

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Расаматов Бехруз Бахром угли

**Диагностическая значимость биомаркеров ротовой жидкости у пациентов с
сопутствующими патологиями**

3.1.7. Стоматология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Макеева Ирина Михайловна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Состав, свойства и диагностический потенциал ротовой жидкости	16
1.1.1. Источники и компонентный состав ротовой жидкости.....	16
1.1.2. Механизмы проникновения биомаркеров в ротовую жидкость	17
1.1.3. Преимущества и ограничения ротовой жидкости как диагностической среды.....	19
1.1.4. Преаналитический этап исследования ротовой жидкости: методы сбора, обработки, хранения и биобанкирование	21
1.2. Взаимосвязь стоматологической патологии и сердечно-сосудистых заболеваний	31
1.2.1. Эпидемиологические данные	31
1.2.2. Стоматологический статус пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.....	32
1.3. С-реактивный белок в ротовой жидкости: механизмы, диагностическое значение и влияние пародонтального воспаления	33
1.3.1. С-реактивный белок – биомаркер системного воспаления	33
1.3.2. Источники и механизмы появления С-реактивного белка в ротовой жидкости.....	34
1.3.3. Связь концентраций С-реактивного белка в сыворотке крови и ротовой жидкости.....	35
1.3.4. Вклад пародонтального воспаления в концентрацию С-реактивного белка в ротовой жидкости.....	36
1.3.5. С-реактивный белок ротовой жидкости при кардиологической патологии.	37
1.4. МВ-фракция креатинфосфокиназы в ротовой жидкости при серечно-сосудистых заболеваниях.....	39
1.4.1. МВ-фракция креатинфосфокиназы как биомаркер повреждения миокарда	39

1.4.2. МВ-фракция креатинфосфокиназы в биологических жидкостях.....	39
1.4.3. Механизмы поступления МВ-фракции креатинфосфокиназы в ротовую жидкость	41
1.5. Биомаркеры ротовой жидкости при воспалительной патологии пародонта ...	42
1.5.1. Провоспалительные цитокины в ротовой жидкости при заболеваниях пародонта.....	42
1.5.2. Матриксная металлопротеиназа-8 как биомаркер деструкции тканей пародонта.....	44
1.5.3. Биохимические и иммунологические показатели ротовой жидкости при заболеваниях пародонта	45
1.6. Влияние сердечно-сосудистых заболеваний и медикаментозной терапии на параметры ротовой жидкости	48
1.6.1. Скорость слюноотделения и ксеростомия при сердечно-сосудистых заболеваниях	48
1.6.2. Влияние медикаментозной терапии сердечно-сосудистых заболеваний на секрецию слюны	49
1.6.3. Влияние вредных привычек на параметры ротовой жидкости.....	51
1.6.4. Влияние скорости слюноотделения на измеряемую концентрацию биомаркеров	51
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	53
2.1. Дизайн и основные этапы исследования	53
2.2. Критерии отбора участников.....	55
2.3. Методический этап стандартизации способа получения ротовой жидкости ..	58
2.3.1. Дизайн методического этапа	58
2.3.2. Исследуемые способы получения ротовой жидкости	59
2.3.3. Исследуемые показатели и критерии сравнительной оценки способов получения ротовой жидкости	61
2.3.4. Обоснование объема выборки и статистический анализ методического этапа.....	62

2.4. Основной клинико-лабораторный этап исследования: биомаркеры ротовой жидкости с учетом местных и системных факторов.....	63
2.4.1. Сбор анамнестических данных и данных о системном состоянии здоровья	63
2.4.2. Оценка стоматологического статуса.....	65
2.4.3. Получение, транспортировка, обработка и хранение биологического материала.....	67
2.4.4. Лабораторное определение биомаркеров в ротовой жидкости и сыворотке крови	72
2.4.5. Формирование клинических групп и аналитических подвыборок, обоснование их объема	76
2.5. Методы статистической обработки и анализа данных	78
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	81
3.1. Методический этап стандартизации способа получения ротовой жидкости ..	82
3.1.1. Характеристика участников, преаналитические показатели и практическая выполнимость способов получения ротовой жидкости	82
3.1.2. Концентрации С-реактивного белка и МВ-фракции креатинфосфокиназы при четырех способах получения ротовой жидкости	84
3.1.3. Сравнительная оценка способов получения ротовой жидкости	85
3.2. Стоматологический статус и параметры ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и участников контрольной группы	86
3.2.1. Клинико-демографическая характеристика, структура сердечно-сосудистой патологии и медикаментозная терапия	86
3.2.2. Поведенческие факторы и стоматологический статус.....	89
3.2.3. Выраженность ксеростомии и факторы, связанные со скоростью нестимулированного слюноотделения	91
3.3. Клинико-лабораторное исследование биомаркеров ротовой жидкости	92
3.3.1. С-реактивный белок	92
3.3.2. МВ-фракция креатинфосфокиназы.....	102
3.4. Четырехгрупповое клинико-лабораторное исследование	105

3.4.1. Характеристика клинических групп	105
3.4.2. Пародонтологические показатели, скорость нестимулированного слюноотделения и концентрация С-реактивного белка в ротовой жидкости	106
3.4.3. Показатели в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита	110
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	112
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	131
ВЫВОДЫ	134
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	136
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	138
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	139

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Ротовая жидкость (РЖ) является неинвазивной диагностической средой. По данным ультраглубокого протеомного анализа, ее протеом включает более 3 700 человеческих белков в одном анализе и до 5 500 белков после фракционирования, а также свыше 2 000 микробных белков, наряду с цитокинами, ферментами, микробной ДНК и гормонами [186]. Ротовая жидкость может быть получена неинвазивно, без венепункции, а забор образцов может многократно повторяться без дополнительной кровопотери и риска осложнений, связанных с венозным доступом, что делает этот биоматериал перспективным для скрининговых исследований [164].

Хроническое системное воспаление признано одним из ключевых патогенетических механизмов, связывающих атеросклероз, ишемическую болезнь сердца и хроническую сердечную недостаточность. Наиболее изученным лабораторным биомаркером воспаления является С-реактивный белок (СРБ), который широко применяется для оценки сердечно-сосудистого риска, стратификации пациентов и мониторинга эффективности терапии [98]. Один из логичных шагов – определять СРБ в ротовой жидкости, а не только в сыворотке [181]. СРБ поступает в ротовую жидкость преимущественно из крови, в том числе через десневую борозду [82]. Экспериментальные данные также указывают на возможность его локальной экспрессии в тканях пародонта [128]. Поэтому его концентрация в ротовой жидкости может зависеть от состояния пародонта.

МВ-фракция креатинфосфокиназы (КФК-МВ) является признанным биомаркером повреждения миокарда и широко используется в диагностике острого инфаркта миокарда. Присутствие КФК-МВ в ротовой жидкости описано в ряде исследований, однако его диагностическое значение при сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ), взаимосвязь с сывороточными уровнями и

возможное влияние стоматологического статуса на концентрацию этого фермента в РЖ остаются мало изученными [33].

Отдельную клинически значимую проблему представляет влияние ССЗ и полипрагмазии на количественные и качественные характеристики ротовой жидкости. Длительная медикаментозная терапия сердечно-сосудистых заболеваний может сопровождаться изменением секреторной функции слюнных желез и развитием ксеростомии; выраженность этих изменений зависит от характера терапии, сопутствующей патологии и общей медикаментозной нагрузки [167]. Сдвиги вязкости и pH ротовой жидкости способствуют прогрессированию кариеса и воспалительных заболеваний пародонта, а эти процессы, в свою очередь, могут изменять концентрацию определяемых в ней биомаркеров [85].

Современные обзорные и оригинальные исследования указывают на умеренную, но переменную связь между сывороточным СРБ и СРБ ротовой жидкости [35, 149, 165]. Вариативность результатов во многом объясняется тем, что способы сбора, первичной обработки и хранения ротовой жидкости в разных работах не стандартизованы, поэтому данные исследований трудно сопоставлять [133, 180]. Существенное значение имеет и пародонтологический статус пациента: при неполной оценке воспаления тканей пародонта повышение СРБ в ротовой жидкости может быть ошибочно интерпретировано только как отражение системной воспалительной нагрузки [171, 181]. Дополнительным методологическим ограничением является то, что в части исследований недостаточно учитывались потенциальные смешивающие факторы, включая лекарственную терапию, курение и скорость нестимулированного слюноотделения [181]. В связи с этим вопрос о соотношении системного и локального пародонтального вклада в формирование уровня СРБ ротовой жидкости остается недостаточно изученным, тем более что пародонтит сопровождается повышением и сывороточного СРБ [177].

На результаты исследования слюнных биомаркеров могут также влиять поведенческие факторы и особенности преаналитического и аналитического

этапов [103, 179]. Недостаточная стандартизация этих условий затрудняет сопоставление результатов исследований и клиническую интерпретацию полученных значений.

Учет этих факторов имеет принципиальное значение, поскольку воспалительные заболевания пародонта, лекарственная терапия и изменение скорости слюноотделения могут влиять на измеряемые концентрации белковых биомаркеров в ротовой жидкости и затруднять их прямое сопоставление с сывороточными показателями [121, 194]. В связи с этим клинико-лабораторная интерпретация саливарных биомаркеров у пациентов с сердечно-сосудистой патологией требует учета стоматологического статуса, прежде всего состояния тканей пародонта, наряду с системными клиническими и лабораторными показателями.

Степень разработанности темы исследования

К настоящему времени опубликованы обзорные и оригинальные исследования, посвященные диагностическому значению биомаркеров ротовой жидкости при системных заболеваниях, в том числе при сердечно-сосудистой патологии. В этих работах показано, что С-реактивный белок, КФК-МВ, тропонин I, миоглобин и ряд других молекул могут определяться в ротовой жидкости и рассматриваться как потенциальные неинвазивные маркеры системного воспаления и кардиальной патологии [149, 165, 181].

Клиническая интерпретация этих показателей ограничена. Во многих исследованиях пародонтологический статус пациентов оценивался неполно либо не включался в статистический анализ как возможный смешивающий фактор. В результате выявляемые связи между сывороточными и саливарными биомаркерами могут отражать не только системное воспаление, но и локальные воспалительные изменения тканей пародонта [149, 183].

Отдельную проблему представляет недостаточная стандартизация преаналитического этапа. Различия в способах получения ротовой жидкости,

времени забора, условиях первичной обработки, хранения и количестве циклов замораживания–оттаивания могут влиять на концентрацию биомаркеров и затруднять сопоставление результатов разных исследований [164].

Кроме того, в литературе недостаточно представлены работы, в которых СРБ и КФК-МВ одновременно определялись в РЖ и крови у пациентов с ССЗ с одновременным учетом стоматологического статуса, скорости нестимулированного слюноотделения, медикаментозной терапии [163]. Такой подход имеет принципиальное значение, поскольку лекарственная терапия и полипрагмазия могут изменять скорость слюноотделения, а воспалительные заболевания пародонта способны влиять на уровень биомаркеров в ротовой жидкости [181].

На отечественной популяции комплексные исследования биомаркеров ротовой жидкости у кардиологических пациентов также представлены ограниченно. Имеющиеся публикации российских авторов посвящены отдельным аспектам проблемы: особенностям стоматологического статуса у пациентов с ССЗ [5, 37], связи пародонтита с системными заболеваниями [1, 42], структуре и функции гематосаливарного барьера [13, 75], маркерам слюны при пародонтите [31, 34, 36, 55, 68], ассоциации пародонтита и ССЗ [9, 25, 49, 58, 67], маркерам воспаления в слюне при хронической ишемической болезни сердца (ИБС) [35], протеомному составу слюны [8]. В совокупности указанные работы не формируют единого исследовательского протокола, включающего одновременное определение исследуемых биомаркеров в ротовой жидкости и крови, стандартизированную пародонтологическую оценку и многофакторный регрессионный анализ.

Локальные стоматологические факторы при интерпретации саливарных биомаркеров оценены недостаточно; в этом состоит научный пробел. Это определяет актуальность настоящей диссертационной работы и обосновывает необходимость проведения наблюдательного исследования у пациентов с подтвержденными сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: повышение эффективности диагностики коморбидных заболеваний на основании анализа биомаркеров ротовой жидкости.

Задачи:

1. Сравнить четыре способа получения ротовой жидкости по преаналитическим характеристикам, практической выполнимости и влиянию на концентрации СРБ и КФК-МВ и обосновать стандартизированный протокол получения, первичной обработки и хранения образцов у пациентов с ССЗ.
2. Оценить стоматологический статус, выраженность ксеростомии и скорость слюноотделения у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в сравнении с лицами контрольной группы и установить связь скорости слюноотделения с лекарственной нагрузкой.
3. Определить концентрации СРБ и КФК-МВ в ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и оценить их взаимосвязь с концентрациями в сыворотке крови.
4. Выявить факторы, ассоциированные с концентрациями СРБ и КФК-МВ в ротовой жидкости, с учетом их сывороточных концентраций и клинических показателей состояния тканей пародонта.
5. Оценить независимые ассоциации ишемической болезни сердца и хронического пародонтита с концентрацией СРБ ротовой жидкости, а также связь СРБ ротовой жидкости со степенью тяжести хронического пародонтита.

Научная новизна

1. Впервые у пациентов с ССЗ проведена сравнительная оценка четырех способов получения ротовой жидкости с учетом преаналитических характеристик, показателей практической выполнимости и результатов определения СРБ и КФК-МВ.

2. Впервые у пациентов с ишемической болезнью сердца и хроническим пародонтитом в многофакторной модели количественно оценены независимые ассоциации концентрации СРБ ротовой жидкости с системным и пародонтальным воспалением.

3. Впервые изучены особенности концентрации СРБ ротовой жидкости при различном сочетании ишемической болезни сердца и хронического пародонтита и оценен независимый вклад каждого заболевания в вариабельность этого показателя.

4. Впервые у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и хроническим пародонтитом проведена комплексная оценка концентрации КФК-МВ в ротовой жидкости и сыворотке крови во взаимосвязи с клиническими показателями состояния тканей пародонта.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры терапевтической стоматологии Института стоматологии имени Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Результаты исследования внедрены в лечебный процесс клиники терапевтической стоматологии Стоматологического центра Института стоматологии имени Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Исследование уточняет диагностическое значение биомаркеров ротовой жидкости при сочетании стоматологической и сопутствующей патологии. Полученные данные дополняют представления о соотношении системного и локального компонентов в формировании концентраций исследуемых биомаркеров и обосновывают необходимость учета состояния тканей пародонта при их клинико-лабораторной интерпретации.

На основании результатов исследования для пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями разработан стандартизированный протокол получения, первичной обработки и хранения ротовой жидкости для определения СРБ и КФК-МВ. Обоснован выбор рабочего разведения образцов при определении СРБ методом ИФА. Предложена схема интерпретации концентрации СРБ в ротовой жидкости. Определены возможности и ограничения применения КФК-МВ ротовой жидкости.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в рамках многоэтапного клинико-лабораторного исследования, включавшего методический этап и последующее поперечное исследование с проспективным сбором клинических данных и биологических образцов. Исследование проведено в Институте стоматологии имени Е.В. Боровского, Научно-практическом центре интервенционной кардиоангиологии и Биобанке Сеченовского Университета. Одобрение исследования получено от Локального этического Комитета Сеченовского Университета (№ 23-23 от 01.12.2023 г.). Участие в исследовании осуществлялось после подписания добровольного информированного согласия.

Методический этап включал 21 пациента с ишемической болезнью сердца. Основной клинико-лабораторный этап проведен у 339 участников: 219 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, 100 лиц контрольной группы и 20 пациентов с хроническим пародонтитом без сердечно-сосудистых заболеваний. Для углубленного анализа были сформированы биомаркерные и четырехгрупповая аналитическая подвыборки.

В работе применяли клинические, стоматологические, лабораторные, функциональные и статистические методы исследования. Определяли стоматологический статус, скорость нестимулированного слюноотделения, концентрации С-реактивного белка и КФК-МВ в ротовой жидкости и сыворотке крови. Статистический анализ включал методы описательной и сравнительной

статистики, корреляционный и многофакторный регрессионный анализ, ROC-анализ и анализ чувствительности. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции и дизайна исследования, анализе отечественной и зарубежной литературы, формировании клинических групп, контрольной группы и аналитических подвыборок. Автор самостоятельно проводил стоматологическое обследование пациентов, регистрировал стоматологические показатели, осуществлял получение ротовой жидкости по стандартизированному протоколу, анкетирование участников и систематизацию собранных данных.

Автор участвовал в подготовке биологических образцов к лабораторному исследованию и определении изучаемых биомаркеров. При его участии была сформирована электронная база данных и получен патент на полезную модель. Автор также участвовал в контроле качества исходной информации, статистической обработке и интерпретации полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Ишемическая болезнь сердца и хронический пародонтит независимо ассоциированы с повышением концентрации С-реактивного белка в ротовой жидкости; наибольшие значения регистрируются при их сочетании. У пациентов с хроническим пародонтитом концентрация СРБ ротовой жидкости увеличивается с нарастанием тяжести поражения тканей пародонта.

2. У пациентов с ишемической болезнью сердца и хроническим пародонтитом концентрация С-реактивного белка в ротовой жидкости независимо связана с кровоточивостью при зондировании и концентрацией СРБ в сыворотке

крови, что отражает одновременное влияние локального пародонтального и системного воспаления.

3. У пациентов с ишемической болезнью сердца и хроническим пародонтитом концентрация КФК-МВ в ротовой жидкости не демонстрирует статистически значимой связи с концентрацией КФК-МВ в сыворотке крови, но ассоциирована с клиническими показателями выраженности поражения тканей пародонта.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.7. Стоматология по следующим направлениям исследований: пункт 2 – «Изучение этиологии, патогенеза, эпидемиологии, методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний пародонта»; пункт 8 – «Экспериментальные исследования по изучению этиологии, патогенеза, лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обеспечена объемом клинического материала, применением стандартизированных методов стоматологического обследования и исследования ротовой жидкости, а также использованием современных методов статистического анализа.

Основные результаты исследования были представлены и обсуждены в рамках следующих научных мероприятий:

1. Сессия молодых ученых Российской пародонтологической ассоциации «Содружество ВУЗов» в рамках симпозиума «Актуальные вопросы доказательной медицины в стоматологии», 22 апреля 2024 г., г. Москва;

2. II Всероссийский конгресс с международным участием «Общемединские аспекты здоровья полости рта», 21 декабря 2024 г., г. Москва;

3. Сессия молодых ученых Российской пародонтологической ассоциации «Содружество ВУЗов» в рамках симпозиума «Актуальные вопросы хирургического лечения в пародонтологии, имплантологии, стоматологии», 22 апреля 2025 г., г. Москва;

4. Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии», 15 мая 2025 г., г. Москва.

Апробация результатов диссертационного исследования состоялась на заседании кафедры терапевтической стоматологии Института стоматологии имени Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 26 июня 2026 г. (протокол № 10).

