,7%)	$2,43 \pm 0,26^*$ (+58%)

* – $p < 0,05$



Рисунок 4 – IgA-антитела к трансглутаминазе (Ед/мл) в ротовой жидкости при острых лейкозах до и после химиотерапии

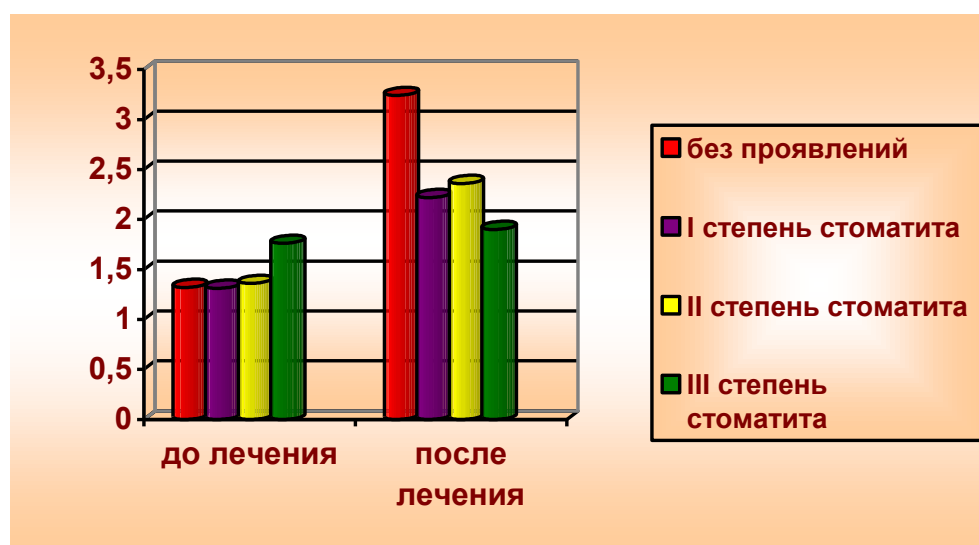


Рисунок 5 – IgA-антитела к трансглутаминазе (Ед/мл) в ротовой жидкости при хронических лейкозах до и после химиотерапии

Подобное увеличение содержания антител к трансклутаминазе в результате агрессивной химиотерапии может наглядно свидетельствовать о структурных изменениях фермента трансклутаминазы, приводящих к дезорганизации соединительной ткани и нарастанию аутоенсибилизации. В результате у пациентов, изначально имевших минимально выраженные признаки поражения слизистой оболочки полости рта, клинически сразу развивался стоматит II, средней степени тяжести, минуя первую.

Клинико-молекулярные сдвиги происходили также и у пациентов со стоматитами, диагностированными до начала химиотерапии. В целом в их ротовой жидкости происходило пополнение иммуноглобулинами класса А и G к трансклутаминазе и глиадину по сравнению с данными этих же больных до начала лечения. Отмечено, что особенно ярко данная тенденция прослеживалась в случае диагностирования стоматита II степени тяжести, при котором наибольший уровень IgA- и IgG-антител к глиадину обнаружен в ротовой жидкости пациентов как с острыми, так и с хроническими лейкозами (таблица 11). Увеличение его содержания можно расценить как положительный момент, способствующий повышению резистентности организма, поскольку IgA осуществляет взаимодействие как с клетками иммунной системы, так и с гуморальными факторами неспецифической защиты: комплементом, лактоферрином, лизоцимом.

Таблица 11 – IgA- и IgG-антитела к глиадину класса(Ед/мл) при стоматите II степени тяжести после химиотерапии

Иммуноглобулины	M±m	Me	Min	Max	95% интервал	Q1 – Q3
IgA-антитела к глиадину при острых лейкозах	5,36±0,34	1,24	3,71	5,11	3,51 - 3,21	3,71 - 2,31
Ig G-антитела к глиадину при острых лейкозах	5,51±0,22*	2,84	1,01	4,51	3,24- 2,35	1,24 - 2,35
IgA-антитела к глиадину при хронических лейкозах	3,57±0,42*	0,61	2,11	4,01	1,31 - 4,51	1,33 - 2,31
Ig G-антитела к глиадину при хронических лейкозах	4,82±0,51*	1,31	1,01	2,01	3,31 - 3,41	4,31 - 4,71

* – $p < 0,05$

Достоверно наибольшие показатели IgG-антител к трансклутаминазе отмечены при диагностировании стоматита I степени тяжести как при острых (9,99±0,21 (2,01) Ед/мл; $p < 0,05$), так и при хронических лейкозах: 2,58±0,02 (1,11) Ед/мл; $p < 0,05$ (таблица 12).

Таблица 12 – IgG-антитела к трансклутаминазе (Ед/мл) после химиотерапии хронических лейкозов

Степень стоматита	M±m	Me	Min	Max	95% интервал	Q1 – Q3
Без стоматита	0,57±0,06	1,02	0,71	1,12	0,71 - 1,21	0,71 - 1,12
I степень	2,58±0,02*	1,11	1,01	1,32	1,01 - 1,32	0,81 - 1,21
II степень	0,89±0,05*	1,01	1,21	2,01	1,01 - 1,11	0,71 - 0,91
III степень	0,56±0,04*	1,01	1,31	2,21	1,01 - 1,31	0,71 - 1,21
Суммарный показатель	1,15±0,06	0,78	1,06	1,66	0,93 - 1,21	0,71 - 1,12

* – $p < 0,05$

Примечательно, что у таких больных сохранялась та же тенденция, что была до проведения химиотерапевтического лечения. Однако при хронических формах лейкозов у пациентов со стоматитом III степени тяжести был выявлен переход наибольшего содержания антител к трансклутаминазе классов IgA до терапии в наименьший их уровень ($1,91 \pm 0,51$ Ед/мл; $p < 0,05$), что может свидетельствовать о снижении локального иммунного потенциала после проведенного химиотерапевтического лечения и способствовать развитию инфекционных осложнений у пациентов с лейкозами.

Эти данные подтверждают субъективное и объективное ухудшение состояния полости рта у больных с гемобластозами в виде прироста гигиенического индекса ($p < 0,05$): при остром миелобластном лейкозе $5,07 \pm 0,43$ (+65,1% по сравнению с данными до лечения), при остром лимфобластном лейкозе $3,53 \pm 0,34$ (+40,07% по сравнению с данными до лечения), а также индекса кровоточивости при остром миелобластном лейкозе на 83% ($p < 0,05$) и при остром лимфобластном лейкозе на 58% по сравнению с данными до начала лечения.

Необходимость проведения химиотерапевтических сеансов способствует нарушению физиологических репаративных процессов в эпителии ротовой полости, что служит благоприятной почвой для присоединения локальных источников инфекции, оказывающих на околозубные ткани выраженное травмирующее воздействие, и далее способствующих генерализации воспалительного процесса.

Колонизации организма патогенными микроорганизмами противостоят различные механизмы защиты полости рта, включающие аутофлору слизистых оболочек, генерацию активных форм кислорода и других свободных радикалов, ферментативный гидролиз полисахаридных компонентов клеточных стенок микроорганизмов лизоцимом. Особо важная роль в этом процессе принадлежит иммуноглобулинам. Однако продукты деятельности микробных сообществ усиливают деструкцию тканей, а также разрушают свободные, неструктурированные белки организма, в том числе иммуноглобулины [Quirynen M. et. al.,

1999; Kennedy H. et. al., 2003]. Закономерным при этом является вопрос о функционировании иммунной системы организма с возможным развитием аутоиммунных процессов, способствующих нарастанию изменений тканей полости рта [Максимовский Ю. М., Чиркова Т. Д., Дашкова О. П., Ермакова Е. А., 2000].

В качестве демонстрационной модели молекулярных расстройств при генерализованном инфекционно-воспалительном поражении организма нами была выбрана одонтогенная флегмона.

Предварительно были проанализированы генетически обусловленные предпосылки к развитию альтеративных процессов в оральных средах клинически здоровых лиц в процессе изучения их секреторного статуса и маркеров воспалительно-деструктивных процессов в ротовой жидкости.

При изучении фенотипов групп крови системы АВ0 было установлено, что 42,5% обследованных лиц принадлежат к 0(I), 31,5% – к А(II), 16,5% – к В(III) и 9,5% – к АВ(IV). Секреторами при этом оказались 44,1% обследованных лиц, среди которых у 27% было выявлено наличие антигена А в ротовой жидкости, у 7,6% – антигена В, а у 9,5% лиц обнаружена секреция обоих антигенов [Селезнева И.А., Гильмиярова Ф.Н., Кузьмичёва В.И. с соавт., 2019].

Оказалось, что наибольшее содержание таких провоспалительных цитокинов, как интерлейкин-6 ($(1,51 \pm 0,5)$ пг/мл), оказывающего эффект хемотаксиса на мигрирующие клетки во время воспалительных реакций, интерлейкин-8 ($218,51$ пг/мл; $p < 0,05$), вызывающего фагоцитоз и разрушение микроорганизмов, обнаружено у здоровых респондентов с носительством антигена В. По-видимому, в силу генетических особенностей эти лица по сравнению с представителями других групп крови предрасположены к более выраженному воспалительному процессу в слизистой оболочке ротовой полости с наклонностью его к генерализации.

Подтверждением выдвинутого предположения о возможном развитии системного воспалительного процесса явился наиболее высокий уровень интерлейкина-8, являющегося мощным медиатором воспаления и создающего градиент движения для хемотаксиса фагоцитирующих клеток, у пациентов с одонтогенной флегмоной, имеющих В(III) группу крови. При этом наблюдалось общее снижение содержания его в 5 раз по сравнению с данными клинически здоровых лиц: $34,07 \pm 5,97$ ($34,05$) и $158,12 \pm 20,4$ ($127,57$) пг/мл соответственно.

Такие разноречивые количественные данные по содержанию цитокинов в ротовой жидкости послужили поводом к динамическому их исследованию в разные периоды терапевтического вмешательства: на 1-е, 3-и, 5-е сутки медикаментозной терапии. Примечательно, что наиболее выраженные изменения содержания провоспалительных цитокинов наблюдались на 3-и сутки начатого лечения в виде достоверного повышения интерлейкина-6 на 24% до $8,93 \pm 2,57$ ($8,81$; ($p < 0,05$)) пг/мл и практически 3-х-кратного снижения интерлейкина-8 до

12,28±3,17 (13,98) пг/мл по сравнению с уровнями, отмеченными в 1-е сутки, что может свидетельствовать о преобладании апоптоза над восстановительными процессами в эпителии.

Поскольку фермент тканевая трансклутаминаза является маркером апоптоза, определение её в ротовой жидкости пациентов с одонтогенными флегмонами в динамике позволило сделать заключение о прогрессировании заболевания и выборе условий для стабилизации процесса. Оказалось, что именно на 3-и сутки от начала медикаментозной терапии в сливаобразцах пациентов с одонтогенной флегмоной происходит подъём содержания антител к трансклутаминазе, принадлежащих к классу IgA на 15%, и к классу IgG практически в 2 раза, максимально достигая в случае антиIgG-антител значения 23,77 Ед/мл.

Возможно, данная закономерность отражает наибольшую выраженность повреждения соединительной ткани организма в условиях нарушенных процессов ремоделирования пародонта, подавления репаративных и трофических процессов. Примечательно, что наибольшее количество иммуноглобулинов к трансклутаминазе выявлено при одонтогенной флегмоне у пациентов, имеющих антиген В: уровень IgA-антител составил при этом 3,05±0,09 Ед/мл ($p<0,05$), IgG-антител – 6,97±1,52 Ед/мл.

Объективным методом происходящих тканевых расстройств при одонтогенной флегмоне послужило цитоморфологическое исследование раневой поверхности, проведённое также в динамике параллельно с определением содержания цитокинов и антител к трансклутаминазе.