Публикации по теме диссертации

Основные результаты диссертационного исследования отражены в 6 научных работах, в том числе 2 научные статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 2 публикации в сборниках материалов всероссийских научных конференций; 1 патент на полезную модель, 1 свидетельство о государственной регистрации базы данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация включает 161 страницу машинописного текста, 19 таблиц и 19 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Список литературы включает 197 источников, из них 76 отечественных и 121 зарубежный.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Состав, свойства и диагностический потенциал ротовой жидкости

1.1.1. Источники и компонентный состав ротовой жидкости

Ротовая жидкость – сложная биологическая среда. Основную часть ее объема составляет секрет околоушных, поднижнечелюстных и подъязычных слюнных желез, остальное обеспечивают многочисленные малые слюнные железы слизистой оболочки рта. В норме за сутки продуцируется от 0,5 до 1,5 л слюны [191]. В состоянии покоя (нестимулированная РЖ) скорость слюноотделения составляет в среднем 0,3–0,4 мл/мин, тогда как при стимуляции она возрастает до 1–2 мл/мин [89].

Современные протеомные исследования подтверждают высокую молекулярную сложность ротовой жидкости: ее белковый состав включает секреторные продукты слюнных желез, белки плазменного происхождения, компоненты десневой жидкости, медиаторы воспаления и белки микробного происхождения [165]. Высокочувствительные масс-спектрометрические подходы позволяют выявлять тысячи человеческих и микробных белков в ротовой жидкости, что обосновывает ее использование как неинвазивной диагностической среды при заболеваниях полости рта и системной патологии [158, 186]. Помимо специфических секреторных продуктов (α -амилаза, муцины, цистатины, пролин-богатые белки, лактоферрин, иммуноглобулин А), в ротовой жидкости обнаруживаются системные белки плазмы крови – альбумин, С-реактивный белок, интерлейкины, факторы свертывания и ферменты – поступающие в полость рта через десневую жидкость в результате пассивной диффузии и активного транспорта [63, 75, 141].

Митронин и соавт. (2021) обобщили данные о протеомном и метаболомном составе слюны и показали, что значительная часть белков слюны имеет плазменное происхождение, что обосновывает ее диагностический потенциал при

системных заболеваниях [8]. При этом слюна отражает не только системные патологические процессы, но и локальное состояние тканей полости рта, включая активность воспаления пародонта, состояние слизистой оболочки и особенности микробиоценоза [42, 101].

1.1.2. Механизмы проникновения биомаркеров в ротовую жидкость

Биомаркеры ротовой жидкости имеют секреторное, плазменное, клеточное, микробное и тканевое происхождение [170]. Для настоящего исследования особое значение имеют механизмы поступления белковых молекул системного происхождения в ротовую жидкость, поскольку они определяют интерпретируемость сопоставления концентраций биомаркеров в ротовой жидкости и крови. Наибольшее значение для крупных белков имеет переход через десневую жидкость, тогда как при воспалении пародонта дополнительный вклад вносит повышение сосудистой и эпителиальной проницаемости [87, 110, 141].

Пассивная диффузия и ультрафильтрация. Низкомолекулярные липофильные соединения могут поступать в слюну путем пассивной диффузии через клетки слюнных желез. Небольшие молекулы с молекулярной массой менее 1,9 кДа могут дополнительно проникать путем ультрафильтрации через межклеточные пространства ацинарных и протоковых клеток. Для отдельных белков и других полярных соединений возможны механизмы активного транспорта [165].

Транссудация через десневую борозду. В здоровом пародонте десневая жидкость представляет собой пассивный транссудат, формирующийся за счет осмотического градиента; в ее состав входят белки плазмы, включая иммуноглобулины, белки комплемента и острофазные белки [63, 82].

Экссудация. При гингивите и пародонтите повышение проницаемости микрососудов и нарушение барьерной функции эпителия приводят к усиленному поступлению плазменных белков в десневую жидкость, которая приобретает свойства экссудата [30, 115].

Локальный синтез. Ряд белков, в частности СРБ, может синтезироваться непосредственно в воспаленных тканях пародонта. Исследования показали, что экспрессия гена CRP повышена в воспаленных тканях пародонта, прежде всего в эндотелиоцитах, стимулированных интерлейкином-6 [123, 128]. Островская и соавт. (2025) показали, что у пожилых пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6) в нестимулированной ротовой жидкости повышен в 3,4 раза по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$), что отражает хронический провоспалительный профиль и подтверждает роль местного цитокинового окружения как стимула для локального синтеза СРБ [30].

Мовсесян и соавт. (2022) выявили изменения иммунологических показателей ротовой жидкости, включая секреторный IgA, лизоцим и цитокины, у пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области [43]. Полученные данные указывают на связь локального воспалительного процесса с особенностями иммунологического профиля ротовой жидкости.

Проницаемость гематосаливарного барьера – ключевой фактор, определяющий переход плазменных белков в РЖ. Селезнева и соавт. (2022) детально описали структуру барьера (эндотелий капилляров – базальная мембрана – интерстиций – эпителий) и показали, что в норме он селективно пропускает низкомолекулярные вещества (электролиты, мочевины), ограничивая пассаж крупных белков [13]. Мао и соавт. (2022) в прямом эксперименте на подчелюстных железах мышей продемонстрировали, что нарушение эндотелиальных плотных контактов сопровождается выходом флуоресцентно-меченых декстранов с молекулярной массой 40–70 кДа из капилляров в ацинарный интерстиций, что воспроизводит механизм повышенного пассажа плазменных белков при системной эндотелиальной дисфункции [122]. Чуйкин и соавт. (2021) дополнили эти данные клиническими наблюдениями: при системных заболеваниях, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией,

проницаемость барьера возрастает – в слюне появляются белки, в норме присутствующие в минимальных концентрациях [75].

Гетерогенность корреляции СРБ сыворотки крови и ротовой жидкости ($r = 0,43-0,71$) объясняется не аналитической погрешностью, а различиями в пародонтальном статусе когорт, которые авторы не контролировали [165, 181].

1.1.3. Преимущества и ограничения ротовой жидкости как диагностической среды

Интерес к диагностическому использованию РЖ обусловлен рядом практических преимуществ по сравнению с сывороткой крови: неинвазивность и безболезненность забора, возможность повторного сбора без ограничений по объему биоматериала, минимизация риска передачи гемоконтактных инфекций (ВИЧ, гепатиты В и С), возможность применения в крупных скрининговых программах и проведения домашнего мониторинга [110, 141]. Ротовую жидкость используют и для оценки гормонального статуса, в частности стероидного профиля при планировании стоматологических вмешательств [80].

Широкое клиническое применение метода ограничивают несколько факторов. Во-первых, концентрации большинства системных биомаркеров в РЖ на несколько порядков ниже, чем в сыворотке крови, что предъявляет повышенные требования к чувствительности аналитических методов [165].

Во-вторых, состав РЖ подвержен значительной индивидуальной и суточной вариабельности; на него влияют циркадные ритмы, степень гидратации, применение лекарственных препаратов, курение, гигиеническое состояние полости рта и наличие воспалительных заболеваний пародонта [15, 103, 181]. Дополнительными источниками биологической вариабельности являются возраст и сопутствующая патология. Копенкин и соавт. (2024) описали возраст-ассоциированные изменения химических параметров ротовой жидкости при стоматологических заболеваниях [28]. Чуйкин и соавт. (2023) выявили различия биохимических показателей ротовой жидкости у лиц разных возрастных групп и

при наличии сопутствующих заболеваний [27]. Иманов и соавт. (2023) показали особенности микроэлементного состава слюны у пациентов пожилого возраста [29]. Ранее та же группа авторов в обзорах обобщила данные о сдвигах микроэлементного состава слюны при сопутствующей патологии и рассматривала коморбидность как самостоятельный фактор этих изменений [3, 38]. Матвеева и соавт. (2023) показали влияние сопутствующей соматической патологии на пародонтологические и гигиенические индексы и минеральный состав ротовой жидкости [39]. Элементный состав ротовой жидкости связан и со стоматологическим статусом, в частности с интенсивностью кариеса [64], а также с профессиональными факторами: смешанную слюну работников химического производства исследовали методом рентгенофлуоресцентного анализа [131]. Эти данные подтверждают необходимость учета возраста и коморбидного фона при интерпретации лабораторных показателей ротовой жидкости.

В-третьих, отсутствие унифицированных протоколов преаналитического этапа (время суток, режим питания, методика сбора) и общепринятых референтных интервалов для большинства аналитов затрудняет сопоставление результатов из разных лабораторий [169].

Максимова и соавт. (2023) показали особенности протеомного профиля ротовой жидкости, ассоциированные с сосудистыми когнитивными расстройствами, что подтверждает диагностический потенциал ротовой жидкости при системной сосудистой патологии [53]. Митронин и соавт. описали особенности микроэлементного состава ротовой жидкости у пациентов с хронической ишемией головного мозга, а также ее спектральные характеристики, в том числе по данным спектроскопии ЯМР высокого разрешения, при хронических формах нарушения мозгового кровообращения [18, 41, 65]. Еварницкая и соавт. (2023) оценивали диагностические возможности анализа ротовой жидкости и корреляции ее биохимических показателей у пациентов с системной вирусной инфекцией на фоне воспалительных заболеваний пародонта [17, 21]. Нысанова и соавт. систематизировали данные о новых классах саливарных биомаркеров, включая экзосомы, микроРНК и метаболиты [45].

1.1.4. Преаналитический этап исследования ротовой жидкости: методы сбора, обработки, хранения и биобанкирование

Единообразие процедур, предшествующих лабораторному анализу ротовой жидкости, необходимо для получения воспроизводимых результатов. Различия в способах получения, первичной обработки и хранения образцов могут существенно влиять на измеряемые концентрации аналитов и ограничивать сопоставимость данных разных исследований [133, 136, 155, 157]. Международные консенсусные документы подчеркивают, что унифицированный протокол преаналитического этапа – от выбора метода сбора до условий долгосрочного хранения – должен быть описан с достаточной детализацией для обеспечения сопоставимости результатов [117, 119, 130, 154].

Стандартизированная подготовка пациента перед сбором биообразцов. Стандартизация этапа перед сбором образцов рассматривается как обязательное условие сопоставимости данных саливадиагностики, поскольку пища, напитки, курение, средства гигиены, физическая нагрузка и медицинские вмешательства меняют скорость слюноотделения и биохимический состав матрикса [111, 120]. К таким вмешательствам относятся и стоматологические процедуры: после профессионального отбеливания зубов описаны изменения макро- и микроэлементного состава ротовой жидкости [69, 70].

В литературе описаны часто воспроизводимые элементы подготовки к сбору нестимулированной ротовой жидкости: избегать приема пищи/напитков/жевательной резинки и чистки зубов как минимум за 1 час до процедуры; перед сбором обеспечить 5-минутный период отдыха; перед началом сбора проглотить слюну, уже находящуюся в полости рта [81, 130]. Выраженность внутрисуточной вариабельности ротовой жидкости зависит от исследуемого аналита. Так, van Santen и соавт. при сравнении утренних и дневных образцов нестимулированной ротовой жидкости выявили ограниченную диурнальную вариабельность большинства исследованных компонентов [132]. В то же время Jasim и соавт. выявили значимую внутрисуточную вариабельность

провоспалительных медиаторов в нестимулированной ротовой жидкости, что обосновывает стандартизацию времени сбора образцов при исследовании воспалительных биомаркеров [125].

Методы сбора ротовой жидкости. В литературе описаны различные способы сбора ротовой жидкости, отличающиеся техникой сбора, степенью стимуляции секреции и возможным влиянием на состав образца [93, 136, 156]. В настоящем обзоре рассмотрены пять наиболее часто используемых подходов.

1. Метод пассивного слюноотечения. Пациент наклоняет голову вперед и позволяет слюне свободно стекать в градуированную пробирку через воронку в течение фиксированного времени (обычно 5–15 мин). Метод является «золотым стандартом» для количественного определения биомаркеров, поскольку исключает контакт с устройством для сбора, не требует стимуляции и не содержит экзогенных реагентов [93, 133, 155, 178]. Методические рекомендации по саливарным исследованиям также предусматривают использование пассивного слюноотечения при определении ряда белковых, воспалительных и гормональных маркеров [124]. Основным ограничением является затрудненность забора у пациентов с выраженной гипосаливацией; кроме того, метод требует кооперации пациента в течение относительно длительного времени.

2. Метод сплевывания. Пациент накапливает ротовую жидкость в полости рта и с регулярными интервалами (каждые 30–60 с) сплевывает в пробирку. По сравнению с пассивным слюноотечением метод ускоряет набор необходимого объема, но повторные усилия могут рефлекторно стимулировать секрецию, смещая состав в сторону стимулированной слюны [89, 120, 136]. Метод сплевывания широко применяется при исследовании ротовой жидкости, однако измеряемые концентрации белковых биомаркеров могут зависеть от способа получения образца, что необходимо учитывать при выборе протокола сбора и интерпретации результатов [94]. Орлова и соавт. (2021) подчеркнули, что оценка секреторной функции слюнных желез требует стандартизированного сбора ротовой жидкости с фиксацией времени и объема образца [61].

3. Сбор с использованием абсорбирующих устройств. Для сбора ротовой жидкости используют ватные, полиэстеровые, целлюлозные и другие абсорбирующие материалы, которые помещают в полость рта с последующим извлечением поглощенного образца в соответствии с конструкцией устройства [133, 156]. Метод удобен в амбулаторных и полевых условиях, а также у пациентов, которым затруднительно выполнить пассивное слюноотечение или сплевывание. Однако абсорбирующий материал может изменять концентрацию определяемых аналитов за счет адсорбции белков, различий в эффективности извлечения образца и возможного матричного эффекта. Для белковых биомаркеров, цитокинов и муцинов значения, полученные с абсорбирующим устройством, могут отличаться от результатов пассивного сбора [22, 93, 112, 116]. Торкас и соавт. (2012) показали, что ни одно из тестируемых абсорбирующих устройств не воспроизводило уровни СРБ, миоглобина и IgE, полученные методом пассивного слюноотечения как эталоном [108]. Yau и соавт. (2022) при прямом сравнении методов показали различия в концентрации СРБ ротовой жидкости, полученной методом пассивного слюноотечения и с использованием хлопкового устройства, что свидетельствует о невзаимозаменяемости данных способов при определении этого биомаркера [96].

4. Аспирационный метод. При аспирационном методе ротовая жидкость собирается из полости рта по мере ее накопления с помощью пипетки, шприца или системы низкого вакуума [136, 156]. Этот способ применяется преимущественно в тех клинических ситуациях, когда пассивное слюноотечение или сплевывание затруднены, в том числе у новорожденных, детей раннего возраста и пациентов с ограниченной кооперацией [93, 136]. В педиатрических протоколах описан забор ротовой жидкости из участков ее естественного скопления, преимущественно из подъязычной области и преддверия полости рта, с последующим переносом полученного материала в пробирку или стабилизирующую среду [112]. В протоколе, разработанном для педиатрической практики, описана аспирация слюны из мест ее естественного скопления (под языком, между щекой и десной) в течение 20–30 секунд при низком

разрежении (не более 10 мм рт. ст.), с получением объема порядка 10–50 мкл и непосредственным переводом материала в стабилизирующий раствор [196]. Основными ограничениями аспирационного метода являются малый объем образца, зависимость результата от техники оператора, необходимость специального оборудования и ограниченная применимость в крупных клинических исследованиях [156].

5. Метод сбора стимулированной РЖ. Для повышения секреции слюны используют жевательную стимуляцию парафиновой пластинкой, химическую стимуляцию раствором лимонной кислоты, либо механическое воздействие на слюнные железы [133]. Стимуляция позволяет за более короткий промежуток времени получить необходимый объем ротовой жидкости, что особенно важно при сниженной скорости слюноотделения [156]. Стимуляция, однако, может изменять исходные характеристики образца: увеличивает скорость секреции, меняет вклад отдельных слюнных желез в состав смешанной ротовой жидкости, влияет на концентрацию бикарбонатов, pH и уровень ряда аналитов за счет эффекта разведения и изменения матрикса [22, 89, 100]. Поэтому при исследовании биомаркеров выбор стимулированной или нестимулированной ротовой жидкости должен быть заранее стандартизирован и учитывать свойства конкретного аналита [119, 166].

Сравнительная характеристика основных методов сбора ротовой жидкости с учетом их преимуществ и ограничений при исследовании белковых биомаркеров представлена в Таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Сравнительная характеристика основных методов сбора ротовой жидкости

Метод сбора	Принцип сбора	Преимущества	Ограничения
Пассивное слюноотечение	Свободное стекание РЖ в стерильную градуированную пробирку в течение 5–15 мин	Отсутствие внешней стимуляции; отсутствие контакта с абсорбирующим материалом; возможность расчета скорости слюноотделения	Затруднен при выраженной гипосаливации; требует кооперации пациента и более продолжительного времени сбора
Сплювывание	Накопление РЖ в полости рта с последующим сплевыванием в пробирку через фиксированные интервалы	Быстрее пассивного слюноотечения; не требует специальных устройств; удобен в клинических условиях; позволяет оценить скорость слюноотделения	Возможны рефлекторная стимуляция секреции, пенообразование и вариабельность интенсивности сплевывания; требуется стандартизация интервалов сбора
Абсорбционный метод	Абсорбция РЖ ватным, полиэстеровым или синтетическим валиком с последующим извлечением образца центрифугированием	Простота применения; удобство в амбулаторных и полевых условиях; возможно применение у детей и пациентов с низким объемом РЖ	Адсорбция белков, особенно хлопковыми материалами; ограниченная точность оценки скорости слюноотделения; риск матричных артефактов
Аспирационный метод	Забор РЖ микропипеткой, шприцем или системой низкого вакуума из участков естественного скопления	Быстрый сбор; возможность контролируемого локального сбора ротовой жидкости; применим у детей, новорожденных и пациентов с нарушением кооперации	Требует оборудования и подготовленного оператора; малый объем образца; высокая зависимость от зоны и времени забора; ограниченная применимость в крупных клинических исследованиях

Продолжение Таблицы 1.1

Метод сбора стимулированной ротовой жидкости	Жевательная или химическая стимуляция с последующим сбором РЖ в пробирку	Большой объем биоматериала за короткое время	Изменение состава РЖ; смещение вклада отдельных слюнных желез; повышение pH; разведение белковых аналитов; ограниченная сопоставимость с нестимулированной РЖ
Примечание: Таблица составлена на основании анализа данных литературы [93, 108, 112, 119, 133, 136, 156, 166, 180, 187, 196]			

Обработка образцов ротовой жидкости. Независимо от способа сбора воспроизводимость лабораторного определения биомаркеров ротовой жидкости в значительной степени зависит от последующей преаналитической обработки образца. К наиболее значимым преаналитическим переменным относятся время от сбора образца до его обработки, температурный режим транспортировки, визуальный контроль контаминации, условия центрифугирования и аликвотирования, температура хранения и число циклов «замораживание–оттаивание» [117].

Подготовка образцов ротовой жидкости к лабораторному исследованию обычно включает визуальную оценку возможной контаминации кровью, пищевыми частицами и выраженными клеточно-слизистыми включениями с последующим центрифугированием, отбором супернатанта, аликвотированием и хранением в условиях, соответствующих исследуемому аналиту [133].

Центрифугирование ротовой жидкости применяют для получения более однородного супернатанта и уменьшения содержания клеточных элементов, микроорганизмов и вязких компонентов. В опубликованных исследованиях применяются различные режимы центрифугирования; в ряде протоколов первичное осветление ротовой жидкости проводят при $1000\text{--}3000 \times g$ при 4°C в течение 10–15 минут с последующим отбором супернатанта [155, 180]. Ряд авторов рекомендует двухэтапное центрифугирование: низкоскоростное ($800 \times g$, 10 мин) для удаления крупных частиц с последующим высокоскоростным ($10\,000 \times g$, 10 мин) для получения бесклеточного супернатанта; последний

подход особенно важен при протеомном анализе [105]. Стабильность отдельных аналитов ротовой жидкости существенно зависит от условий хранения. Для кортизола в предварительно центрифугированных образцах показано сохранение стабильности до 3 месяцев при 5 °C и не менее 1 года при –20 °C и –80 °C; продолжительное хранение при комнатной температуре для данного аналита не рекомендуется [113]. В отношении СРБ ротовой жидкости в отдельных исследованиях стабильности показана возможность кратковременного хранения образцов при комнатной температуре в течение нескольких часов [190]. Для длительного хранения требуется контролируемый низкотемпературный режим.

Увеличение времени между сбором и первичной обработкой может способствовать изменению концентрации лабильных белков вследствие активности эндогенных протеаз; выраженность этого эффекта зависит от исследуемого аналита и условий хранения образца [137]. Для отдельных лабильных белков в исследовательских протоколах применяются ингибиторы протеаз, однако необходимость их использования определяется свойствами конкретного аналита и аналитической методикой [166].

Разделение супернатанта на отдельные аликвоты позволяет избежать повторного размораживания всего объема образца при проведении последующих лабораторных исследований и тем самым уменьшить связанную с циклами «замораживание–оттаивание» преаналитическую вариабельность [137].

Условия хранения. Температурный режим хранения определяется продолжительностью хранения, свойствами исследуемого аналита и особенностями предварительной обработки образца. Для кратковременного хранения в ряде протоколов используют +4 °C, тогда как для длительного хранения белковых биомаркеров предпочтительным является замораживание, преимущественно при –80 °C [117, 130]. Для ряда белковых биомаркеров продемонстрирована длительная стабильность при хранении образцов ротовой жидкости при –80 °C [175, 179]. Использование жидкого азота (–196 °C) оправдано для ультрадлительного хранения в биобанках, однако сопряжено с высокими затратами и техническими рисками (перекрестная

контаминация в паровой фазе) [155]. При этом стабильность конкретного биомаркера должна оцениваться с учетом особенностей аналитической системы, поскольку универсальные сроки хранения для всех компонентов ротовой жидкости не установлены. Сравнительная характеристика основных температурных режимов хранения образцов ротовой жидкости представлена в Таблице 1.2.

Таблица 1.2 – Сравнительная характеристика температурных режимов хранения образцов ротовой жидкости

Режим хранения	Продолжительность хранения	Характеристика стабильности аналитов	Область применения
+4 °C	Кратковременное хранение	Допустим для кратковременного хранения и транспортировки образцов до первичной обработки; лабильные белки, цитокины и ферменты могут подвергаться деградации	Транспортировка образцов и кратковременное хранение до первичной обработки, центрифугирования и аликвотирования
–20 °C	Кратко- и среднесрочное хранение	Может использоваться для среднесрочного хранения относительно устойчивых аналитов; для цитокинов, ферментов и других лабильных белков возможна частичная деградация	Временное хранение при отсутствии возможности немедленного замораживания при –80 °C
–80 °C	Длительное хранение	Предпочтительный режим для долгосрочного хранения белковых биомаркеров при условии предварительного аликвотирования и исключения повторных циклов «замораживание–оттаивание»	Долгосрочное хранение, биобанкирование, мультицентровые и повторные лабораторные исследования
–196 °C, жидкий азот	Ультрадлительное хранение	Используется для ультрадлительного хранения биоматериала в специализированных биобанках; требует строгого контроля герметичности криопробирок, температурного режима и условий биобезопасности	Специализированные биобанки и длительное архивирование биоматериала

Примечание: Таблица составлена на основании анализа данных литературы [86, 117, 133, 137, 154, 155, 175, 179]

Биобанкирование образцов ротовой жидкости. Биобанк представляет собой организацию или структурное подразделение, осуществляющее получение, обработку, хранение и предоставление биологических образцов и ассоциированных с ними данных для научных и клинических целей в соответствии со стандартизированными процедурами [44]. В отличие от сыворотки крови, ротовая жидкость обладает рядом матрикс-специфических особенностей, которые необходимо учитывать при биобанкировании. Высокое содержание муцинов может затруднять пипетирование и аликвотирование; наличие клеточных элементов и бактериальной микрофлоры требует стандартизированной первичной обработки; активность эндогенных ферментов, включая протеазы, может приводить к деградации лабильных аналитов при нарушении температурного режима [6, 130].

Ключевыми элементами контроля качества при биобанкировании ротовой жидкости являются документирование метода и времени сбора, фиксация времени от сбора до первичной обработки, описание режима центрифугирования, учет объема и числа аликвот, регистрация циклов «замораживание–оттаивание», штрихкодирование образцов, температурный мониторинг хранилищ и связь лабораторного идентификатора образца с клиническими данными пациента [84].

Для стоматологических исследований принципиальное значение имеет сохранение вместе с биообразцом данных о состоянии полости рта, включая показатели воспаления тканей пародонта, гигиенический статус, наличие пародонтита, скорость нестимулированного слюноотделения, жалобы на сухость во рту и сведения о медикаментозной терапии [47, 133, 179]. Без учета стоматологического статуса интерпретация белковых биомаркеров, включая СРБ, может быть ограничена, поскольку их концентрация в ротовой жидкости определяется не только системными, но и локальными воспалительными процессами в тканях пародонта [165, 181].

Bellagambi и соавт. (2020) в обзоре методов и устройств для сбора слюны подчеркнули необходимость разработки международных руководств по преаналитическому этапу, аналогичных тем, что существуют для крови и мочи

[156]. Преаналитическая вариабельность рассматривается как один из ключевых факторов, ограничивающих сопоставимость результатов и внедрение саливадиагностики в клиническую практику [154, 155].

Стандартизация исследования ротовой жидкости не ограничивается преаналитическим этапом. При определении белковых биомаркеров принципиальное значение имеет аналитическая пригодность используемой тест-системы для конкретной биологической матрицы.

В современных работах по методологии исследования ротовой жидкости подчеркивается необходимость документировать не только способ сбора образца, но и тип исследуемой ротовой жидкости, время сбора, подготовку пациента, длительность сбора, условия транспортировки, режим первичной обработки, условия хранения, тип анализируемой фракции и конечный лабораторный показатель [117, 130, 154, 179]. Такой подход позволяет рассматривать работу с ротовой жидкостью как последовательную цепочку взаимосвязанных этапов, каждый из которых может быть источником преаналитической вариабельности [133].

Наборы иммуноферментного анализа (ИФА), валидированные производителем для сыворотки или плазмы крови, не следует автоматически считать валидированными для ротовой жидкости. При переносе тест-системы на другую биологическую матрицу необходимо учитывать рабочий диапазон, влияние разведения, воспроизводимость измерений и возможные матричные эффекты [155].

Для высокомолекулярных белковых биомаркеров, включая КФК-МВ, выявление аналита в ротовой жидкости само по себе не свидетельствует о его прямом соответствии сывороточной концентрации. На измеряемый уровень могут влиять особенности транспорта через гематосаливарный барьер, вклад десневой жидкости и локальные процессы в полости рта [87, 141, 164]. В связи с этим исследование белковых биомаркеров ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями требует стандартизации всех этапов работы

с биологическим образцом – от его сбора и первичной обработки до хранения и лабораторного анализа.

1.2. Взаимосвязь стоматологической патологии и сердечно-сосудистых заболеваний

1.2.1. Эпидемиологические данные

Сердечно-сосудистые заболевания остаются ведущей причиной смертности в мире. Согласно оценке ВОЗ, в 2022 году сердечно-сосудистые заболевания стали причиной около 19,8 млн смертей, то есть почти трети всех летальных исходов в мире [193]. Основную долю сердечно-сосудистой смертности формируют ишемическая болезнь сердца и инсульт [118]. В Российской Федерации ССЗ также занимают ведущее место в структуре причин смерти, что определяет их высокую медико-социальную значимость [56]. Артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца и нарушения ритма относятся к распространенным формам сердечно-сосудистой патологии, нередко требующим длительной медикаментозной терапии, при этом у пациентов, получающих антигипертензивные препараты, описано снижение скорости слюноотделения [150, 194].

Накопленные эпидемиологические данные свидетельствуют об устойчивой ассоциации между воспалительными заболеваниями пародонта и сердечно-сосудистой патологией. Метаанализ 39 когортных исследований (4,39 млн участников) показал, что у пациентов с пародонтитом риск ИБС повышен на 20 % (относительный риск 1,20; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,12–1,29), а риск инсульта – на 26 % (относительный риск 1,26; 95 % ДИ 1,15–1,37) по сравнению с лицами без пародонтита [143]. Эти данные согласуются с современным консенсусным документом, в котором тяжелый пародонтит рассматривается как состояние, независимо ассоциированное с рядом неинфекционных заболеваний, включая ССЗ [144]. Сходные выводы представлены в отечественной литературе:

Зыкова и соавт. (2024) в систематическом обзоре показали, что пародонтит ассоциирован с повышенным риском инфаркта миокарда и инсульта после учета основных смешивающих факторов [25]. Василенко и соавт. (2023) в обзоре обобщили данные о связи воспалительных заболеваний пародонта с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза и артериальной гипертензией [58]. Системное значение пародонтального воспаления подтверждается также изменениями системы гемостаза у пациентов с генерализованным пародонтитом [71]. Рединова и соавт. (2025) в клиническом исследовании определили пародонтит как модификатор течения ССЗ: у пациентов с ИБС и сопутствующим пародонтитом средней и тяжелой степени сывороточный СРБ был в 2,3 раза выше, чем у пациентов с ИБС без пародонтита [49]. Хабжокова и соавт. (2020) систематизировали общие факторы риска пародонтита и ССЗ – курение, сахарный диабет, дислипидемию, что подчеркивает необходимость их учета в аналитических моделях [59]. По данным отдельных клинических исследований, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями отмечается высокая распространенность воспалительных заболеваний пародонта [138]. Галонский и соавт. (2021) подтвердили эту закономерность на отечественной когорте: у 87 % обследованных пациентов с ИБС выявлен пародонтит средней и тяжелой степени [5].

1.2.2. Стоматологический статус пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

У пациентов с сердечно-сосудистой патологией чаще выявляются воспалительные заболевания пародонта, неудовлетворительный уровень гигиены полости рта, симптомы ксеростомии и изменения слизистой оболочки, что может быть связано с общими факторами риска, возрастом, соматической отягощенностью, нарушениями микроциркуляции и длительной медикаментозной терапией [37, 46, 60, 67, 138].

Сычева и соавт. (2023) установили корреляцию между тяжестью пародонтита и степенью стеноза коронарных артерий у пациентов с ишемической болезнью сердца [67]. Пустовойт и соавт. (2024) описали изменения слизистой оболочки полости рта у пациентов с ССЗ, включая десквамативные процессы, петехии и отечность, которые могут быть связаны с нарушением микроциркуляции и особенностями антитромботической терапии [37].

Неудовлетворительное гигиеническое состояние полости рта у пациентов кардиологического профиля может быть связано с сочетанием соматической отягощенности, ксеростомии, снижения скорости слюноотделения и длительной медикаментозной терапии [60, 150, 167]. У пациентов с хронической цереброваскулярной патологией оценивалась эффективность ополаскивателя для полости рта с синбиотическим комплексом [48].

1.3. С-реактивный белок в ротовой жидкости: механизмы, диагностическое значение и влияние пародонтального воспаления

1.3.1. С-реактивный белок – биомаркер системного воспаления

С-реактивный белок (СРБ) относится к пентамерным белкам острой фазы воспаления и образуется преимущественно в гепатоцитах в ответ на действие провоспалительных цитокинов. Наиболее значимым индуктором его синтеза является интерлейкин-6 (ИЛ-6), при участии интерлейкина-1 β и фактора некроза опухоли- α [134]. В клинической практике СРБ является одним из наиболее широко применяемых лабораторных маркеров системного воспаления [98, 171]. Его концентрация в сыворотке крови быстро повышается при воспалительном ответе, а относительно короткий период полувыведения позволяет использовать этот показатель для динамической оценки воспалительной активности [134]. При сердечно-сосудистых заболеваниях повышение уровня СРБ рассматривается как отражение хронического низкоинтенсивного воспаления, участвующего в развитии и прогрессировании атеросклероза. У пациентов с ишемической

болезнью сердца, острым коронарным синдромом и хронической сердечной недостаточностью повышенные концентрации СРБ ассоциированы с неблагоприятным клиническим прогнозом и риском сердечно-сосудистых осложнений [98]. Специфичность сывороточного СРБ низкая: его концентрация повышается также при инфекционных, аутоиммунных и метаболических заболеваниях [134]. Повышение сывороточного СРБ также характерно для воспалительных заболеваний пародонта, что имеет принципиальное значение при его интерпретации у стоматологических пациентов [177].

Для СРБ в ротовой жидкости открыт вопрос, отражает ли он преимущественно системный воспалительный фон или в значительной степени модифицируется локальными воспалительными процессами в полости рта, прежде всего в тканях пародонта.

1.3.2. Источники и механизмы появления С-реактивного белка в ротовой жидкости

СРБ может определяться в ротовой жидкости, однако пути его поступления в эту биологическую среду отличаются от механизмов формирования сывороточной концентрации. Состав ротовой жидкости формируется из нескольких источников и включает секрет больших и малых слюнных желез, десневую жидкость, эпителиальные клетки, лейкоциты, микроорганизмы и компоненты, образующиеся при локальном воспалении [155, 170]. В связи с этим концентрация СРБ в ротовой жидкости может формироваться за счет нескольких взаимосвязанных механизмов.

Одним из возможных путей поступления СРБ плазменного происхождения в ротовую жидкость является десневая жидкость. Она содержит компоненты плазмы крови, а при воспалении тканей пародонта повышение сосудистой проницаемости и увеличение объема десневой жидкости могут усиливать поступление плазменных белков в полость рта. Поэтому при гингивите и

пародонтите вклад этого механизма в формирование концентрации СРБ в смешанной ротовой жидкости может возрасть [82, 114, 181].

Другим возможным механизмом является локальная продукция СРБ в тканях пародонта. В экспериментальных исследованиях была выявлена повышенная экспрессия гена CRP в воспаленной десневой ткани; предполагается, что одним из источников такой экспрессии могут быть эндотелиальные клетки, стимулированные провоспалительными цитокинами, прежде всего интерлейкином-6 [123, 128]. Lu и Jin показали, что десна человека является самостоятельным местом синтеза СРБ [128]. Эти данные позволяют рассматривать локальную продукцию СРБ как один из потенциальных факторов, способных вносить вклад в его концентрацию в ротовой жидкости.

Таким образом, концентрация СРБ в ротовой жидкости может формироваться под совокупным влиянием системного воспалительного фона, поступления белков плазменного происхождения через десневую жидкость и локальных воспалительных процессов в тканях пародонта. Это ограничивает возможность прямой интерпретации СРБ ротовой жидкости как аналога его сывороточной концентрации.

1.3.3. Связь концентраций С-реактивного белка в сыворотке крови и ротовой жидкости

В систематическом обзоре Babaei и соавт. (2022) было показано, что во многих исследованиях между концентрациями СРБ в ротовой жидкости и крови выявлялась положительная связь, однако результаты существенно различались в зависимости от исследуемой популяции и клинического состояния [181]. Авторы рассматривают СРБ ротовой жидкости как перспективный неинвазивный биомаркер, одновременно отмечая неоднородность накопленных данных. Сходные выводы представлены в обзоре Dongiovanni и соавт., где ротовая жидкость рассматривается как перспективная, но методологически сложная диагностическая среда для оценки хронического воспаления [165].

Связь между сывороточным и саливарным СРБ не является постоянной. Wetterö и соавт. (2021) описали выраженную внутрисуточную вариабельность СРБ ротовой жидкости и ограниченную сопоставимость его значений с циркулирующим СРБ [149]. В то же время Shim и соавт. (2025) в поперечном исследовании установили статистически значимую связь между концентрациями СРБ в ротовой жидкости и сыворотке крови, однако отметили возможное влияние на саливарный показатель способа сбора образца, скорости слюноотделения, степени разведения ротовой жидкости и локальных факторов полости рта [135]. Сходный подход к сопоставлению саливарного и системного СРБ применяли Plank и соавт. (2021), определяя системный показатель в высушенных каплях капиллярной крови у здоровых подростков [95].

1.3.4. Вклад пародонтального воспаления в концентрацию С-реактивного белка в ротовой жидкости

Пародонтит является хроническим воспалительным заболеванием, способным влиять как на локальный иммуновоспалительный профиль ротовой жидкости, так и на системный уровень воспалительных маркеров. Морфофункциональные, в том числе микроциркуляторные, нарушения в тканях пародонта выявляются уже при хроническом гингивите [2, 51]. Machado и соавт. (2021) в систематическом обзоре и метаанализе показали, что у пациентов с пародонтитом уровень сывороточного СРБ и высокочувствительного СРБ выше, чем у лиц со здоровым пародонтом; после нехирургического пародонтологического лечения отмечалось снижение уровня высокочувствительного СРБ в динамике наблюдения [177]. Эти данные согласуются с результатами систематического обзора и метаанализа рандомизированных клинических исследований Luthra и соавт. (2023), в котором также было показано снижение сывороточного СРБ после лечения пародонтита [184].

Герасимова и соавт. (2024) также указывают, что нехирургическое лечение пародонтита может сопровождаться снижением сывороточного СРБ в течение нескольких месяцев после терапии [62]. Данные подтверждают системное воспалительное значение пародонтита, однако не позволяют автоматически переносить эффект лечения на концентрацию СРБ в ротовой жидкости. Влияние пародонтологического лечения на СРБ ротовой жидкости требует отдельной оценки в проспективных исследованиях.

Для интерпретации СРБ ротовой жидкости принципиальное значение имеет локальная воспалительная активность тканей пародонта. Кровоточивость при зондировании является клиническим показателем воспаления десневых тканей [183]. При воспалении пародонта повышение сосудистой проницаемости и увеличение экссудации десневой жидкости могут способствовать поступлению белков плазменного происхождения, включая СРБ, в смешанную ротовую жидкость [114, 181].

Полежаева и Дымочка (2025) в обзоре биохимических маркеров пародонтита рассматривали СРБ ротовой жидкости как один из показателей воспалительного процесса [52]. Чибичян и соавт. исследовали диагностическую значимость белков острой фазы воспаления в ротовой жидкости у беременных женщин со стоматологическими заболеваниями [16].

Если СРБ ротовой жидкости рассматривать как изолированный биомаркер системного воспаления и не учитывать состояние тканей пародонта, его клинико-лабораторная интерпретация может оказаться ошибочной.