Отражением активности защитной реакции организма в борьбе с инфекцией и начала формирования в ране специфического иммунного ответа уже на 3-и сутки от начала лечебных мероприятий явилось повышение содержания лимфоцитов в 3 раза до 8,1±0,9% (рисунок 6) и увеличение содержания моноцитов – предшественников макрофагов (рисунок 7) – в 2 раза до 4,4±0,2% по сравнению с данными на 1-е сутки терапии, подтверждённое повышением в ротовой жидкости уровня интерлейкина-6.

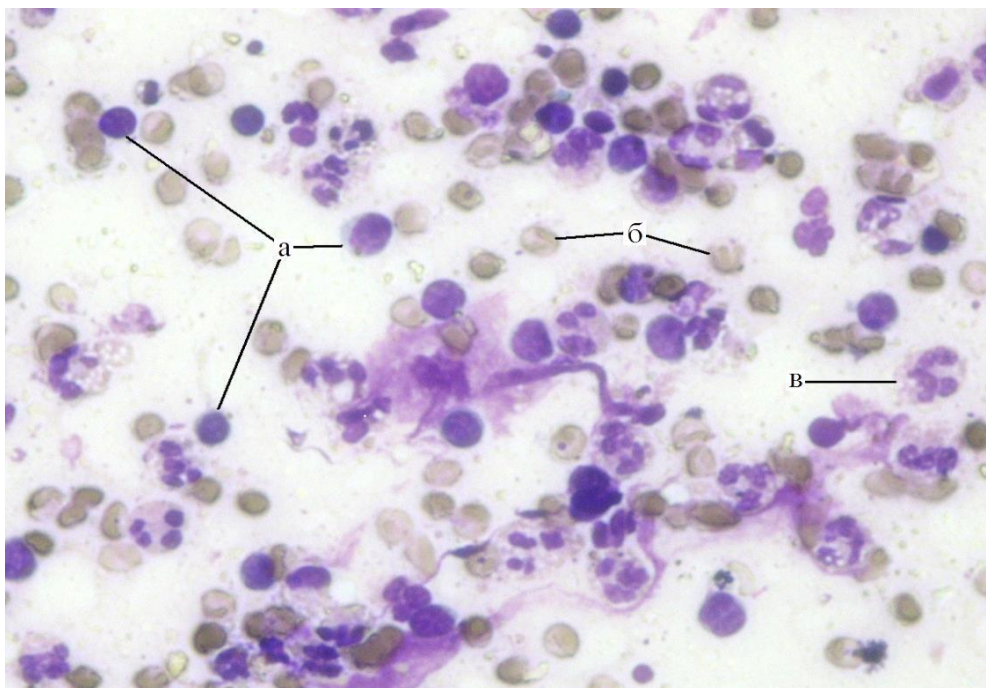


Рисунок 6 – Цитограмма мазка-отпечатка при одонтогенной флегмоне (ув.х400):
а – лимфоциты, б – эритроцит, в – дегенеративно-изменённый нейтрофил

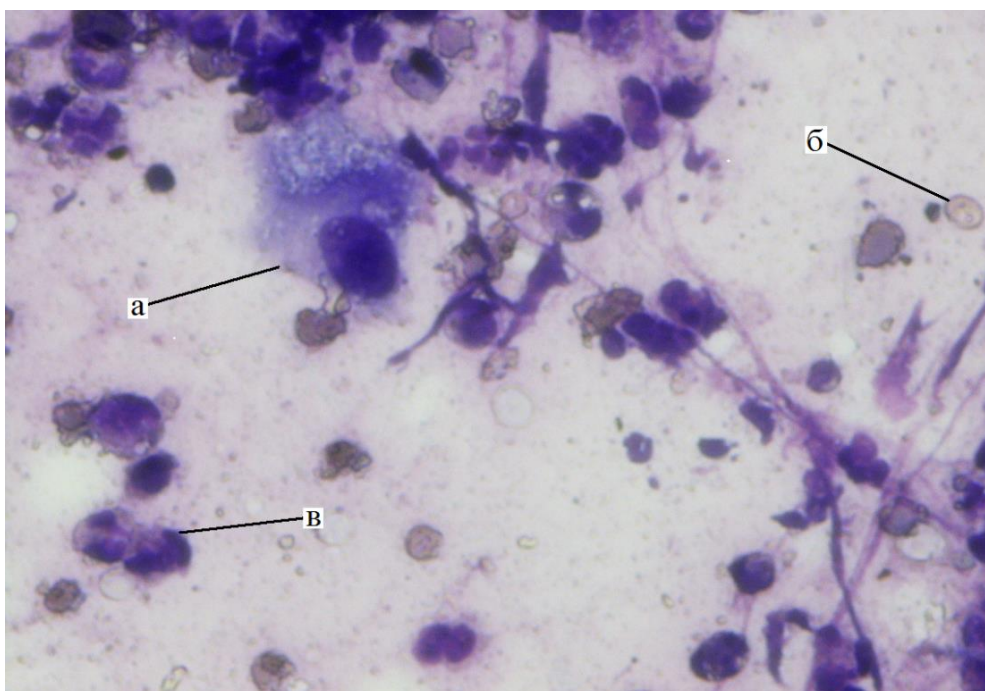


Рисунок 7 – Цитограмма при одонтогенной флегмоне (ув.х400):
а – макрофаг, б – эритроцит, в – дегенеративно-изменённые нейтрофилы

Кроме того, наличие в цитограммах дегенеративно изменённых нейтрофилов (рисунок 8) в этот период свидетельствовало об активизации вирулентной микрофлоры, подчёркивая то, что нейтрофилы и продукты их распада играют важную роль в процессе очищения и заживления ран в различные фазы репаративного процесса.