1.3.5. С-реактивный белок ротовой жидкости при кардиологической патологии

Диагностический потенциал СРБ ротовой жидкости при сердечно-сосудистой патологии рассматривается в современных клинических исследованиях и обзорах. Varma и соавт. (2024) выявили повышение концентрации СРБ в нестимулированной ротовой жидкости у пациентов с

пародонтитом как при отсутствии, так и при наличии острого инфаркта миокарда; наиболее высокие значения были зарегистрированы при сочетании пародонтита и инфаркта миокарда [173]. Полученные данные подтверждают возможность выявления изменений концентрации СРБ ротовой жидкости при сочетании пародонтального и системного воспаления, но одновременно указывают на сложность разграничения системного и пародонтального компонентов его повышения.

В современных обзорах СРБ ротовой жидкости рассматривается как потенциальный неинвазивный биомаркер воспалительной активности при сердечно-сосудистых заболеваниях, однако его клиническая интерпретация требует учета преаналитических факторов и состояния полости рта [165, 171, 181].

Существенным методологическим фактором при исследовании СРБ ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями является состояние тканей пародонта. В ряде исследований пародонтологический статус участников оценивался ограниченно либо не включался в многофакторные статистические модели как потенциальный смешивающий фактор. Это может затруднять интерпретацию полученных результатов, поскольку локальные воспалительные процессы в тканях пародонта способны вносить самостоятельный вклад в концентрацию СРБ ротовой жидкости и тем самым осложнять оценку ее связи с системным уровнем этого белка [171, 181]. Между тем у пациентов кардиологического профиля воспалительные заболевания пародонта встречаются часто [5], а их наличие может существенно влиять на концентрацию СРБ в ротовой жидкости [173, 181].

Бурмистрова и соавт. (2025) в обзорной работе рассматривают воспалительные маркеры слюны, включая СРБ, как потенциально информативные показатели при хронической ИБС [35].

Остается недостаточно изученным вопрос о том, в какой степени СРБ ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями отражает системное воспаление, а в какой – локальное пародонтальное воспаление. Оценка

относительного вклада этих факторов составляет одну из центральных задач настоящего диссертационного исследования.

1.4. МВ-фракция креатинфосфокиназы в ротовой жидкости при сердечно-сосудистых заболеваниях

1.4.1. МВ-фракция креатинфосфокиназы как биомаркер повреждения миокарда

Изофермент МВ креатинфосфокиназы (КФК-МВ) – димерный фермент, локализованный преимущественно в кардиомиоцитах. При некрозе миокарда он высвобождается в кровоток, достигая пика концентрации через 18–24 ч от начала острого инфаркта миокарда с последующей нормализацией на 48–72-й часовой отметке [33]. Традиционно КФК-МВ используется как маркер «второй волны» некроза наряду с тропонином I/T и служит для стратификации пациентов с острым коронарным синдромом [164].

За пределами острого повреждения миокарда клиническое значение КФК-МВ изучено значительно меньше. В проспективном исследовании Wu и соавт. (2020), включавшем 1785 пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца, повышенная концентрация высокочувствительного КФК-МВ была независимо ассоциирована с более высокой общей смертностью в течение 36 месяцев наблюдения. Независимой прогностической ценности этого показателя в отношении отдельных сердечно-сосудистых исходов установлено не было [146].

1.4.2. МВ-фракция креатинфосфокиназы в биологических жидкостях

Обнаружение кардиальных биомаркеров в биологических жидкостях, отличных от крови, открывает новые возможности для неинвазивной диагностики. Чаулин и соавт. (2019) в обзоре клинико-диагностического значения кардиальных маркеров в биологических жидкостях человека описали присутствие

КФК-МВ и тропонинов в моче, ликворе и слюне, указав на необходимость дальнейшего изучения механизмов их поступления в эти среды [33].

Данные о КФК-МВ в ротовой жидкости остаются ограниченными и неоднозначными. Mirzaii-Dizgah и соавт. (2012) при исследовании пациентов с острым инфарктом миокарда выявили повышение КФК-МВ как в нестимулированной слюне, так и в сыворотке крови и описали сильную корреляционную связь между показателями [159]. В то же время Mortazavi и соавт. (2016) не выявили статистически значимых различий активности КФК-МВ в слюне между пациентами с инфарктом миокарда и контрольной группой (24 и 19,5 Ед/л; $p = 0,30$); связь с сывороточным показателем была слабой и статистически незначимой ($p = 0,14$; $p = 0,39$) [168]. Foley и соавт. при исследовании пациентов после септальной алкогольной абляции также не обнаружили корреляции между КФК-МВ в слюне и сыворотке крови [162]. В систематическом обзоре КФК-МВ включается в перечень потенциальных биомаркеров ротовой жидкости при сердечно-сосудистой патологии, однако авторы подчеркивают малое число оригинальных исследований и необходимость дальнейшей клинической валидации [163]. Bahbah и соавт. (2021) также рассматривают КФК-МВ среди потенциальных слювенных маркеров сердечно-сосудистой патологии, однако подчеркивают необходимость дальнейшей оценки их клинической применимости [164].

Особое значение для стоматологической интерпретации слювенной КФК-МВ имеет возможное влияние состояния тканей пародонта. В отдельных исследованиях стоматологический статус учитывался при оценке слювенных кардиомаркеров у пациентов с инфарктом миокарда. Miller и соавт. включали показатели состояния полости рта в сопоставление групп [188]. Однако в кардиологических исследованиях влияние отдельных пародонтологических показателей на концентрацию КФК-МВ в ротовой жидкости специально не анализировалось.

Креатинкиназа также исследовалась в связи с заболеваниями пародонта. Omer и Mahmood (2016) выявили ассоциации активности СК слюны

преимущественно с индексами PLI, GI и кровоточивостью при зондировании [139]. Khalel и соавт. (2025) показали связь креатинкиназы ротовой жидкости с PPD в одной из исследованных групп пациентов с хроническим пародонтитом [107]. Ни в одной из этих работ не проводилось парное сопоставление КФК-МВ ротовой жидкости и сыворотки крови с одновременной оценкой индекса кровоточивости при зондировании (BOR), глубины зондирования пародонтальных карманов (PPD) и уровня клинического прикрепления (CAL).

Интерпретация КФК-МВ в ротовой жидкости требует учета системного и стоматологического контекста. В связи с этим представляет интерес сопоставление ее концентрации в ротовой жидкости и сыворотке крови с пародонтологическими показателями PPD, CAL и BOR.

1.4.3. Механизмы поступления МВ-фракции креатинфосфокиназы в ротовую жидкость

Механизм поступления КФК-МВ в смешанную ротовую жидкость остается недостаточно изученным. Прямые экспериментальные данные, позволяющие установить вклад секреции слюнных желез, транспорта из системного кровотока через сосудисто-эпителиальные барьеры, десневой жидкости или локальных тканей полости рта, в настоящее время ограничены. Большинство опубликованных исследований было направлено преимущественно на оценку диагностической информативности КФК-МВ ротовой жидкости, а не на изучение механизмов ее поступления [164, 168, 188].

КФК-МВ представляет собой гетеродимер субъединиц М (43 кДа) и В (43–44 кДа) с суммарной молекулярной массой около 86–87 кДа [127, 151]. Проникновение крупных белковых молекул через гематосаливарный барьер в норме ограничено, однако при системном или локальном воспалении проницаемость сосудисто-эпителиальных барьеров может повышаться, способствуя поступлению белков плазменного происхождения в смешанную ротовую жидкость [13, 165, 171].

В опубликованных исследованиях по слюварным кардиомаркерам основное внимание уделялось оценке их диагностической информативности при остром инфаркте миокарда [163, 164, 188]. Между тем пародонтальное воспаление и связанные с ним изменения состава десневой жидкости могут оказывать влияние на содержание белковых аналитов в смешанной ротовой жидкости [160, 181]. Данные об одновременном сопоставлении массовой концентрации КФК-МВ в ротовой жидкости с ее концентрацией в сыворотке крови и клиническими показателями состояния тканей пародонта у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями остаются ограниченными.

Несмотря на возможность определения КФК-МВ в ротовой жидкости, происхождение фермента в данном биоматериале и характер его связи с сывороточным уровнем изучены недостаточно. Поэтому оценка диагностического потенциала КФК-МВ ротовой жидкости требует дальнейшего изучения с одновременным определением биомаркера в ротовой жидкости и сыворотке крови.

1.5. Биомаркеры ротовой жидкости при воспалительной патологии пародонта

1.5.1. Провоспалительные цитокины в ротовой жидкости при заболеваниях пародонта

Воспалительные заболевания пародонта сопровождаются изменением содержания провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости. Анализ ротовой жидкости рассматривается как перспективный неинвазивный подход к оценке активности воспаления при пародонтите, в том числе на основании определения провоспалительных цитокинов [54]. Янушевич и соавт. (2023) описали повышение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом [31]. Долгалева и соавт. (2023) показали диагностическую значимость определения ИЛ-6 и ИЛ-1 β в ротовой жидкости при

воспалительных заболеваниях пародонта [12]. В последующем авторы проследили динамику концентрации цитокинов в смешанной слюне у пациентов с хроническим пародонтитом легкой степени в сочетании с периимплантитом [19]. Базарный и соавт. (2021) показали клиническую информативность хемокинов ротовой жидкости при хроническом пародонтите [36] и рассматривали саливарные факторы роста β -NGF, EGF и VEGF-A как потенциальные биомаркеры заболевания [55]. Успенская и соавт. (2021) описали динамику маркеров перекисного окисления липидов в ротовой жидкости при хроническом пародонтите [68]. Зуб и соавт. (2022) исследовали диагностический потенциал сочетанного определения ИЛ-1 β , ИЛ-6 и СРБ в ротовой жидкости при пародонтите [7]. Та же группа авторов оценила прогностическую значимость определения супероксиддисмутазы и каталазы в десневой жидкости для диагностики риска развития хронического пародонтита [24].

Relvas и соавт. (2024) при обследовании 68 участников с использованием современной классификации заболеваний пародонта выявили повышение концентраций ИЛ-1 β и ИЛ-6 по мере увеличения тяжести заболевания. Уровни обоих цитокинов положительно коррелировали с клиническими показателями состояния пародонта, включая индекс налета, индекс BOP, PPD и CAL. При этом статистически значимые различия были связаны со стадией (stage) заболевания по классификации Европейской федерации пародонтологии (EFP) и Американской академии пародонтологии (AAP) 2018 года, тогда как связи с темпом прогрессирования (grade) выявлено не было [172].

Teles и соавт. (2024) в продольном исследовании показали, что у пациентов с более выраженным прогрессированием пародонтита определялись более высокие уровни ИЛ-1 β и ИЛ-6 в ротовой жидкости. После завершения периода наблюдения и проведения нехирургического пародонтологического лечения через 6 месяцев наряду с клиническим улучшением отмечалось статистически значимое снижение концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ряда других воспалительных медиаторов [160].

Диагностическая информативность слюварных цитокинов оценивалась и на метааналитическом уровне. Arias-Bujanda и соавт. (2020) смогли выполнить метаанализ для 5 из 32 исследованных молекулярных маркеров; чувствительность ИЛ-1 β для выявления пародонтита составила 78,7 %, ИЛ-6 – 72,0 % [78]. По данным Blanco-Pintos и соавт. (2023), сочетанное определение ИЛ-1 β и ИЛ-6 характеризовалось медианными чувствительностью и специфичностью 83,0 и 83,7 % соответственно. Добавление дополнительных маркеров не сопровождалось последовательным повышением диагностической точности [77]. Оба метаанализа были ориентированы на системно здоровых лиц, поэтому полученные показатели диагностической точности не следует непосредственно экстраполировать на пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

1.5.2. Матриксная металлопротеиназа-8 как биомаркер деструкции тканей пародонта

Матриксная металлопротеиназа-8 относится к протеолитическим ферментам, участвующим в деградации коллагена внеклеточного матрикса тканей пародонта. Особый диагностический интерес представляет активная матриксная металлопротеиназа-8 (aММП-8), концентрация которой связывается с текущей коллагенолитической активностью и деструктивными изменениями в тканях пародонта [79].

Базарный и соавт. (2020) показали связь активности ММП-8 в ротовой жидкости с глубиной зондирования пародонтальных карманов и кровоточивостью при зондировании [34]. В исследовании Lira-Junior и соавт. (2021) уровни ММП-8 в нестимулированной ротовой жидкости были выше у пациентов с гингивитом и пародонтитом по сравнению с лицами со здоровым пародонтом. После нехирургического пародонтологического лечения концентрация ММП-8 статистически значимо снижалась уже через один месяц, что указывает на чувствительность данного показателя к изменению воспалительной активности тканей пародонта [126].

Связь аММП-8 с современной классификацией пародонтита изучали Sorsa и соавт. (2020) у 150 взрослых пациентов. Концентрация аММП-8 в образцах после полоскания полости рта была значимо ниже у лиц со здоровым пародонтом, чем у пациентов с более высокими стадиями (stage) и степенями прогрессирования (grade) по классификации EFP/AAP 2018 года. При этом уровень аММП-8 сильнее коррелировал с индексом BOP (коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ) = 0,586), чем с индексом зубного налета (ρ = 0,269), что представляет интерес при оценке именно воспалительной активности процесса [79].

Возможность применения аММП-8 в качестве самостоятельного диагностического теста, однако, остается ограниченной. В систематическом обзоре и метаанализе Wei и соавт. (2024), включившем шесть исследований диагностической точности, объединенная чувствительность аММП-8 point-of-care тестов для выявления пародонтита составила 0,63, специфичность – 0,84. Авторы охарактеризовали диагностическую точность как умеренную и указали на необходимость дальнейшей клинической валидации теста [104].

1.5.3. Биохимические и иммунологические показатели ротовой жидкости при заболеваниях пародонта

Наряду с провоспалительными цитокинами и матриксными металлопротеиназами при заболеваниях пародонта исследуются ферментативные, метаболические и иммунологические показатели ротовой жидкости. Игидбашян и соавт. (2024) изучали динамику активности щелочной фосфатазы ротовой жидкости при лечении пациентов с хроническим генерализованным гингивитом [26]. Губанова (2024) в обзоре лабораторных методов диагностики заболеваний пародонта также рассматривает ферментативные, иммунологические и другие биохимические показатели ротовой жидкости как потенциальные дополнительные характеристики состояния тканей пародонта [14].

В обзорной работе Кисельникова и соавт. (2022) обобщили данные об изменениях факторов местной иммунной защиты при заболеваниях пародонта, включая показатели секреторного IgA, лизоцима и цитокинового профиля [32].

Значительное внимание уделяется показателям оксидативного стресса. В систематическом обзоре и метаанализе Chen и соавт. (2019), включавшем 32 исследования, у пациентов с хроническим пародонтитом в ротовой жидкости выявлены снижение общей антиоксидантной способности и повышение содержания малонового диальдегида, оксида азота, общего оксидантного статуса и 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина. Вместе с тем авторы отметили выраженную гетерогенность включенных исследований [142].

Данные о динамике антиоксидантных показателей после пародонтологического лечения неоднозначны. Sayar и соавт. (2019) у 43 пациентов с генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени выявили повышение антиоксидантной способности ротовой жидкости через 4 недели после нехирургического лечения, которое сопровождалось уменьшением индекса BOP, PPD и CAL [176]. В то же время Nisha и соавт. (2022) при сравнении 35 пациентов с хроническим пародонтитом и 35 лиц со здоровым пародонтом установили более низкую общую антиоксидантную способность ротовой жидкости при пародонтите, однако через 3 и 6 месяцев после нехирургического лечения, несмотря на улучшение клинических показателей, статистически значимой динамики этого показателя не выявили [152].

К перспективным показателям врожденного иммунного ответа относят белки семейства S100. Kim и соавт. (2021) исследовали S100A8 и S100A9 в ротовой жидкости, крови и десневой жидкости у 149 взрослых. Концентрация S100A8 в ротовой жидкости была выше у пациентов с пародонтитом II–IV стадий по сравнению с лицами без пародонтита или с пародонтитом I стадии. При ROC-анализе с-статистика саливарного S100A8 для выявления пародонтита II–IV стадий составила 0,75 [153].

Современные протеомные исследования расширяют спектр потенциальных саливарных показателей пародонтита. В систематическом обзоре Sorana и соавт.

(2025), включившем 13 протеомных исследований, при пародонтите наиболее последовательно выявлялось повышение содержания компонента С3, профилина-1, S100A8 и фибриногена, тогда как цистатин-SN и ингибитор лейкоцитарной эластазы чаще определялись в более высоких концентрациях у лиц со здоровым пародонтом. Для S100A8 в метаанализе площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,71 (95 % ДИ 0,66–0,75). Авторы отмечают значительную методологическую неоднородность протеомных исследований, что ограничивает непосредственное внедрение отдельных кандидатов в клиническую диагностику [174].

Перечисленные показатели характеризуют преимущественно локальные воспалительные, иммунные и деструктивные процессы в тканях пародонта. В отличие от них СРБ имеет установленное значение как маркер системного воспаления, в том числе в контексте сердечно-сосудистой патологии, а КФК-МВ используется как биохимический показатель повреждения миокарда. Это определяет интерес к сопоставлению их содержания в ротовой жидкости с концентрациями в сыворотке крови. Вместе с тем пародонтальное воспаление способно существенно изменять профиль биомаркеров ротовой жидкости, что необходимо учитывать при интерпретации показателей системного происхождения. Исследования, в которых КФК-МВ ротовой жидкости одновременно оценивали с маркерами пародонтальной деструкции при стандартизированном клиническом обследовании пародонта, в ходе проведенного анализа литературы обнаружены не были.

1.6. Влияние сердечно-сосудистых заболеваний и медикаментозной терапии на параметры ротовой жидкости

1.6.1. Скорость слюноотделения и ксеростомия при сердечно-сосудистых заболеваниях

Нарушение секреторной функции слюнных желез представляет клинически значимую стоматологическую проблему у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, особенно на фоне длительной медикаментозной терапии и полипрагмазии. Гипосаливация представляет собой объективное снижение секреторной функции слюнных желез, тогда как ксеростомия определяется как субъективное ощущение сухости в полости рта. Эти состояния часто сочетаются, однако не являются полностью эквивалентными [195].

Снижение слюноотделения имеет существенное значение для стоматологического здоровья, поскольку сопровождается ослаблением защитной, очищающей и реминерализующей функций слюны и может способствовать развитию кариеса, воспалительных заболеваний тканей пародонта и поражений слизистой оболочки полости рта [40]. Музюкин и соавт. (2025) показали, что при ксеростомии на фоне общесоматических патологий частота кандидоза слизистой оболочки полости рта достигает 42 %, а травматических эрозий – 28 % [4]. Григорьев и соавт. (2024) показали изменения физико-химических свойств ротовой жидкости у пациентов с первичным гипотиреозом, включая снижение ее вязкости и буферной емкости [10]. Щербакова и соавт. (2026) описали этиопатогенетические особенности ксеростомического синдрома у подростков с сахарным диабетом 1-го типа в зависимости от уровня метаболического контроля [76]. Пустовойт и соавт. (2024) описали десквамативные процессы и петехии слизистой оболочки рта у пациентов с ССЗ [37].