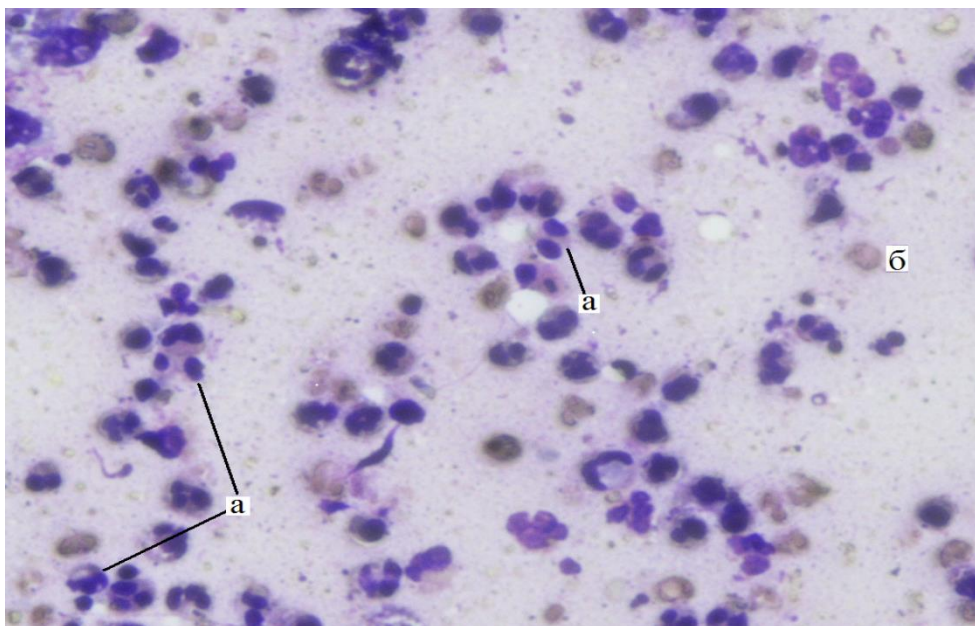


Рисунок 8 – Цитограмма мазка-отпечатка при одонтогенной флегмоне (ув.х400):
а – дегенеративно-изменённые нейтрофилы, б – эритроциты

Демонстрацией происходящих явлений явилось также снижение содержания в этот период интерлейкина-8 в ротовой жидкости, отражая процессы замедления нейтрофильного хемотаксиса в тканях организма и указывая на необходимость назначения адекватной антибактериальной терапии.

Использование цитологического метода в процессе проводимого исследования помогло разработать устройство для взятия браш-биопсии (Патент на полезную модель RU 84690 от 20.07.2009).

Таким образом, показано, что в качестве молекулярного фундамента пародонтальных поражений при одонтогенной флегмоне вновь выступают маркеры деструктивного повреждения соединительной ткани – антитела к трансглутаминазе, содержание которых в ротовой жидкости зависит от групповой принадлежности крови по системе АВ0. Сочетанное применение динамического исследования цитокинового профиля ротовой жидкости и маркеров состояния соединительной ткани наряду с цитоморфологической оценкой состояния ран при одонтогенных флегмонах позволяет стать надежными диагностическими инструментами, позволяющими проводить мониторинг терапевтических манипуляций и своевременно осуществлять профилактические мероприятия в отношении возможного развития осложнений на фоне молекулярно-деструктивных поражений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог вышеизложенным данным, можно заключить, что получена системная характеристика молекулярно-деструктивных поражений организма, таких, как хронический генерализованный пародонтит, стоматиты у пациентов с

острыми и хроническими лейкозами, одонтогенная флегмона. Показано, что метаболическим фундаментом данных поражений является повреждение коллагена и эластина базальных мембран и фибриллярных структур соединительной ткани организма, приводящее к метаболическим сдвигам ротовой жидкости в виде повышения содержания антител к трансклутаминазе и глиадину, впервые рассматривающихся в качестве ведущего фактора повреждения соединительной ткани.

Выполненный спектр клинических и лабораторных исследований свидетельствует о серьёзных изменениях в органах полости рта, которые проявляются глубокими нарушениями нормального пролиферативного процесса в эпителии ротовой полости, резким снижением местного иммунитета, дезинтеграции факторов, оказывающих влияние на транспорт через гематосаливарный барьер, и, как следствие, выраженными клиническими симптомами поражения слизистой оболочки полости рта.

Общим саливадиагностическим признаком является пополнение ротовой жидкости антителами к трансклутаминазе, особенно при постхимиотерапевтических стоматитах, сопутствующих острым лейкозам – в 6 раз, и одонтогенной флегмоне – практически в 20 раз, отражающее структурную неполноценность фермента трансклутаминазы в качестве молекулярного фундамента клинических проявлений при молекулярно-деструктивных поражениях организма (таблица 13).

Таблица 13 – Содержание антител к трансклутаминазе (ТГ, Ед/мл) в ротовой жидкости пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП), острыми (ОЛ) и хроническими (ХЛ) лейкозами, одонтогенной флегмоной (ОФ)

Показатель антител к ТГ		Молекулярно-деструктивные поражения				Клинически здоровые лица
		ХГП	ОЛ	ХЛ	ОФ	
Ig A	M±m	1,22±0,52	2,59±0,49	2,43±0,49	2,13±0,44	0,42±0,08
	Me	0,10	1,21	1,22	1,52	0,25
Ig G	M±m	1,88±1,09	6,67±0,70	1,14±0,07	5,86±1,04	0,57±0,07
	Me	0,40	1,52	0,77	4,86	0,25

Кроме того, выявлены специфические саливадиагностические признаки в виде группоспецифических особенностей, характерных для хронического генерализованного пародонтита; молекулярных критериев ротовой жидкости для диагностики первоначальных признаков стоматологических нарушений и развёрнутой клинической картины стоматитов, сопутствующих лейкозам; изменений показателей цитокинового профиля и клеточного состава раневого содержимого при одонтогенной флегмоне в динамике заживления раневого процесса.

Несомненно, результаты исследования представляют интерес не только для практической медицины как удобный и неинвазивный метод диагностики, но и для решения фундаментальных задач: в частности, определение гликома ротовой жидкости и находящихся в ней биомолекул пациента как индивидуального параметра конкретного индивида поможет создать качественно новый персонализированный подход к мониторингу терапии воспалительно-деструктивных поражений организма.

Полученные данные подтверждают, что слюна как средство диагностики заболеваний полости рта и системных заболеваний организма имеет множество преимуществ по сравнению с другими жидкостями организма, и на основе находящихся в ней биомаркеров может дать точный диагноз, обладая высоким потенциалом стать будущим в ранней диагностике и привлекательным решением в отношении других, инвазивных методов диагностики.

Таким образом, применение информативных показателей ротовой жидкости, являющейся важной биологической средой, отражающей состояние организма в целом, позволит эффективно применять алгоритмы диагностики, профилактики и терапии молекулярно-деструктивных поражений организма, создав платформу для индивидуализированного подхода к их неинвазивной диагностике.

ВЫВОДЫ

1. Получен комплекс патохимических изменений при хроническом генерализованном пародонтите, характеризующийся приростом в крови содержания антител класса иммуноглобулинов А на 19% и класса иммуноглобулинов G на 37% ($p=0,05$) к тканевому ферменту трансклутаминазе, одной из функций которого является формирование ковалентной связи между остатком глутамина, лизина и двух молекул фибронектина с коллагеном и другими белками внеклеточного матрикса на ранних стадиях синтеза соединительной ткани.

2. Обнаружено снижение в крови уровня антиглиадиновых антител класса иммуноглобулинов А в 1,7 раза ($p<0,05$) и класса иммуноглобулинов G в 5 раз ($p<0,01$) при хроническом генерализованном пародонтите, отражая снижение антибактериальной, антитоксической, антивирусной защиты организма, усиливающих клинические признаки молекулярно-деструктивного процесса.

3. При хроническом генерализованном пародонтите выявлены особенности ротовой жидкости в виде увеличения содержания иммуноглобулинов А и G к трансклутаминазе и глиадину, сопровождающиеся отклонениями метаболического статуса, отражающими нарушения минерального обмена: снижение содержания кальция на 20% ($p<0,05$) и фосфора на 48% ($p<0,05$); аланин- (-31%; $p<0,05$) и аспаратаминотрансферазной (-74%; $p<0,01$) активности; увеличение

амилазной активности (+703%, $p<0,01$), патогенетически связанные с происходящими воспалительно-деструктивными процессами в тканях пародонта.

4. Установлены группоспецифические особенности клинико-молекулярных процессов при хроническом генерализованном пародонтите: среди пациентов преобладают лица с А(II) группой крови (42%) с выраженными клиническими проявлениями по сравнению с другими обследованными, сопровождающимися наиболее высоким уровнем антител к трансклутаминазе класса IgA в крови (10,08 Ед/мл) и одноименных антител класса IgG в ротовой жидкости, содержание которых увеличилось на 55,7% ($p<0,05$) по сравнению с показателями в крови, что отражает хронический характер течения заболевания и нарушения процессов ремоделирования пародонта.

5. В условиях молекулярно-деструктивных расстройств при хроническом генерализованном пародонтите отмечено повышение проницаемости гематосаливарного барьера, сопровождающееся появлением антител к *Helicobacter pylori* в ротовой жидкости пациентов с носительством антигена А, имеющих одноименные антитела в крови в 48% случаев среди положительных ИФА-образцов всех обследованных.

6. Показано, что в качестве индикаторов первоначальных признаков стоматологических изменений у пациентов с острыми лейкозами выступают высокие уровни иммуноглобулинов G к трансклутаминазе в ротовой жидкости: $8,74\pm0,91$ Ед/мл, максимум которых достигает 38,81 Ед/мл, являясь показателем нарушений структуры соединительной ткани и активной реакции иммунной системы в связи с этим.

7. Отражением молекулярных сдвигов, происходящих у пациентов с первоначальными клиническими признаками стоматологических нарушений на фоне проведенной химиотерапии, является прирост в ротовой жидкости антител к трансклутаминазе класса IgA в 4 раза в случае острого лейкоза – до $4,03\pm0,77$ Ед/мл ($p<0,05$) и практически в 2,5 раза при хроническом лейкозе – до $3,24\pm0,47$ Ед/мл ($p<0,05$), что приводит к формированию стоматита II степени тяжести, минуя I степень, с развитием клинической картины геморрагического и язвенно-некротического синдромов.

8. Выяснено, что метаболической основой отрицательной динамики состояния полости рта после химиотерапии у пациентов, имевших стоматит I степени тяжести до лечения, является достоверно высокий показатель IgG-антител к трансклутаминазе в ротовой жидкости как при острых – $9,99\pm0,21$ Ед/мл ($p<0,05$), так и при хронических лейкозах – $2,58\pm0,02$ Ед/мл ($p<0,05$).

9. Выявлено достоверное падение антител к трансклутаминазе класса IgA при стоматитах III степени тяжести, сопровождающих хронические формы лейкозов до начала химиотерапии, в наименьший их уровень после проведенного химиотерапевтического лечения – $1,91\pm0,51$ Ед/мл ($p<0,05$), что может свиде-

тельствовать о снижении иммунного потенциала организма и способствовать развитию инфекционных осложнений у пациентов с лейкозами.

10. Охарактеризован цитокиновый профиль ротовой жидкости клинически здоровых лиц при различной групповой принадлежности крови по системе АВ0, раскрывающий группоспецифические особенности содержания провоспалительных цитокинов. Предрасполагающим фактором развития системного воспалительного процесса у лиц с носительством антигена В является увеличение содержания в ротовой жидкости интерлейкина-6 на 32,5% и интерлейкина-8 на 63,1% ($p<0,05$) по сравнению с аналогичными данными лиц с 0(I), A(II), AB(IV) группами крови.

11. Обнаружен комплекс молекулярных нарушений при одонтогенной флегмоне, отражающий максимум развития воспалительного процесса в ротовой полости на 3-и сутки медикаментозного лечения в виде повышения уровня интерлейкина-6 до 8,81 пг/мл ($p<0,05$) и 3-х-кратного снижения интерлейкина-8 до 13,98 пг/мл в ротовой жидкости пациентов по сравнению с данными других периодов терапии.