Связь ксеростомии с хронической патологией и медикаментозной нагрузкой подтверждается современными эпидемиологическими данными. Fornari и соавт. (2021) в исследовании лиц старшего возраста показали ассоциацию ксеростомии с

наличием хронических заболеваний и постоянным приемом лекарственных препаратов [147]. Rughwani и соавт. (2025) установили, что у лиц старше 71 года, принимающих пять и более лекарственных препаратов, вероятность диагностированной ксеростомии была существенно выше по сравнению с лицами без медикаментозной нагрузки [195]. Branco и соавт. (2024) у пожилых пациентов выявили более низкую скорость нестимулированного слюноотделения при артериальной гипертензии и полипатологии в однофакторном анализе; вместе с тем после многофакторной коррекции независимых ассоциаций между изученными системными и медикаментозными факторами и параметрами слюны установлено не было [167].

1.6.2. Влияние медикаментозной терапии сердечно-сосудистых заболеваний на секрецию слюны

Патогенез гипосаливации у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями многофакторный; существенную роль могут играть длительная медикаментозная терапия и полипрагмазия. Секреция слюны регулируется нейрональными механизмами с участием различных нейромедиаторов и рецепторов, что создает физиологическую основу для влияния лекарственных препаратов на секреторную функцию слюнных желез [148]. В одномоментном исследовании 221 пациента с артериальной гипертензией ксеростомию отмечали 51,1 % обследованных, а снижение нестимулированного слюноотделения – 37,6 % [150]. Систематический обзор не подтвердил однозначного увеличения частоты ксеростомии на фоне антигипертензивной терапии, однако в исследованиях типа случай–контроль скорость слюноотделения у таких пациентов чаще была снижена [194]:

– β -адреноблокаторы – могут влиять преимущественно на белковый компонент секрета: в клиническом наблюдении их назначение сопровождалось уменьшением вязкости слюны [192];

– ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и другие антигипертензивные препараты в отдельных исследованиях ассоциированы со снижением скорости слюноотделения и симптомами сухости в полости рта; вместе с тем имеющиеся данные неоднородны [194];

– диуретики, включая тиазидные, – могут способствовать уменьшению слюноотделения, в том числе вследствие изменения водно-электролитного баланса [91];

– блокаторы кальциевых каналов – также рассматриваются среди препаратов, потенциально способных влиять на секреторную функцию слюнных желез [129];

– статины – в отдельных исследованиях и обзорах описывались в связи с ксеростомией и другими нежелательными явлениями со стороны полости рта [90];

– некоторые антиаритмические препараты, в частности дизопирамид, могут вызывать выраженную сухость в полости рта вследствие антихолинергического действия [83].

Клиническое значение суммарной медикаментозной нагрузки подтверждается исследованием Ito и соавт. (2023), посвященным пациентам с лекарственно-индуцированной ксеростомией. Авторы показали, что данное состояние часто наблюдается на фоне одновременного приема нескольких лекарственных средств, включая препараты с потенциальным ксерогенным действием [90].

При этом выраженность нарушений слюноотделения может зависеть не только от конкретного препарата, но и от суммарной медикаментозной нагрузки, возраста и сопутствующей патологии. В связи с этим полипрагмазию следует рассматривать как один из потенциальных факторов риска ксеростомии и снижения слюноотделения у пациентов кардиологического профиля [121].

1.6.3. Влияние вредных привычек на параметры ротовой жидкости

Курение и употребление алкоголя относятся к поведенческим факторам, способным оказывать влияние как на состояние тканей пародонта, так и на характеристики РЖ. По данным систематического обзора Zięba и соавт. (2024), курение ассоциировано с количественными и качественными изменениями ротовой жидкости, включая изменения скорости слюноотделения, pH, воспалительных показателей и состава микробиоты [88]. Noh и соавт. (2022) также показали различия ряда саливарных биомаркеров пародонтального воспаления в зависимости от статуса курения [109].

Хроническое употребление алкоголя также ассоциировано с неблагоприятными изменениями состояния полости рта и тканей пародонта и может сопровождаться нарушением секреторной функции слюнных желез [140].

1.6.4. Влияние скорости слюноотделения на измеряемую концентрацию биомаркеров

Скорость слюноотделения является одним из преаналитических факторов, способных влиять на измеряемую концентрацию компонентов ротовой жидкости. Изменение объема жидкой фазы может приводить к эффекту разведения или концентрирования отдельных аналитов, однако выраженность данного эффекта зависит от природы биомаркера, механизма его поступления в ротовую жидкость и условий сбора образца [86, 179]. В связи с этим скорость слюноотделения целесообразно учитывать при сопоставлении концентраций белковых биомаркеров между клиническими группами.

Среди рассматриваемых биомаркеров наиболее подробно изучен СРБ ротовой жидкости, однако его клинико-лабораторная интерпретация у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями требует учета состояния тканей пародонта. В то же время диагностическая применимость КФК-МВ ротовой

жидкости и степень соответствия ее концентрации сывороточному уровню остаются недостаточно изученными.

Несмотря на активное изучение ротовой жидкости как неинвазивной диагностической среды при сердечно-сосудистых заболеваниях, большинство опубликованных работ посвящено отдельным биомаркерам или ограниченным панелям показателей без полноценного учета стоматологического статуса пациента. Для СРБ, КФК-МВ, тропонина I и миоглобина описана потенциальная диагностическая значимость в отношении сердечно-сосудистой патологии, однако авторы обзоров подчеркивают неоднородность имеющихся данных и необходимость дальнейшей клинической валидации [164]. В литературе недостаточно представлены исследования, в которых концентрации СРБ и КФК-МВ одновременно определяли в ротовой жидкости и крови у пациентов с ССЗ при параллельной оценке пародонтологического статуса, скорости нестимулированного слюноотделения, медикаментозной терапии и курения [163, 181].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что ротовая жидкость представляет собой перспективную, но методологически сложную диагностическую среду, а измеряемые концентрации белковых биомаркеров могут зависеть как от системных патологических процессов, так и от состояния тканей пародонта, скорости слюноотделения, медикаментозной терапии и условий преаналитического этапа. Проведенный анализ литературы показывает, что диагностическая интерпретация СРБ и КФК-МВ в ротовой жидкости требует одновременного учета системных показателей, состояния тканей пародонта и условий преаналитического этапа. Недостаточная изученность этих взаимосвязей определяет необходимость дальнейшего комплексного исследования указанных биомаркеров.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн и основные этапы исследования

Исследование выполнено в Институте стоматологии имени Е.В. Боровского, Научно-практическом центре интервенционной кардиоангиологии и Биобанке Сеченовского Университета.

Исследование носило многоэтапный клинико-лабораторный характер и включало пилотный методический этап и основной клинико-лабораторный этап. Основной клинико-лабораторный этап имел поперечный обсервационный дизайн; клинические данные и биологические образцы собирали проспективно в соответствии с единым протоколом. Принадлежность участников к клиническим группам определяли по наличию сердечно-сосудистой патологии и пародонтита. Изменение лечения в рамках исследовательского протокола не предусматривалось.

В Институте стоматологии имени Е.В. Боровского проводили стоматологическое обследование участников, анкетирование и сбор ротовой жидкости. В Научно-практическом центре интервенционной кардиоангиологии осуществляли обследование пациентов кардиологического профиля, верификацию сердечно-сосудистых заболеваний, регистрацию клинико-анамнестических данных и получение биологических образцов. В Биобанке Сеченовского Университета выполняли преаналитическую обработку и хранение биоматериала, а также лабораторные исследования.

Локальный этический Комитет Сеченовского Университета одобрил проведение исследования, что отражено в протоколе № 23-23 от 01.12.2023 г. Обязательным условием участия являлось предварительное оформление добровольного информированного согласия.

На первом, методическом этапе проводили внутрисубъектное сравнение четырех способов получения ротовой жидкости у пациентов с подтвержденной ишемической болезнью сердца. Исследовали преаналитические характеристики

образцов, показатели практической выполнимости и результаты определения СРБ и КФК-МВ при каждом способе получения материала.

Второй, основной клинико-лабораторный этап включал стоматологическое обследование, анкетирование, стандартизированный сбор нестимулированной ротовой жидкости, определение скорости нестимулированного слюноотделения и лабораторное исследование биомаркеров.

В рамках основного этапа проводили сравнение стоматологических и клинико-анамнестических показателей пациентов с ССЗ и участников контрольной группы; исследование СРБ в парных образцах ротовой жидкости и сыворотки крови; исследование КФК-МВ в ротовой жидкости и сыворотке крови с оценкой ассоциаций ее концентрации с клиническими показателями состояния тканей пародонта; четырехгрупповое сопоставление показателей при различном сочетании ИБС и хронического пародонтита. Для последнего анализа дополнительно привлекали пациентов с хроническим пародонтитом без ССЗ. Аналитические подвыборки формировали независимо для каждого исследовательского блока с учетом клинических характеристик, наличия необходимых биологических образцов и объема выполненного обследования; они не являлись последовательными ступенями отбора одного и того же состава участников.

Для основного клинико-лабораторного этапа был оценен 391 кандидат. После применения критериев отбора итоговая клиническая совокупность исследования составила 339 участников: 219 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, 100 участников контрольной группы и 20 пациентов с пародонтитом без сердечно-сосудистых заболеваний. Сравнительная клиническая выборка пациентов с ССЗ и контрольной группы включала 319 участников [11]. Методический этап был выполнен на отдельной выборке из 21 пациента с ИБС. Общая структура исследования представлена на Рисунке 2.1.

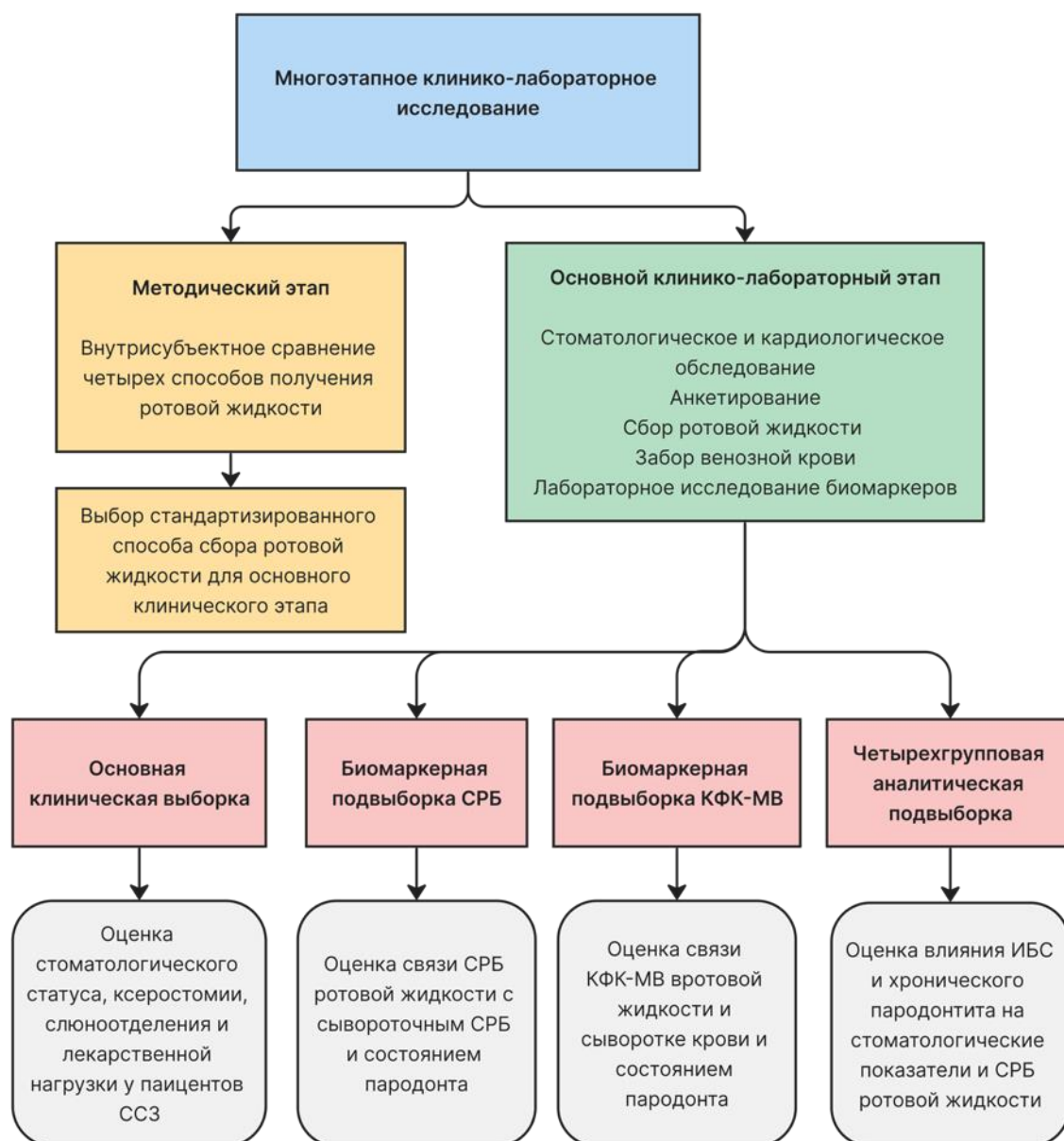


Рисунок 2.1 – Схема исследования

2.2. Критерии отбора участников

Критерии участия определяли отдельно для группы пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, контрольной группы и группы пациентов с хроническим пародонтитом без сердечно-сосудистых заболеваний.

Группа пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Набор пациентов проводили среди лиц, госпитализированных в Научно-практический центр интервенционной кардиоангиологии Сеченовского

Университета. Потенциальных участников оценивали на соответствие установленным критериям участия в исследовании.

Критерии включения:

- возраст 25 лет и старше;
- наличие подтвержденного сердечно-сосудистого заболевания;
- стабильное клиническое состояние на момент получения биологического материала, не требующее оказания неотложной медицинской помощи;
- подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Кардиологический диагноз подтверждался врачом-кардиологом на основании данных клинического обследования и медицинской документации.

Контрольная группа

Критерии включения:

- возраст 25 лет и старше;
- отсутствие хронических системных заболеваний по данным анамнеза и клинического обследования;
- подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Дополнительные критерии для четырехгрупповой аналитической подвыборки. Для формирования четырехгрупповой аналитической подвыборки применяли дополнительные критерии. В группы с ИБС включали пациентов со стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса и/или инфарктом миокарда, перенесенным более 6 месяцев назад. Диагноз ИБС подтверждался данными коронарографии или КТ-ангиографии; продолжительность стабильной медикаментозной терапии до включения в анализ составляла не менее 3 месяцев [73]. В данную аналитическую подвыборку не включали пациентов с декомпенсированным сахарным диабетом ($HbA1c > 9\%$), хронической сердечной недостаточностью III–IV

функционального класса по NYHA и хронической болезнью почек III стадии и выше.

Группа пациентов с хроническим пародонтитом без сердечно-сосудистых заболеваний

Критерии включения:

- возраст 40 лет и старше;
- наличие хронического пародонтита;
- отсутствие подтвержденных сердечно-сосудистых заболеваний по данным анамнеза и медицинской документации;
- подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Диагноз хронического пародонтита в рамках исследования устанавливали с учетом клинических рекомендаций Стоматологической ассоциации России (СтАР) [74].

Общими критериями невключения в исследование являлись:

- отказ от участия в исследовании;
- злокачественные новообразования любой локализации в анамнезе;
- проведение лучевой или химиотерапии в течение 6 месяцев, предшествовавших предполагаемому включению в исследование;
- беременность и период лактации;
- острые респираторные инфекции на момент скрининга;
- гемоконтактные инфекции: ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты В и С, сифилис.

Критериями исключения после включения в исследование являлись:

- нарушение протокола подготовки к сбору ротовой жидкости;
- развитие острого ухудшения клинического состояния, требующего оказания неотложной медицинской помощи, в день получения биологического материала.

2.3. Методический этап стандартизации способа получения ротовой жидкости

2.3.1. Дизайн методического этапа

Методический этап представлял собой внутрисубъектное исследование, направленное на сравнительную оценку способов получения ротовой жидкости у пациентов с подтвержденной ишемической болезнью сердца. Исследование проводили до начала основного клинико-лабораторного этапа.

У каждого участника в рамках одного утреннего визита последовательно получали образцы ротовой жидкости четырьмя способами. Благодаря внутрисубъектному дизайну каждый пациент служил собственным контролем, что позволяло сопоставлять преаналитические характеристики и результаты лабораторного определения биомаркеров при различных способах получения образца при минимизации межиндивидуальной биологической вариабельности.

Подготовку участников к получению ротовой жидкости проводили в стандартизированных условиях. Последовательность трех способов получения нестимулированной ротовой жидкости определяли индивидуально методом простой рандомизации. Получение стимулированной ротовой жидкости во всех случаях выполняли последним, чтобы исключить влияние предшествующей стимуляции слюнных желез на последующие нестимулированные образцы. Между последовательными процедурами выдерживали интервал покоя не менее 5 минут.

После завершения каждого способа получения ротовой жидкости оценивали его практическую выполнимость. Участник оценивал субъективную трудность получения ротовой жидкости по трехбалльной порядковой шкале: 1 балл – существенных затруднений не возникало; 2 балла – выполнение сопровождалось умеренными затруднениями; 3 балла – выполнение было затруднено. Дополнительно регистрировали необходимость дополнительного

разъяснения инструкции и попадание части ротовой жидкости за пределы пробирки.

2.3.2. Исследуемые способы получения ротовой жидкости

В рамках методического этапа сравнивали четыре способа получения ротовой жидкости.

Пассивное слюноотечение. Участник сидел с наклоном головы вперед. Ротовая жидкость свободно стекала в стерильную градуированную пробирку; активное сплевывание и произвольные движения языком не допускались.

Метод сплевывания. Участник накапливал ротовую жидкость в полости рта и с заданным интервалом (каждые 60 секунд) сплевывал ее в стерильную градуированную пробирку. Процедуру повторяли на протяжении всего периода сбора.

Абсорбционный метод. Стерильный ватный валик (длина 38 мм, диаметр 10 мм, масса $0,35 \pm 0,05$ г; Clean+Safe, Малайзия) помещали в подъязычную область; поглощенный объем рассчитывали по разности масс валика до и после сбора (1 г принимали за 1 мл), жидкую фракцию извлекали центрифугированием.

Метод сбора стимулированной ротовой жидкости. Для стимуляции слюноотделения участник жевал пластинку парафина класса П-2 (ГОСТ 23683-89) массой 1,0 г с частотой одно движение в секунду и каждые 30 секунд сплевывал накопившуюся жидкость в пробирку.

Продолжительность получения образца каждым из четырех способов составляла 5 минут. Образцы представлены на Рисунке 2.2.

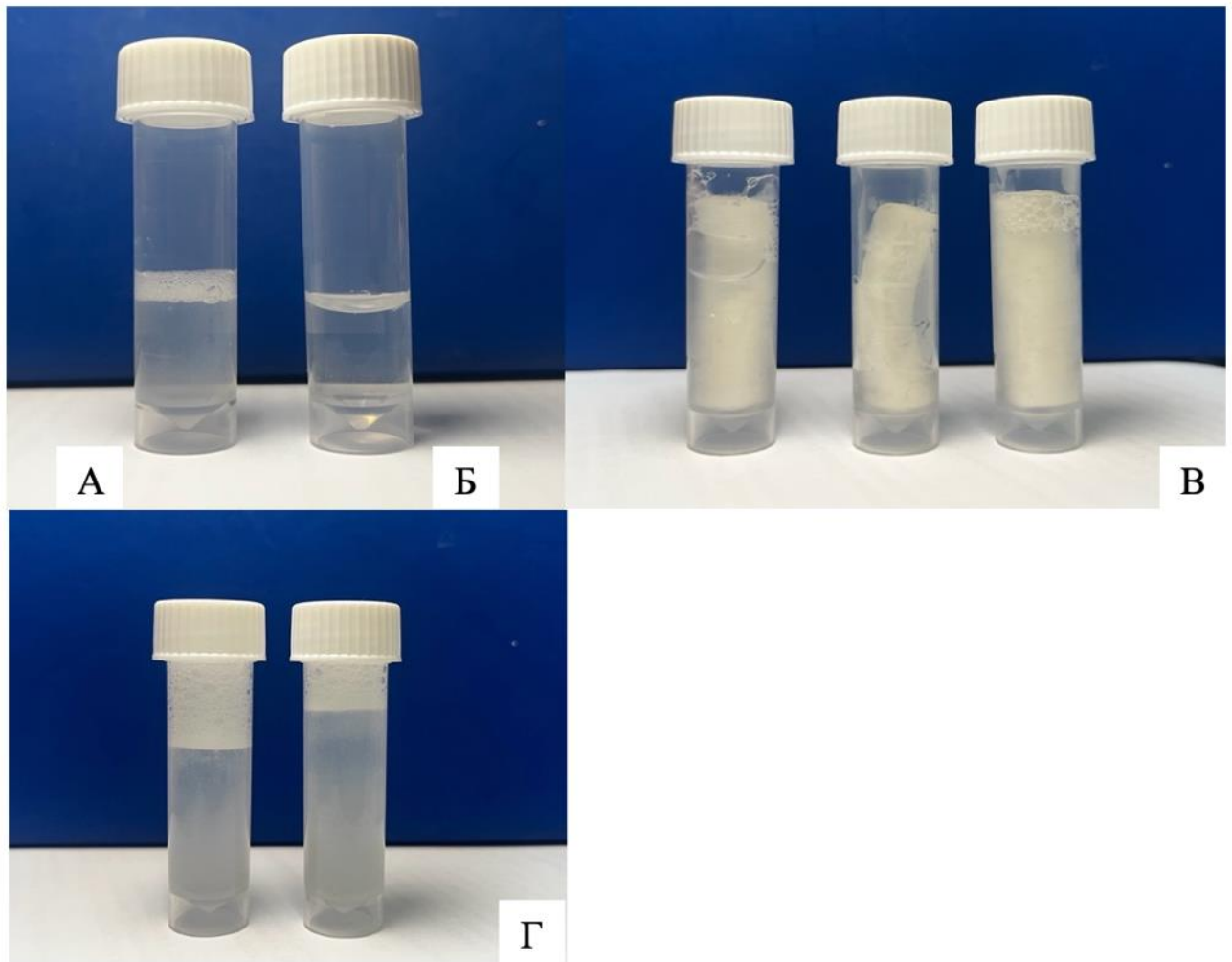


Рисунок 2.2 – Образцы ротовой жидкости, полученные различными способами: А – методом пассивного слюноотечения; Б – методом сплевывания; В – абсорбционным методом; Г – после стимуляции слюноотделения парафином

Для пассивного слюноотечения и метода сплевывания объем полученной ротовой жидкости определяли по градуировке пробирки, а скорость нестимулированного слюноотделения рассчитывали как отношение полученного объема к продолжительности сбора. При абсорбционном методе количество поглощенной ротовой жидкости определяли по разности массы ватного валика до и после сбора, принимая увеличение массы на 1 г за 1 мл жидкости. Расчетную скорость получения ротовой жидкости абсорбционным методом определяли как отношение поглощенного объема к продолжительности сбора. Объем жидкой фракции, извлеченной из валика после центрифугирования и доступной для лабораторного исследования, регистрировали отдельно. При механической стимуляции парафином скорость стимулированного слюноотделения

рассчитывали как отношение объема ротовой жидкости, полученного за 5 минут жевания парафина, к продолжительности сбора.

2.3.3. Исследуемые показатели и критерии сравнительной оценки способов получения ротовой жидкости

Сравнительную оценку способов получения ротовой жидкости проводили по совокупности преаналитических и аналитических характеристик, а также показателей практической выполнимости.

К преаналитическим характеристикам относили объем полученного образца, объем жидкой фракции, доступной после первичной обработки для лабораторного исследования, наличие видимой примеси крови, выраженного пенообразования и неоднородности. Для каждого способа получения ротовой жидкости дополнительно рассчитывали скорость слюноотделения.

Аналитическую пригодность полученных образцов оценивали по достаточности объема материала для лабораторного исследования, возможности количественного определения СРБ и КФК-МВ и сопоставимости результатов определения концентраций биомаркеров при различных способах получения ротовой жидкости.

Практическую выполнимость способов получения ротовой жидкости оценивали по субъективной трудности процедуры, необходимости дополнительного разъяснения инструкции и попаданию части ротовой жидкости за пределы пробирки.

В качестве референтного способа при методическом сравнении использовали пассивное слюноотечение – стандартизированный способ получения ротовой жидкости. Выбор референтного способа основывали на данных литературы о его применении при исследовании слюварных воспалительных биомаркеров и необходимости учета способа получения при количественном определении аналитов [156, 179].

Выбор способа получения ротовой жидкости для последующего клинико-лабораторного этапа осуществляли с учетом совокупности преаналитических характеристик, аналитической пригодности образцов и практической выполнимости метода у пациентов кардиологического профиля.

2.3.4. Обоснование объема выборки и статистический анализ методического этапа

Минимально необходимый объем выборки методического этапа определяли с учетом внутрисубъектного дизайна исследования, предусматривавшего четыре повторных условия у одних и тех же участников. Для предварительного определения объема выборки использовали модель дисперсионного анализа с повторными измерениями как параметрическое приближение. При расчете принимали уровень статистической значимости $\alpha = 0,05$, статистическую мощность $1 - \beta = 0,80$, стандартизованный размер эффекта f Коэна = 0,40 и предполагаемую корреляцию между повторными измерениями $\rho = 0,50$. Расчет выполняли при допущении сферичности повторных измерений ($\epsilon = 1,0$). При указанных параметрах минимально необходимый объем выборки составил 10 участников.

С учетом пилотного характера исследования и возможности аналитической непригодности отдельных образцов при планировании предусматривали увеличение объема выборки относительно расчетного минимума.

Статистический анализ проводили с учетом внутрисубъектного дизайна исследования. Единицей независимого наблюдения являлся участник, у которого последовательно получали ротовую жидкость четырьмя исследуемыми способами. Технические повторы лабораторных измерений не рассматривали как самостоятельные наблюдения.

Количественные показатели при четырех способах получения ротовой жидкости сравнивали с использованием критерия Фридмана. При выявлении статистически значимых различий выполняли попарные сравнения

с использованием критерия Уилкоксона для связанных выборок с поправкой Холма на множественные сравнения.

Субъективную трудность выполнения процедуры сравнивали между четырьмя способами с использованием критерия Фридмана; при статистически значимом общем результате выполняли попарные сравнения критерием Уилкоксона с поправкой Холма. Связанные бинарные показатели практической выполнимости сравнивали с использованием Q-критерия Кохрена; при статистически значимом общем результате выполняли попарные сравнения точным критерием Мак-Немара с поправкой Холма. Связь субъективной трудности выполнения процедуры со скоростью получения ротовой жидкости оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Частоту результатов определения КФК-МВ ниже заявленного производителем предела обнаружения при четырех способах получения ротовой жидкости сравнивали с использованием Q-критерия Кохрена; при статистически значимом общем результате выполняли попарные сравнения точным критерием Мак-Немара с поправкой Холма.

2.4. Основной клинико-лабораторный этап исследования: биомаркеры ротовой жидкости с учетом местных и системных факторов

2.4.1. Сбор анамнестических данных и данных о системном состоянии здоровья

Для каждого участника заполняли унифицированную регистрационную анкету на основании опроса и данных медицинской документации. Регистрировали демографические данные, сведения о сопутствующих заболеваниях, стоматологические жалобы и поведенческие факторы. Отдельно учитывали жалобы на сухость во рту и кровоточивость десен.

Субъективное ощущение сухости во рту (ксеростомию) оценивали отдельно от объективных показателей секреторной функции слюнных желез. Наличие

и выраженность ксеростомии определяли с помощью анкеты-самопросника Xerostomia Inventory (XI), представленной в Приложении Г5 клинических рекомендаций «Стоматит и родственные поражения» Стоматологической Ассоциации России (СтАР) [66, 182]. Santiago P.H.R. и соавт. (2020) подтвердили конструктивную валидность XI и показали целесообразность трехкатегориального формата ответов для оценки выраженности ксеростомии [102].

Анкета включала 11 утверждений, каждое из которых пациент оценивал по трехуровневой шкале: «никогда» – 1 балл, «периодически» – 2 балла, «часто» – 3 балла. Суммарный показатель XI рассчитывали путем сложения баллов по 11 пунктам. В соответствии с критериями, приведенными в клинических рекомендациях СтАР, 11 баллов соответствовали отсутствию ксеростомии, 12–18 баллов – легкой ксеростомии, 19–28 баллов – умеренной, 29–33 балла – выраженной ксеростомии.

Жалобы на кровоточивость десен регистрировали как субъективный анамнестический признак и не отождествляли с инструментально определяемым индексом кровоточивости при зондировании.

Статус курения и употребление алкоголя регистрировали по данным опроса. Курение учитывали как потенциальный смешивающий фактор; в отдельных многофакторных моделях использовали дихотомический признак наличия курения в анамнезе («когда-либо» / «никогда»). Сведения об употреблении алкоголя использовали преимущественно для клинической характеристики основной выборки.

Медикаментозную терапию регистрировали на основании медицинской документации с уточнением сведений при опросе участника. Учитывали прием антиагрегантов, антикоагулянтов, β -адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов рецепторов ангиотензина II, блокаторов кальциевых каналов, диуретиков, статинов, антиаритмических препаратов, ингибиторов протонной помпы и других лекарственных средств, принимаемых на момент обследования [11]. Общую медикаментозную нагрузку характеризовали числом одновременно принимаемых лекарственных препаратов.

2.4.2. Оценка стоматологического статуса

Стоматологическое обследование проводили после получения образца нестимулированной ротовой жидкости, чтобы исключить возможное влияние клинических манипуляций и пародонтального зондирования на состав исследуемого биоматериала. Результаты осмотра регистрировали в унифицированной индивидуальной карте обследования.

При клиническом обследовании оценивали состояние зубов и тканей пародонта. Регистрировали наличие кариозных полостей, клинических признаков воспалительных изменений тканей пародонта и другие стоматологические показатели, предусмотренные соответствующим исследовательским блоком.

Гигиеническое состояние полости рта оценивали с использованием упрощенного индекса гигиены полости рта Грина–Вермиллиона (Oral Hygiene Index-Simplified, ОНІ-S) на шести индексных зубах: 16, 11, 26, 36, 31 и 46. Для количественного анализа использовали нормированное значение индекса ОНІ-S с диапазоном от 0 до 3 баллов. Значения интерпретировали следующим образом: 0–0,6 балла – хороший уровень гигиены; 0,7–1,6 балла – удовлетворительный; 1,7–2,5 балла – неудовлетворительный; 2,6–3,0 балла – плохой.

Индекс ВОР определяли при углубленном обследовании тканей пародонта с использованием пародонтологического зонда UNC-15. Кровоточивость регистрировали дихотомически в шести точках каждого зуба: мезиально-вестибулярной, срединно-вестибулярной, дистально-вестибулярной, мезиально-оральной, срединно-оральной и дистально-оральной. Индекс ВОР относится к основным клиническим показателям воспалительного состояния тканей пародонта и применяется при комплексной пародонтологической оценке [92].

Индекс BOP рассчитывали как процент участков с кровоточивостью от общего числа обследованных участков:

$$\text{BOP} = \frac{N_{\text{кр}}}{N_{\text{общ}}} \times 100 \% \quad (1)$$

где

$N_{\text{кр}}$ – число участков с кровоточивостью после зондирования;

$N_{\text{общ}}$ – общее число обследованных участков.

Индекс BOP использовали как количественную характеристику текущего воспалительного состояния тканей пародонта. Показатель выражали в виде доли обследованных участков с кровоточивостью при зондировании (%) [185].

При углубленном пародонтологическом обследовании определяли PPD и CAL. Измерения выполняли пародонтологическим зондом UNC-15 с миллиметровой градуировкой 1–15 мм в шести точках каждого обследованного зуба: мезиально-вестибулярной, срединно-вестибулярной, дистально-вестибулярной, мезиально-оральной, срединно-оральной и дистально-оральной.

PPD определяли как расстояние от свободного края десны до дна десневой борозды или пародонтального кармана, CAL – как расстояние от цементно-эмалевой границы до дна десневой борозды или пародонтального кармана. Потерю клинического прикрепления непародонтального происхождения, в том числе обусловленную травматической рецессией, при установлении диагноза не учитывали.

Для каждого участника рассчитывали индивидуальные медианные значения PPD и CAL по всем обследованным участкам, измеренным в шести точках каждого обследованного зуба. Индивидуальные медианные значения PPD и CAL, а также индекс BOP использовали для количественной характеристики пародонтологического статуса и последующего статистического анализа.

Рентгенологическую оценку состояния альвеолярной кости проводили по ортопантомограммам; оценивали уровень альвеолярной кости, наличие и выраженность ее резорбции.

Диагноз хронического пародонтита и степень его тяжести устанавливали на основании совокупности данных клинического и рентгенологического обследования в соответствии с клиническими рекомендациями Стоматологической ассоциации России (СтАР) [74]. При определении степени тяжести учитывали максимальную выраженность диагностически значимых признаков у пациента, включая потерю клинического прикрепления, выраженность резорбции альвеолярной кости и подвижность зубов [74].

2.4.3. Получение, транспортировка, обработка и хранение биологического материала

Ротовую жидкость получали в утренние часы с 08:00 до 10:00. Участники не принимали пищу и напитки, не курили и не использовали жевательную резинку не менее чем за 60 минут до процедуры; после пробуждения до получения образца гигиену полости рта не проводили. Непосредственно перед сбором участники прополаскивали полость рта дистиллированной водой, после чего в течение 5 минут находились в положении сидя в состоянии покоя.

По итогам методического этапа для последующих этапов исследования использовали метод сплевывания. Сбор нестимулированной ротовой жидкости проводили методом сплевывания: в положении сидя участник накапливал ротовую жидкость в полости рта и через каждые 60 секунд перемещал ее в стерильную градуированную пробирку до достижения объема 3 мл; продолжительность сбора регистрировали с помощью секундомера [11]. Данный протокол использовали как в основном клиническом исследовании, так и при формировании аналитических подвыборок.

Ротовую жидкость получали до пародонтологического зондирования и других стоматологических манипуляций, способных сопровождаться травматизацией или кровоточивостью тканей полости рта. Полученный объем и продолжительность сбора регистрировали индивидуально. Скорость нестимулированного слюноотделения рассчитывали как отношение объема

ротовой жидкости к фактической продолжительности сбора и выражали в мл/мин. Этот показатель использовали при межгрупповых сопоставлениях и анализе взаимосвязей с клинико-анамнестическими и лабораторными данными.

После получения образцы осматривали на наличие видимой примеси крови, выраженного пенообразования и неоднородности. Образцы с визуально определяемой примесью крови не использовали для последующего определения биомаркеров (Рисунок 2.3).

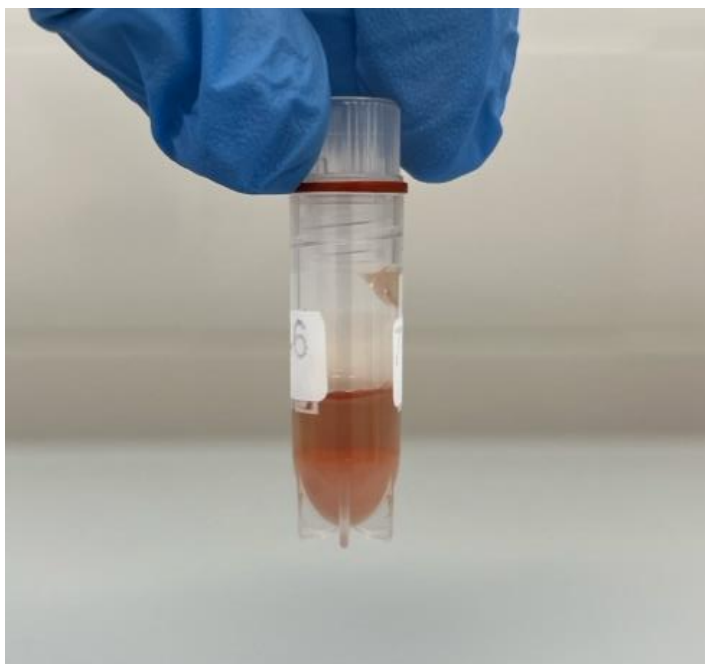


Рисунок 2.3 – Образец ротовой жидкости с примесью крови

Для транспортировки образцы помещали в термоконтейнер с холодным элементом при температуре 2–8 °С (Рисунок 2.4).



Рисунок 2.4 – Условия транспортирования образцов ротовой жидкости при 2–8 °С: А – термоконтейнер; Б – охлаждающий элемент

После транспортировки образцы подвергали первичной обработке: ротовую жидкость центрифугировали в течение 10 минут при $3000 \times g$ и температуре 4 °С с использованием охлаждаемой центрифуги Eppendorf Centrifuge 5427 R (Eppendorf AG, Германия) (Рисунок 2.5). После центрифугирования супернатант отбирали стерильным наконечником, не затрагивая осадок, и распределяли на отдельные аликвоты в маркированные полипропиленовые криовials (Рисунки 2.6 и 2.7).