12. Морфологическая картина динамического исследования раневого процесса при одонтогенной флегмоне свидетельствует о начале формирования специфического иммунного ответа организма на 3-и сутки от начала медикаментозного лечения, что подтверждается увеличением количества лимфоцитов в 3 раза до $7,8\pm0,9\%$ и моноцитов – предшественников макрофагов – в 2 раза до $4,5\pm0,3\%$ по сравнению с данными на 1-е сутки терапии. Показано, что обнаружение в цитопрепаратах нейтрофилов с массовыми дегенеративными изменениями клеток со сниженным хемотаксисом в очаг воспаления может свидетельствовать о развитии бактериальных осложнений в тканях полости рта и аутоиммунной реакции в последующем, требующих проведения соответствующих лечебных мероприятий.

13. Определена динамика содержания пародонтальных биомаркеров в ротовой жидкости у пациентов с одонтогенной флегмоной в виде прироста уровней иммуноглобулинов к трансклутаминазе на 3-и сутки от начала медикаментозной терапии, максимально достигающих 23,77 Ед/мл в случае IgG-антител, что является показателем выраженных молекулярных расстройств, происходящих в соединительной ткани организма в этот период. Наибольшее содержание антител к трансклутаминазе класса IgA – $3,05\pm0,09$ Ед/мл ($p<0,05$) и класса IgG – $6,97\pm1,52$ ($p<0,05$) Ед/мл выявлено у лиц с принадлежностью крови к В(III) группе, что отражает максимальную выраженность повреждения тканей пародонтального комплекса.

14. Метаболическим фундаментом развития системного поражения организма при хроническом генерализованном пародонтите, стоматитах, сопутствующих острым и хроническим лейкозам, одонтогенной флегмоне является струк-

турная неполноценность фермента транsgлутаминазы, что подтверждено путем изучения механизмов местной резистентности, белок-белковых взаимодействий в ротовой жидкости – биологической среде, создающей платформу для индивидуализированного подхода к неинвазивной диагностике молекулярно-деструктивных поражений организма.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При хроническом генерализованном пародонтите у лиц, имеющих А(II) группу крови, рекомендуется определять наличие в крови антител к *Helicobacter pylori* и проводить эрадикационную терапию в случае их обнаружения.

2. Для динамического наблюдения за осложнениями химиотерапевтического лечения рекомендуется определять содержание антител к транsgлутаминазе и глиадину в ротовой жидкости у пациентов с острыми и хроническими лейкозами.

3. У пациентов с лейкозами, не имеющих клинически выраженных признаков стоматита, рекомендуется осуществлять профилактические лечебные мероприятия по защитному экранированию слизистой оболочки полости рта в связи с возможным развитием стоматита после проведения полихимиотерапии.

4. У пациентов с одонтогенными флегмонами в процессе медикаментозного лечения рекомендуется контролировать проводимые противовоспалительные мероприятия с помощью исследования цитокинового профиля в ротовой жидкости, и морфологически при цитологическом исследовании биоптатов раневой поверхности.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты настоящего исследования открывают перспективы дальнейшего поиска достоверных маркеров молекулярно-деструктивных заболеваний организма, что может способствовать пониманию их этиопатогенеза, обеспечивать скрининг групп высокого риска, эффективность профилактики и лечения.

В дальнейшем планируется внедрение в клиническую практику саливадиагностического метода диагностики и обнаруженных информативных показателей ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите, лейкозах, одонтогенной флегмоне. При этом необходимо дальнейшее изучение всех составных компонентов гематосаливарного барьера для диагностики системных заболеваний, поскольку биологический смысл и физиологическое функционирование гистогематических барьеров в органах и тканях человека связаны с поддержанием гомеостаза жизненно важных органов.

Полученные результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии очевидной взаимосвязи таких биополимеров ротовой жидкости, как

антитела к транглутаминазе и глиадину, с патологической трансформацией полифункционального фермента транглутаминазы.

Однако, фермент транглутаминаза, кроме непосредственного участия в процессе формирования соединительной ткани организма, играет важную роль во многих других биологических процессах, таких, например, как рост и выживание клеток, апоптоз и аутофагия, заживление ран, целиакия, развитие нейродегенеративных нарушений, прогрессирование атеросклероза, метастазирование рака [Mangala L.S., Fok J.Y., Zorrilla-Calancha I.R., Verma A., Mehta K., 2006], формирование эпидермального кожного барьера [Lorand L, Graham R.M., 2003] и ороговевшей клеточной оболочки в эпидермисе [Candi E., Schmidt R., Melino G., 2005]. В связи с этим, безусловно перспективным направлением является дальнейшее изучение фермента транглутаминазы и механизмов его функционирования в патогенезе различных нозологических форм поражений организма человека с целью поиска объективных индикаторов их диагностики в ротовой жидкости.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Показатели метаболизма в крови больных хроническим гепатитом С с разным уровнем виремии / Н.Н. Краснова, Ю.В. Мякишева, **И.А. Зубова** [и др.] // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Новая идеология в единстве фундаментальной и клинической медицины». – Самара, 2005. – С. 213–219.
2. Продуктивные подходы к неинвазивной диагностике исследований ротовой жидкости / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, **И.А. Зубова** [и др.] // Материалы X Международной научной конференции «Здоровье семьи – 21 век». – Бангкок – Паттайя, 2006. – С. 86–92.
3. Скрининг вируса гепатита В в донорской крови / Л.С. Карслян, Е.В. Кудинова, **И.А. Зубова** [и др.] // Материалы X Международной научной конференции «Здоровье семьи – 21 век». – Бангкок – Паттайя, 2006. – С. 155–157.
4. Влияние силистронга на функциональную активность пейсмекеров мозга / Ю.В. Мякишева, О.А. Кизирова, **И.А. Зубова** [и др.] // Материалы VII Международная научно-практическая конференции «Здоровье и Образование в XXI веке». – Москва : РУДН, 2006. – С. 356–357.
5. Биологическая вариабельность показателей азотистого обмена в крови и ротовой жидкости в связи с групповой принадлежностью крови / И.Ф. Сидорова, С.Р. Нуретдинова, **И.А. Зубова** [и др.] // Материалы XI Международной научной конференции «Здоровье семьи – XXI век». – Амстердам-Страстбург, 2007. – С. 113–117.

6. **Влияние преданалитического этапа на эффективность определения маркеров вирусных гепатитов / О.А. Гусякова, И.Ф. Сидорова, И.А. Зубова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – № 9. – С. 71–72.

7. Вирусоносительство гепатитами В и С: выявляемость, специфика метаболизма, связь с групповой принадлежностью крови / Л.С. Карслян, О.Ю. Кузнецова, И.А. Зубова [и др.] // Материалы XI Международной научной конференции «Здоровье семьи – XXI век». – Амстердам-Страстбург, 2007. – С. 140–144.

8. **Ротовая жидкость: показатели метаболизма при различной групповой принадлежности крови / Ф.Н. Гильмиярова, Ю.В. Мякишева, И.А. Зубова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – № 9. – С. 60–61.

9. *Особенности метаболического и клеточного состава крови, ассоциированные с групповой принадлежностью в системе АВО, в норме и патологии / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, И.А. Зубова [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2008. – Т. 3, № 3. – С. 76–79.

10. Зубова, И.А. Биологическая вариабельность основных гемостазиологических показателей, ассоциированная с групповой АВО-принадлежностью крови / Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, И.А. Зубова // Основы клинической гемостазиологии : монография. – Самара : Офорт, 2009. – С. 96–124.

11. **Биологическая вариабельность содержания метаболитов, связанная с АВО-принадлежностью крови / О.Ю. Кузнецова, Ф.Н. Гильмиярова, И.А. Зубова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 11. – С. 28–32.

12. **Роль алиментарных и генетических факторов в развитии заболеваний пищеварительной системы / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, И.А. Зубова [и др.] // Вопросы питания. – 2009. – Т. 78, № 3. – С. 62–66.

13. Фундаментальные исследования молекулярных признаков АВО-принадлежности, реализованных в показателях метаболизма и клеточного состава в норме и патологии / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, И.А. Зубова [и др.] // Материалы Российской конференции, посвященной 80-летию со дня рождения Р. И. Лифшица, «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии», 5-8 октября 2009 г. – Челябинск, – 2009. – С. 27–29.

14. **Молекулярные признаки АВО-принадлежности в обеспечении специфики ответной реакции на биологически активные вещества / О.А. Гусякова, И.Ф. Сидорова, И.А. Зубова [и др.] // Вестник РУДН. – 2009. – № 3. – С. 28–33.

15. Особенности скрининга донорской крови на ВИЧ-инфекцию / Л.С. Карслян, И.Ф. Сидорова, **И.А. Зубова** [и др.] // Материалы XIII Международной научной конференции «Здоровье семьи в 21 веке». – Хургада-Пермь, 2009. – С. 187–191.

16. **Зубова, И.А.** Иммунологические характеристики хронического гингивита / **И.А. Зубова**, С.А. Буракшаев, М.Д. Филиппова // «Здоровье и образование в XXI веке» «Инновационные технологии в биологии и медицине». Научные труды X Международного конгресса. – Москва : Российский университет дружбы народов, 2009. – С. 774–775.

17. ***Свидетельство для государственной регистрации программы для ЭВМ № 2010611397. Программа для импорта данных биохимического анализатора COBAS INTEGRA 400 Plus / Мурский С.И., Гусякова О.А., **Зубова И.А.**, Воронкова Е.Е. и др. ; зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 17.02.2010.

18. ***Пат. № 2402772 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48 (2006.01). Способ оценки эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита / Гильмияров Э.М., **Зубова И.А.**, Головина Е.С., Гергель Н.И., Бабичев А.В., Непомнящая Н.В., Буракшаев С.А., Мингачева А.А., Родькина О.М., Филиппова М.Д., Гусякова О.А. ; заявитель и патентообладатель – О.А. Гусякова. – № 2009104267/15 ; заявл. 09.02.2009 ; опубл. 27.10.2010, Бюл. № 30. – 12 с.

19. ***Пат. № 84690 U1 Российская Федерация, МПК A61B 17/34. Устройство для взятия Браш–Биопсии со слизистой оболочки гортани / Юрченко И.Н., **Зубова И.А.**, Лунев А.В., Лунева Е.С. ; заявитель и патентообладатель – А.В. Лунев. – № 2009110436/22 ; заявл. 23.03.2009 ; опубл. 20.07.2009, Бюл. № 20. – 8 с.

20. **Влияние малых молекул на процессы межмолекулярного взаимодействия, лежащие в основе лигандных технологий лабораторной диагностики / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, **И.А. Зубова** [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 7. – С. 14–18.

21. *Особенности системы гемостаза при гемофилии / И.Л. Давыдкин, Ю.А. Косякова, **И.А. Зубова** [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т. 91, № 4. – С. 438–441.

22. **Иммунологические показатели периферической крови женщин пожилого возраста при равноускоренном тренинге: результаты 12-недельного исследования / И.В. Широлапов, А.В. Жестков, **И.А. Зубова** [и др.] // Медицинская иммунология. – 2010. – Т. 12, № 4-5. – С. 413–416.

23. *Адаптационные возможности системы иммунитета женщин пожилого возраста в условиях равноускоренного тренинга: результаты 24-недельного исследования / В.Ф. Пятин, А.В. Жестков, И.А. Зубова [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2010. – Т. 11, № 1. – С. 42–47.

24. *Новые возможности оценки состояния соединительной ткани / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, И.А. Зубова [и др.] // Омский научный вестник. – 2011. – № 1. – С. 98–101.

25. **Фенотипические особенности показателей гуморального иммунитета больных хроническим генерализованным пародонтитом с различной группой крови / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, И.А. Зубова [и др.] // Биомедицинская химия. – 2011. – Т. 57, Вып. 6 – С. 650–656.