Рисунок 2.5 – Охлаждаемая центрифуга Eppendorf Centrifuge 5427 R

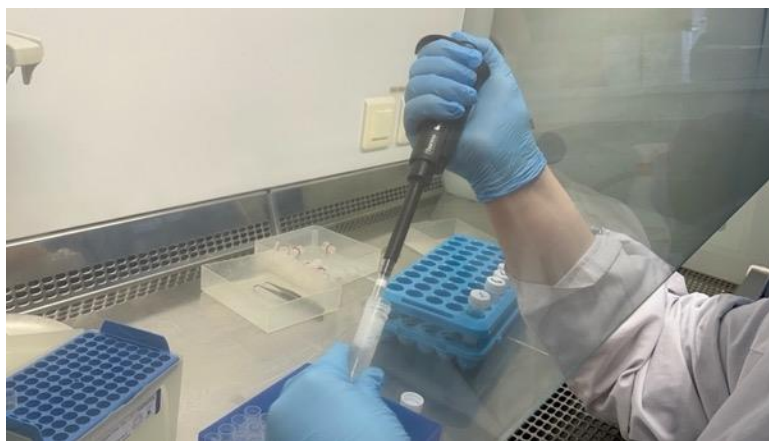


Рисунок 2.6 – Аликвотирование образцов ротовой жидкости

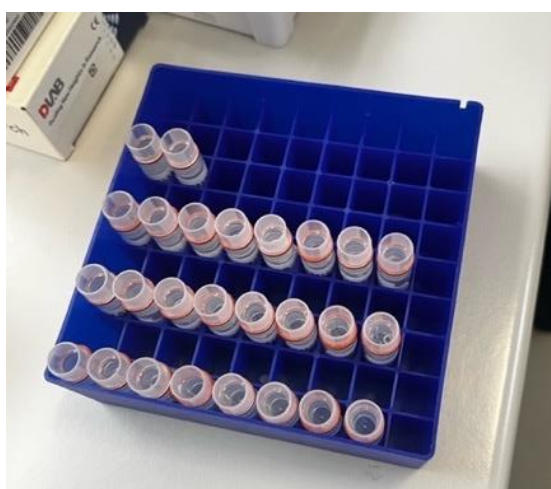


Рисунок 2.7 – Маркированные криовials с аликвотами ротовой жидкости

Подготовленные аликвоты хранили в морозильнике TwinGuard MDF-DU702VX (Panasonic Healthcare / PNC Corporation, Япония) при -80°C до проведения лабораторного исследования (Рисунок 2.8). Повторных циклов «замораживание–оттаивание» не допускали; необходимую аликвоту перед соответствующим анализом размораживали однократно.



Рисунок 2.8 – Низкотемпературный морозильник TwinGuard MDF-DU702VX для хранения образцов при -80°C

При абсорбционном методе сбора, использованном на методическом этапе, жидкую фракцию ротовой жидкости выделяли из ватного валика путем центрифугирования и переносили в отдельную маркированную пробирку для последующего исследования. Образцы венозной крови получали в утренние часы натощак в день сбора ротовой жидкости. Кровь забирали из периферической вены в области локтевого сгиба в вакуумные пробирки для получения сыворотки; процедуру выполнял медицинский персонал стационара. После выдерживания образцов при комнатной температуре в течение 30–60 минут до завершения коагуляции их центрифугировали 10 минут при $3000 \times g$ и 4°C . Полученную сыворотку отделяли стерильным одноразовым наконечником, не затрагивая клеточный осадок, распределяли по маркированным криовиалам и хранили при -80°C до лабораторного исследования. Повторного замораживания образцов не допускали: необходимую аликвоту однократно размораживали непосредственно перед анализом.

Полученную сыворотку использовали для определения С-реактивного белка и МВ-фракции креатинфосфокиназы в соответствующих аналитических подвыборках.

2.4.4. Лабораторное определение биомаркеров в ротовой жидкости и сыворотке крови

СРБ в ротовой жидкости определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора Human CRP ELISA Kit (RayBiotech, США; ELH-CRP) (Рисунок 2.9). Для построения калибровочной кривой использовали семь ненулевых стандартов CRP в диапазоне 34,3–25 000 пг/мл, полученных последовательными трехкратными разведениями ($25\ 000/3^n$, $n = 0-6$). Оптическую плотность измеряли при длине волны 450 нм на спектрофотометре INNO (LTek Co., Ltd., Республика Корея) (Рисунок 2.10).



Рисунок 2.9 – Набор для ИФА Human CRP ELISA Kit (RayBiotech, США)



Рисунок 2.10 – Спектрофотометр INNO (LTek Co., Ltd., Республика Корея)

Образцы ротовой жидкости исследовали без предварительного разведения ($D = 1$), а также после разведения буфером набора в соотношениях 1:100 ($D = 100$) и 1:1000 ($D = 1000$). Измерения в биомаркерной подвыборке выполняли в технических дублях. Концентрацию СРБ определяли по калибровочной кривой с учетом коэффициента разведения. Для итогового расчета использовали результат того разведения, при котором оптическая плотность находилась в пределах калибровочного диапазона. Значения, полученные за его пределами, для количественного расчета не использовали. При необходимости образец дополнительно разводили с последующим пересчетом концентрации с учетом соответствующего коэффициента. Итоговую концентрацию СРБ в ротовой жидкости выражали в нг/мл и рассчитывали по формуле:

$$C_{РЖ} = \frac{C_K \times D}{1000} \quad (2)$$

где

$C_{РЖ}$ – итоговая концентрация СРБ в ротовой жидкости, нг/мл;

C_K – концентрация по калибровочной кривой, пг/мл;

D – коэффициент разведения образца.

В инструкции к набору ELH-CRP в качестве исследуемых матриц указаны сыворотка, плазма крови и супернатанты клеточных культур; ротовая жидкость в этот перечень не входит. В связи с этим применение набора для анализа ротовой жидкости рассматривали как исследовательское. Рабочий диапазон стандартов не рассматривали как подтвержденный диапазон количественного определения СРБ для данной матрицы.

Концентрацию СРБ в сыворотке крови определяли методом латекс-усиленной иммунотурбидиметрии на автоматическом биохимическом анализаторе AU480 (Beckman Coulter, США) с использованием реагента CRP Latex (OSR6199, Beckman Coulter, США). Результаты выражали в мг/л.

Массовую концентрацию КФК-МВ в ротовой жидкости и сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора AccuBind™ ELISA Microwells Creatine Kinase MB (СК-МВ) Test System (Monobind Inc., США; кат. № 413-8201) (Рисунок 2.11). Образцы ротовой жидкости, сыворотки крови и калибраторы исследовали в технических дублях.



Рисунок 2.11 – Набор для ИФА AccuBind ELISA Microwells СК-МВ Test System (Monobind, США)

Калибровочная кривая включала концентрации 0 (А), 5 (В), 25 (С), 100 (D), 200 (Е) и 400 (F) нг/мл. Заявленный производителем нижний предел обнаружения набора составлял 0,182 нг/мл.

Перед постановкой анализа все используемые реагенты выдерживали до достижения температуры 20–27 °С. В лунки микропланшета последовательно добавляли 25 мкл исследуемого образца либо калибратора и 100 мкл ферментного реагента КФК-МВ. Планшет инкубировали 15 минут при 20–25 °С, после чего содержимое лунок удаляли и проводили пять циклов промывки, используя по 350 мкл промывочного буфера на каждую лунку. На следующем этапе добавляли 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина и выдерживали планшет в темноте в течение 15 минут. Ферментативную реакцию прекращали внесением 50 мкл стоп-раствора.

Регистрацию оптической плотности выполняли на спектрофотометре INNO (LTek Co., Ltd., Республика Корея) при основной длине волны 450 нм и референсной длине волны в диапазоне 620–630 нм. Измерение проводили не позднее 30 минут после добавления стоп-раствора. Концентрацию КФК-МВ определяли по калибровочной зависимости и выражали в нг/мл. Для количественной оценки использовали калибровочный диапазон 0–400 нг/мл. Образцы с концентрацией, превышавшей 400 нг/мл, дополнительно разводили буфером нулевого калибратора и рассчитывали окончательное значение с учетом коэффициента разведения. Результаты ниже установленного производителем предела обнаружения указывали как $< 0,182$ нг/мл.

Пригодность аналитической постановки контролировали по характеристикам калибровочной кривой: оптическая плотность калибратора А должна была составлять $\leq 0,075$, калибратора F – $\geq 1,3$; дополнительным внутренним критерием качества служил коэффициент детерминации (R^2) $\geq 0,98$. Воспроизводимость измерений оценивали по коэффициенту вариации технических дублей.

При исследовании ротовой жидкости отдельно оценивали характеристики калибровки, согласованность технических дублей и результаты определения

КФК-МВ в соответствующих образцах ротовой жидкости и сыворотки крови. Поскольку ротовая жидкость не указана производителем в перечне валидированных биологических матриц набора, его использование для данного биоматериала носило исследовательский характер.

Для парного сопоставления двух биологических сред использовали массовую концентрацию КФК-МВ, полученную методом ИФА и выраженную в нг/мл. Показатель активности КФК-МВ в Ед/л, содержащийся в клинической медицинской документации, анализировали отдельно и не объединяли с результатами иммуноферментного определения.

2.4.5. Формирование клинических групп и аналитических подвыборок, обоснование их объема

Основное сравнение проводили между пациентами с сердечно-сосудистой патологией и участниками контрольной группы. Пациентов с хроническим пародонтитом при отсутствии сердечно-сосудистых заболеваний в этот анализ не включали; их данные использовали только в четырехгрупповом анализе.

Требуемую численность выборки определяли исходя из предполагаемой величины различий в скорости слюноотделения между пациентами с ССЗ и контрольной группой. При двустороннем уровне статистической значимости $\alpha = 0,05$, мощности $1 - \beta = 0,80$, стандартизованном размере эффекта d Коэна = 0,35 и планируемом соотношении групп 2:1 минимально необходимый объем составил 291 участника: не менее 194 пациентов с ССЗ и 97 участников контрольной группы. В окончательный сравнительный анализ вошли 319 человек, из них 219 пациентов с ССЗ и 100 участников контрольной группы.

Биомаркерную подвыборку для исследования СРБ формировали из пациентов с подтвержденной ИБС при наличии пригодных парных образцов ротовой жидкости и сыворотки крови, полученных в один день, результатов углубленного пародонтологического обследования и необходимых клинико-анамнестических данных. Целевой объем составлял не менее 25 парных

наблюдений. При $\alpha = 0,05$ и мощности $1 - \beta = 0,80$ такой объем позволял выявлять коэффициент корреляции $|r| \geq 0,54$; при трех предикторах он соответствовал возможности выявления выраженного общего эффекта многофакторной модели приблизительно $f^2 \geq 0,53$. Многофакторный анализ носил исследовательский характер. Фактический объем составил 26 пациентов.

Подвыборку для исследования КФК-МВ формировали из пациентов с ИБС при наличии пригодных парных образцов нестимулированной ротовой жидкости и сыворотки крови, полученных в один день. Минимально необходимый объем рассчитывали для двустороннего корреляционного анализа при $\alpha = 0,05$, мощности $1 - \beta = 0,80$ и предполагаемом коэффициенте корреляции $r = 0,60$; расчетное значение составило 20 участников. Подвыборки для исследования СРБ и КФК-МВ по составу участников не пересекались.

Четырехгрупповую аналитическую подвыборку формировали для сопоставления пародонтологических показателей, скорости нестимулированного слюноотделения и концентрации СРБ в ротовой жидкости в зависимости от наличия ИБС и хронического пародонтита. В анализ включали участников, для которых были доступны результаты углубленного пародонтологического обследования и пригодный для определения СРБ образец нестимулированной ротовой жидкости.

Выделяли четыре независимые группы: референтную группу без ИБС и хронического пародонтита; пациентов с хроническим пародонтитом без ИБС; пациентов с ИБС без хронического пародонтита; пациентов с сочетанием ИБС и хронического пародонтита.

Расчет объема четырехгрупповой подвыборки выполняли для концентрации СРБ в ротовой жидкости. При $\alpha = 0,05$, мощности $1 - \beta = 0,80$ и стандартизованном размере эффекта f Коэна = 0,40 минимально необходимый объем составлял 19 участников в каждой группе, или 76 участников в совокупности. Расчет выполняли как параметрическое приближение к последующему непараметрическому анализу. С учетом возможной технической непригодности отдельных образцов планировали включать по 20–22 участника

в группу. Фактически в анализ вошли 83 участника: 20 лиц референтной группы, 20 пациентов с хроническим пародонтитом без ИБС, 22 пациента с ИБС без хронического пародонтита и 21 пациент с сочетанием ИБС и хронического пародонтита.

2.5. Методы статистической обработки и анализа данных

Данные вносили в зарегистрированную базу данных SalivaMonitor [57] и экспортировали в Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США) для проверки полноты данных и корректности кодирования переменных. Статистический анализ выполняли в программе StatTech v. 4.12.5 (ООО «Статтех», Россия); для отдельных аналитических задач использовали Python 3.11.

Характер распределения количественных переменных оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Учитывая малый объем подгрупп и отклонение распределения ряда показателей от нормального, для единообразия количественные данные представляли как $Me [Q1; Q3]$ и сопоставляли непараметрическими критериями. При необходимости 95 % ДИ для относительных частот рассчитывали методом Клоппера–Пирсона. Долю определяли от числа участников с зарегистрированным значением соответствующего показателя.

Различия количественных показателей между двумя независимыми выборками оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. При одновременном сопоставлении трех и более групп использовали критерий Краскела–Уоллиса, а последующий попарный анализ проводили с коррекцией уровня значимости по методу Холма. Для анализа категориальных данных применяли критерий χ^2 Пирсона или, при необходимости, точный критерий Фишера. Степень взаимосвязи количественных и порядковых переменных определяли посредством ранговой корреляции Спирмена.

Для отдельных количественных связей дополнительно строили простые линейные регрессионные модели. Независимые ассоциации оценивали

с помощью многофакторной линейной регрессии. Для регрессионного анализа СРБ применяли преобразование $\ln(x + 1)$ вследствие выраженной правосторонней асимметрии распределения его концентраций. Результаты регрессионного анализа представляли в виде нестандартизованных коэффициентов В с 95 % ДИ и р-значениями. Мультиколлинеарность оценивали по фактору инфляции дисперсии (VIF), гетероскедастичность остатков – с помощью теста Бреуша–Пагана. Дискриминационную способность СРБ ротовой жидкости оценивали методом ROC-анализа с расчетом AUC и 95 % ДИ, чувствительности и специфичности; пороговое значение определяли по максимальному индексу Юдена. Статистические гипотезы проверяли при двустороннем уровне значимости; различия и ассоциации считали статистически значимыми при $p < 0,05$. При выполнении множественных попарных сравнений применяли соответствующую поправку на множественность.

В подвыборке СРБ зависимой переменной основной многофакторной модели являлась $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$, предикторами – $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$, индексы ВОР и ОНІ-S по шкале 0–3 балла. Индекс ВОР вводили в модель в процентах обследованных участков; единица изменения соответствовала одному процентному пункту. Для отдельных предикторов рассчитывали частные коэффициенты детерминации (partial R^2). Устойчивость основных ассоциаций проверяли с помощью робастной линейной регрессии с М-оценкой Хьюбера (HuberT, константа настройки 1,345), а также в расширенной модели с учетом возраста, пола, курения, приема статинов и антиагрегантов и в отдельной модели с включением скорости нестимулированного слюноотделения. Концентрацию СРБ ротовой жидкости дополнительно сравнивали между участниками с индексом ОНІ-S 0,7–1,6 и 1,7–3,0 балла с использованием точного двустороннего U-критерия Манна–Уитни.

В четырехгрупповой подвыборке ассоциации ИБС и хронического пародонтита с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ оценивали с поправкой на возраст, пол, индекс массы тела (ИМТ), статус курения и наличие сахарного диабета;

при выявлении гетероскедастичности использовали устойчивые стандартные ошибки НСЗ.

У пациентов с хроническим пародонтитом четырехгрупповой подвыборки ($n = 41$), подвыборки СРБ ($n = 26$) и подвыборки КФК-МВ ($n = 20$) количественные показатели сравнивали между пациентами со средней и тяжелой степенью заболевания с использованием двустороннего U-критерия Манна–Уитни. В подвыборке СРБ дополнительно сравнивали концентрацию СРБ в сыворотке крови, а в подвыборке КФК-МВ – концентрацию КФК-МВ в сыворотке крови. PPD и CAL также сравнивали между группами по степени тяжести.

ROC-анализ СРБ ротовой жидкости выполняли в отношении индекса ВОР $> 30 \%$ в биомаркерной и четырехгрупповой подвыборках и концентрации СРБ сыворотки крови ≥ 5 мг/л в биомаркерной подвыборке. Поскольку пороговые значения определяли и оценивали на тех же наблюдениях, ROC-анализ рассматривали как разведочный.

Для КФК-МВ отдельно представляли диапазон значений, число и долю результатов ниже заявленного производителем предела обнаружения ($< 0,182$ нг/мл). В основном статистическом анализе такие результаты заменяли половиной предела обнаружения – $0,091$ нг/мл. Для оценки ассоциаций концентрации КФК-МВ ротовой жидкости с пародонтологическими показателями использовали линейные регрессионные модели с зависимой переменной $\ln(\text{КФК-МВ ротовой жидкости} + 1)$. PPD и CAL включали в отдельные модели, каждую с учетом $\ln(\text{КФК-МВ сыворотки крови} + 1)$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

На этапе первичного отбора были рассмотрены 412 потенциальных участников исследования. Методический этап был выполнен на отдельной выборке из 21 пациента с ишемической болезнью сердца, не входивших в основную клиническую совокупность. Для основного клинико-лабораторного этапа был оценен 391 кандидат, в том числе 249 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, 117 кандидатов в контрольную группу и 25 пациентов с хроническим пародонтитом без сердечно-сосудистых заболеваний. После применения критериев отбора из дальнейшего исследования 52 человека были исключены, в исследование вошли 339 человек. Среди них 219 имели сердечно-сосудистые заболевания, 100 относились к контрольной группе, а у 20 был диагностирован хронический пародонтит при отсутствии сердечно-сосудистой патологии. Для основного сопоставления группы пациентов с ССЗ и контроля использовали данные 319 участников.

Для отдельных исследовательских задач из итоговой клинической совокупности были сформированы биомаркерная подвыборка для исследования СРБ ($n = 26$), подвыборка для исследования КФК-МВ ($n = 20$) и четырехгрупповая аналитическая подвыборка ($n = 83$). Формирование исследовательских выборок представлено на Рисунке 3.1.