26. **Современные лабораторные стандарты в практике клинической лабораторной службы региона / О.А. Гусякова, Ф.Н. Гильмиярова, И.А. Селезнева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 9. – С. 13.

27. **Лабораторные критерии оценки прогноза кровотечений у больных гемофилией / Ю.А. Косякова, И.Л. Давыдкин, И.А. Селезнева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 9. – С. 70.

28. *Показатели ротовой жидкости и электроодонтометрии в оценке эффективности лечения хронического периодонтита / Н.И. Гергель, В.М. Радомская, И.А. Селезнева [и др.] // Медицинский альманах. – 2013. – № 1. – С. 201–204.

29. Простат-специфический антиген в оценке стадии рака предстательной железы / О.С. Золотовицкая, И.А. Селезнева, О.А. Кизирова [и др.] // Актуальные проблемы дополнительного профессионального образования и здравоохранения. Материалы межрегиональной научно–практической конф., посвящ. 30-летию ИПО Самарского государственного медицинского университета / под ред. Г. П. Котельникова, С. Н. Измалкова. – Самара, 2013. – С. 359–361.

30. *Интегральная оценка гемограммы у больных различного возраста с внебольничной пневмонией / И.Л. Давыдкин, О.И. Федорова, И.А. Селезнева [и др.] // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2014. – № 4. – С. 34–37.

31. Селезнева, И.А. Сравнительная характеристика методов определения СОЭ / А.И. Габрильчак, И.А. Селезнева // Аспирантские чтения – 2014. Материалы конф. с международным участием «Молодые ученые 21 века – от современных технологий к инновациям», посвященной 95-летию СамГМУ. – Самара : Типография ЦПР, 2014. – С. 260–261.

32. **Группоспецифические особенности гемопозитического потенциала в норме и у больных гемофилией / Ю.А. Косякова, И.Л. Давыдкин, И.А. Селезнева [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2015. – Т. 60,

№ 1. – С. 18–21.

33. *Особенности системы гемостаза при гемофилии / И.Л. Давыдкин, Ю.А. Косякова, И.А. Селезнева [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 91, № 4. – С. 438.

34. *Селезнева, И.А. Цитологическая динамика гнойных ран челюстно-лицевой области при вакуумно-промывном дренировании / В.А. Монаков, А.Л. Савельев, И.А. Селезнева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 11-1. – С. 41–46.

35. Метод диагностики стоматитов при гемобластозах по содержанию антител А и G к глиадину и трансклутаминазе / М.В. Свечникова, Э.М. Гильмияров, И.М. Федяев, И.А. Селезнева // Наука и инновации в медицине. – 2016. – № 2. – С. 63–67.

36. Новые методы диагностики стоматитов при гемобластозах по содержанию антител А и G к глиадину и трансклутаминазе / М.В. Свечникова, Э.М. Гильмияров, И.М. Федяев, И.А. Селезнева // Актуальные вопросы стоматологии. Сборник научных трудов, посвященных 50-летию стоматологического образования в СамГМУ. – Самара, 2016. – С. 246–252.

37. Активность ферментов эритроцитов с учетом групповой принадлежности крови / О.А. Балдина, А.В. Козлов, И.А. Селезнева [и др.] // Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева. – Материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием. – Рязань, 2016. – С. 43–46.

38. ***Пат. № 2572696 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ прогнозирования проявлений стоматита у пациентов с острыми лейкозами по изменению содержания антител к трансклутаминазе классов иммуноглобулинов А и G в ротовой жидкости / Гильмияров Э.М., Гильмиева Ф.Н., Селезнёва И.А., Свечникова М.В., Рыжова О.П., Левина Н.М. ; заявитель и патентообладатель – Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2014125620/15 ; заявл. 24.06.2014 ; опубл. 20.01.2016, Бюл. № 2. – 5 с.

39. ABO-blood groups system and morbidity / I.A. Selezneva, F.N. Gylmiyarova, O.A. Gusyakova [et al.] // European journal of natural history. – 2017. – № 1. – P. 14–21.

40. *Клинико-молекулярные особенности стоматитов у пациентов с острыми и хроническими лейкозами / И.А. Селезнева, Ф.Н. Гильмиева, Д.А. Доменюк [и др.] // Медицинский альманах. – 2018. – № 5. – С. 230–234.

41. **Молекулярные маркеры повреждений слизистой оболочки полости рта у пациентов с лейкозами / И.А. Селезнева, М.В. Свечникова, Э.М. Гильмияров [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Т. 63, № 6. – С. 349–352.

42. *Пат. 2672471 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48, G01N 33/50. Способ оценки метаболической активности мегакариоцитарного ростка костного мозга / Габрильчак А.И., Халиулин А.В., Селезнева И.А., Гусякова О.А., Радомская В.М., Васильева Т.В. ; заявитель и патентообладатель – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2018109674 ; заявл. 19.03.2018 ; опубл. 15.11.2018, Бюл. № 32. – 9 с.**

43. Секреторный статус ротовой жидкости по антигенам А и В здоровых добровольцев / И.А. Селезнева, Ф.Н. Гильмиярова, В.И. Кузьмичева [и др.] // Наука молодых. – 2019. – Т. 7, № 4. – С. 548–556.

44. **Клинико-молекулярные индикаторы воспалительно-деструктивных поражений полости рта при пародонтите у лиц с различной групповой принадлежностью крови / И.А. Селезнева, Ф.Н. Гильмиярова, И.А. Бородин [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 100–105.

45. **Группы крови и болезни человека (обзор литературы) / И.А. Селезнева, Ф.Н. Гильмиярова, Н.А. Колотьева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 216–221.

46. Селезнева, И.А. Клинико-молекулярные особенности воспалительно-деструктивных поражений полости рта (монография) / И.А. Селезнева, Э.М. Гильмияров. – Самара : Офорт, 2020. – 96 с.

*** – Работа опубликована в журнале, включённом в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук.**

**** – Работа опубликована в издании, входящем в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованном ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук.**

***** – Патенты**