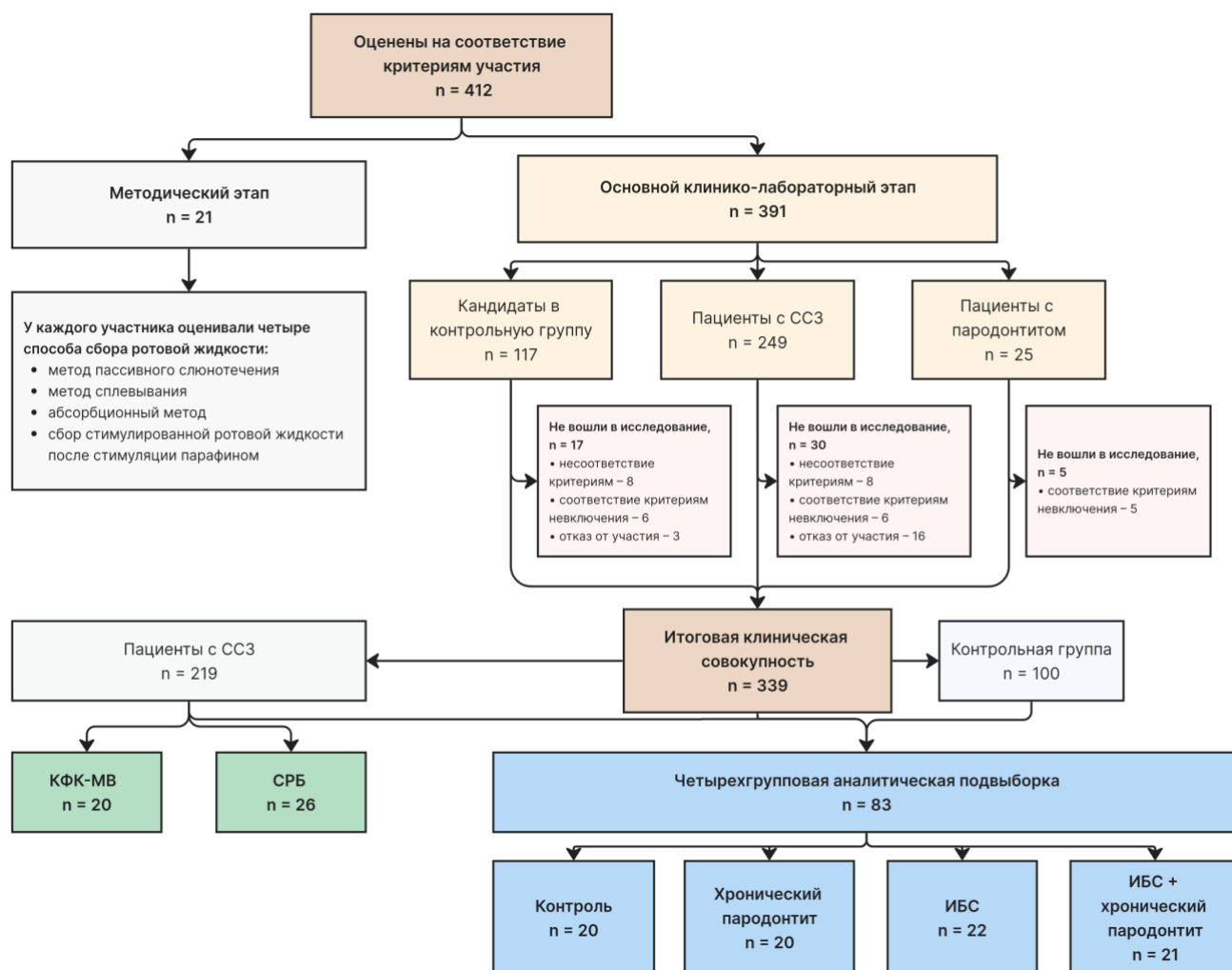


Рисунок 3.1 – Схема включения участников и формирования исследовательских выборок

3.1. Методический этап стандартизации способа получения ротовой жидкости

3.1.1. Характеристика участников, преаналитические показатели и практическая выполнимость способов получения ротовой жидкости

В методическом этапе исследования участвовал 21 пациент с ИБС. Медианный возраст участников составил 53,0 [46,0; 58,0] года. Медиана индекса ОНІ-S равнялась 2,2 [2,0; 2,7], индекса ВОР – 38 [24; 56] %.

Преаналитические показатели и показатели практической выполнимости четырех способов получения ротовой жидкости представлены в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Преаналитические показатели и практическая выполнимость способов получения ротовой жидкости (n = 21)

Показатель	Способ 1	Способ 2	Способ 3	Способ 4	p
Объем за 5 мин, мл, Me [Q1; Q3]	1,30 [1,10; 1,40]	1,40 [1,20; 1,60]	1,60 [1,20; 1,90]	5,80 [5,00; 6,30]	< 0,001
Скорость слюноотделения, мл/мин, Me [Q1; Q3]	0,26 [0,22; 0,29]	0,28 [0,24; 0,32]	0,46 [0,38; 0,52]	1,16 [1,00; 1,26]	< 0,001
Видимая примесь крови, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	–
Супернатант для ИФА, n (%)	21 (100)	21 (100)	21 (100)	21 (100)	–
Субъективная трудность выполнения процедуры, баллы, Me [Q1; Q3]	2 [1; 3]	1 [1; 2]	1 [1; 2]	1 [1; 2]	0,002
Необходимость дополнительного разъяснения инструкции, n (%)	7 (33,3)	3 (14,3)	2 (9,5)	2 (9,5)	0,095
Попадание ротовой жидкости за пределы пробирки, n (%)	10 (47,6)	2 (9,5)	1 (4,8)	2 (9,5)	< 0,001
Примечание: Способ 1 – метод пассивного слюноотечения; способ 2 – метод сплевывания; способ 3 – абсорбционный метод; способ 4 – метод сбора стимулированной РЖ. Для абсорбционного метода приведен объем жидкой фракции, извлеченной из ватного валика после центрифугирования. Скорость получения РЖ рассчитывали по объему, поглощенному валиком, который определяли по разности его массы до и после сбора. Медиана поглощенного объема составила 2,30 [1,90; 2,60] мл					

Наибольший объем РЖ был получен при использовании метода сбора стимулированной ротовой жидкости – 5,80 мл. При использовании метода сплевывания объем и скорость получения РЖ были выше, чем при использовании метода пассивного слюноотечения: 1,40 против 1,30 мл и 0,28 против 0,26 мл/мин соответственно ($p < 0,001$ для обоих сравнений после поправки Холма). Видимая примесь крови отсутствовала во всех образцах; во всех случаях был получен

достаточный объем супернатанта для проведения ИФА. Субъективная трудность различалась между четырьмя способами получения РЖ (критерий Фридмана, $p = 0,002$) и была ниже при использовании метода сплевывания по сравнению с методом пассивного слюноотечения: 1 [1; 2] против 2 [1; 3] баллов ($p = 0,035$ после поправки Холма). Частота необходимости дополнительного разъяснения инструкции между способами статистически значимо не различалась ($p = 0,095$). Частота попадания РЖ за пределы пробирки различалась между четырьмя способами (Q-критерий Кохрена, $p < 0,001$) и была ниже при использовании метода сплевывания по сравнению с методом пассивного слюноотечения – 9,5 % против 47,6 % ($p = 0,039$ после поправки Холма). При использовании метода пассивного слюноотечения выявлена обратная связь между оценкой субъективной трудности процедуры и скоростью получения РЖ ($\rho = -0,911$; $p < 0,001$).

3.1.2. Концентрации С-реактивного белка и МВ-фракции креатинфосфокиназы при четырех способах получения ротовой жидкости

Концентрации СРБ и КФК-МВ, а также частота результатов КФК-МВ ниже предела обнаружения приведены в Таблице 3.2. При сравнении четырех способов получения РЖ были выявлены различия по концентрациям обоих анализов (критерий Фридмана, $p < 0,001$ для каждого показателя).

Таблица 3.2 – Концентрации СРБ и КФК-МВ при четырех способах получения ротовой жидкости ($n = 21$)

Показатель	Способ 1	Способ 2	Способ 3	Способ 4	p
СРБ, нг/мл, Ме [Q1; Q3]	29,56 [15,06; 69,88]	27,25 [15,07; 70,07]	19,00 [10,20; 47,00]	9,50 [5,10; 23,50]	$< 0,001$
СРБ в калибровочном диапазоне, n (%)	21 (100)	21 (100)	21 (100)	21 (100)	—

Продолжение Таблицы 3.2

КФК-МВ, нг/мл, Ме [Q1; Q3]	1,63 [1,16; 2,46]	1,42 [1,16; 2,16]	0,99 [0,66; 1,40]	0,49 [0,09; 0,61]	< 0,001
КФК-МВ ниже LOD, n (%)	3 (14,3)	3 (14,3)	4 (19,0)	6 (28,6)	0,066
Примечание: Способ 1 – метод пассивного слюноотечения; способ 2 – метод сплевывания; способ 3 – абсорбционный метод; способ 4 – метод сбора стимулированной РЖ. Предел обнаружения (LOD) КФК-МВ составлял 0,182 нг/мл; при расчете медианы и квартилей значения ниже LOD заменяли на LOD/2 = 0,091 нг/мл					

При пассивном слюноотечении медианные уровни СРБ и КФК-МВ составляли соответственно 29,56 и 1,63 нг/мл и были выше, чем при других способах получения ротовой жидкости. Метод сплевывания давал близкие значения: медиана СРБ составила 27,25 нг/мл, а КФК-МВ – 1,42 нг/мл. Различия по сравнению с пассивным слюноотечением не достигали статистической значимости ни для СРБ ($p = 0,122$), ни для КФК-МВ ($p = 0,170$). При использовании абсорбционного метода и метода сбора стимулированной РЖ концентрации обоих биомаркеров были статистически значимо ниже, чем при использовании метода пассивного слюноотечения (для СРБ $p < 0,001$; для КФК-МВ $p = 0,001$ после поправки Холма). СРБ находился в пределах рабочего диапазона калибровочной кривой во всех 21 образце при каждом способе получения РЖ. Доля значений КФК-МВ ниже предела обнаружения составляла 14,3 % при использовании метода пассивного слюноотечения и метода сплевывания, 19,0 % при использовании абсорбционного метода и 28,6 % при использовании метода сбора стимулированной РЖ; различия между четырьмя способами статистической значимости не достигали (Q-критерий Кохрена, $p = 0,066$).

3.1.3. Сравнительная оценка способов получения ротовой жидкости

По уровню СРБ и КФК-МВ метод сплевывания был сопоставим с пассивным слюноотечением: статистически значимых различий между этими

способами сбора не выявлено ($p = 0,122$ и $p = 0,170$ соответственно). Напротив, применение абсорбционного метода и метода сбора стимулированной РЖ сопровождалось статистически значимым снижением измеряемых концентраций обоих биомаркеров по сравнению с пассивным слюноотечением. Метод сплевывания обеспечивал больший объем и более высокую скорость получения РЖ по сравнению с методом пассивного слюноотечения, а также характеризовался меньшей субъективной трудностью процедуры и меньшей частотой попадания РЖ за пределы пробирки. По совокупности преаналитических, аналитических показателей и показателей практической выполнимости метод сплевывания был выбран в качестве стандартизированного способа получения нестимулированной РЖ для последующих этапов исследования.

3.2. Стоматологический статус и параметры ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и участников контрольной группы

3.2.1. Клинико-демографическая характеристика, структура сердечно-сосудистой патологии и медикаментозная терапия

Сравнительную клиническую выборку составили 219 пациентов с ССЗ и 100 участников контрольной группы. В группе ССЗ были обследованы 121 мужчина и 98 женщин, в контрольной группе – 47 мужчин и 53 женщины. Медианный возраст пациентов с ССЗ составил 68,0 [59,5; 74,0] лет [11]. Клинико-демографические показатели представлены в Таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Клинико-демографическая характеристика сравнительной клинической выборки

Показатель	Группа ССЗ (n = 219)	Контроль (n = 100)	p
Возраст, лет, Ме [Q1; Q3]	68,0 [59,5; 74,0]	67,0 [62,0; 73,0]	0,142
Пол, м/ж, n	121/98	47/53	0,171
ИМТ, кг/м ² , Ме [Q1; Q3]	28,1 [25,7; 30,8]	25,4 [23,1; 27,8]	< 0,001
Примечание: Количественные показатели сопоставлены U-критерием Манна–Уитни, пол – критерием χ^2 Пирсона			

Статистически значимых различий по возрасту не выявлено ($p = 0,142$). Индекс массы тела (ИМТ) в группе ССЗ был выше, чем в контрольной группе: медианы составили 28,1 и 25,4 кг/м² соответственно ($p < 0,001$; U-критерий Манна–Уитни).

Среди пациентов с ССЗ наиболее часто выявлялась гипертоническая болезнь, которая как основное или сопутствующее заболевание была зарегистрирована у 95,9 % обследованных. Стенокардия напряжения отмечалась у 51,5 % пациентов, пароксизмальная форма фибрилляции предсердий – у 26,9 %, нестабильная стенокардия – у 6,7 %. Постинфарктный кардиосклероз, приобретенные клапанные пороки сердца, кардиомиопатии и другие нарушения ритма и проводимости встречались реже; частота каждой из этих нозологий не превышала 5 % [11].

Медикаментозная терапия пациентов с ССЗ включала препараты нескольких фармакологических классов, которые применялись в различных сочетаниях. Частота назначения основных классов лекарственных препаратов представлена в Таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Структура медикаментозной терапии пациентов с ССЗ (n = 219) [11]

Класс лекарственных препаратов	%	95 % ДИ, %
Статины	87,4	82,3–91,6
β-адреноблокаторы	80,5	74,5–85,5
Антиагреганты	70,2	63,6–76,3
Ингибиторы протонной помпы	53,0	46,1–59,8
Блокаторы рецепторов ангиотензина II	52,6	45,7–59,4
Блокаторы кальциевых каналов	49,8	42,9–56,6
Диуретики (тиазидные, петлевые)	47,7	40,8–54,6
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента	40,5	33,8–47,4
Антикоагулянты, всего	36,0	29,6–42,8
в том числе антагонисты витамина К	14,2	9,8–19,5
в том числе прямые оральные антикоагулянты	21,8	16,6–27,6
Антиаритмические препараты	17,7	12,8–23,4
Полипрагмазия (≥ 6 препаратов)	69,1	62,5–75,2
Примечание: Фармакологические группы не являлись взаимоисключающими; один пациент мог одновременно получать препараты нескольких классов; 95 % доверительные интервалы для относительных частот рассчитаны методом Клоппера–Пирсона		

Наиболее часто пациентам назначали статины (87,4 %), β-адреноблокаторы (80,5 %) и антиагреганты (70,2 %). Антикоагулянтную терапию получали 36,0 % обследованных; прямые оральные антикоагулянты применялись чаще, чем антагонисты витамина К (21,8 % и 14,2 % соответственно). Полипрагмазия, определяемая как одновременный прием шести и более лекарственных препаратов, была зарегистрирована у 69,1 % пациентов [11].

3.2.2. Поведенческие факторы и стоматологический статус

Курение в анамнезе было зарегистрировано у 38,4 % пациентов с ССЗ и у 24,0 % участников контрольной группы ($p = 0,012$). Регулярное употребление алкоголя отрицали 71,2 % и 58,0 % обследованных соответственно.

Жалобы на кровоточивость десен предъявляли 45,2 % пациентов с ССЗ и 26,0 % участников контрольной группы ($p = 0,001$). В данном сравнении учитывали субъективную жалобу, зарегистрированную при опросе. Она была представлена отдельно от результатов инструментального определения индекса ВОР в аналитических подвыборках.

При осмотре регистрировали наличие единичных и множественных кариозных полостей, а также их отсутствие. Распределение по этим категориям между группами статистически значимо не различалось ($p = 0,170$). Стоматологические показатели приведены в Таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Стоматологические показатели в сравнительной клинической выборке [11]

Показатель	Категория	ССЗ (n = 219), n (%)	Контроль (n = 100), n (%)	p
Жалобы на кровоточивость десен	Да	99 (45,2)	26 (26,0)	0,001
	Нет	120 (54,8)	74 (74,0)	
Жалобы на сухость во рту	Да	179 (81,7)	22 (22,0)	< 0,001
	Нет	40 (18,3)	78 (78,0)	
Кариозные полости	Единичные	123 (56,2)	49 (49,0)	0,170
	Множественные	13 (5,9)	3 (3,0)	
	Нет	83 (37,9)	48 (48,0)	

Продолжение Таблицы 3.5

Уровень индекса Грина–Вермиллиона (ОHI-S)	Хороший	7 (3,4)	20 (20,0)	< 0,001
	Удовлетворительный	45 (22,2)	61 (61,0)	
	Неудовлетворительный	101 (49,8)	11 (11,0)	
	Плохой	50 (24,6)	8 (8,0)	
Примечание: Индекс ОHI-S определен у 203 из 219 пациентов с ССЗ; у 16 пациентов оценка была невозможна вследствие отсутствия зубов, пригодных для индексной оценки				

Распределение по зарегистрированным категориям гигиены полости рта различалось между группами ($p < 0,001$). В группе ССЗ неудовлетворительная и плохая гигиена в совокупности были отмечены у 74,4 % обследованных. В контрольной группе хороший и удовлетворительный уровни составили 81,0 %. Соотношение категорий представлено на Рисунке 3.2.

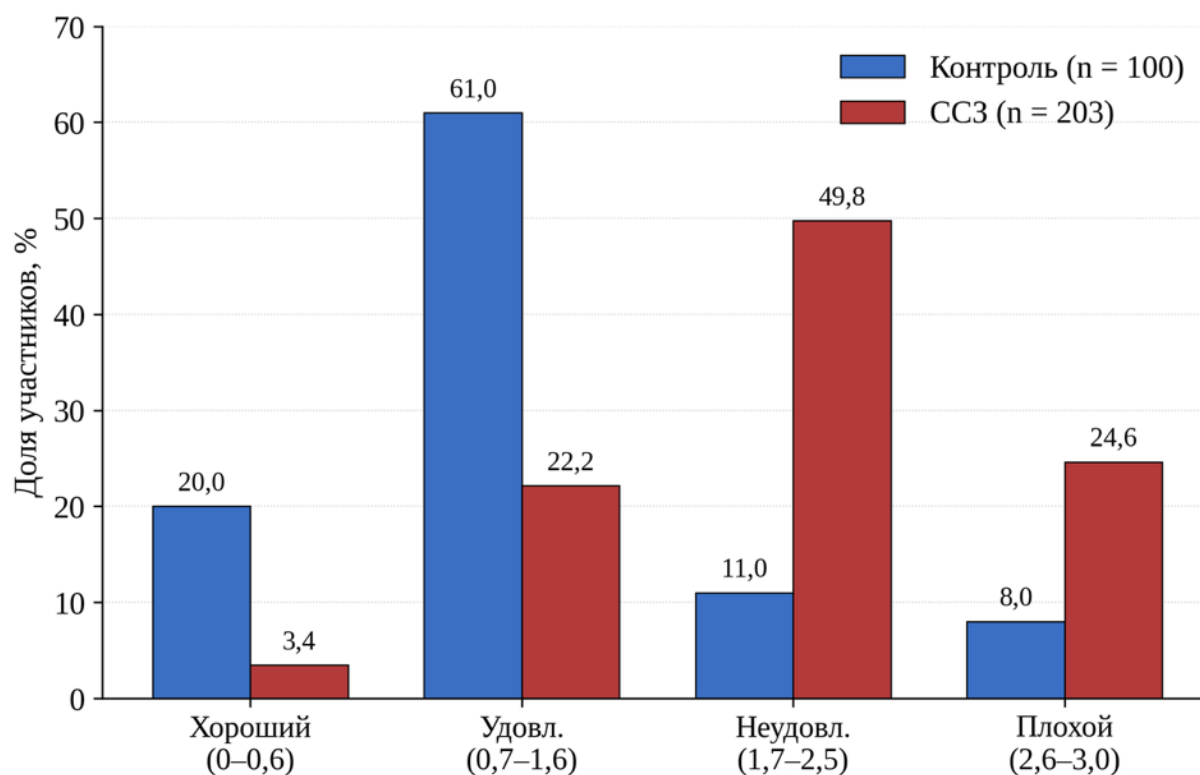


Рисунок 3.2 – Распределение участников по уровню гигиены полости рта (индекс ОHI-S) в группе ССЗ (n = 203) и контрольной группе (n = 100)

3.2.3. Выраженность ксеростомии и факторы, связанные со скоростью нестимулированного слюноотделения

Жалобы на сухость во рту были зарегистрированы у 179 из 219 пациентов с ССЗ (81,7 %) и у 22 из 100 участников контрольной группы (22,0 %) [11]. Различия между группами были статистически значимыми ($p < 0,001$).

При оценке выраженности ксеростомии у пациентов с ССЗ легкая степень была установлена у 21,0 %, умеренная – у 41,6 %, выраженная – у 19,2 % обследованных. Отсутствие ксеростомии по данным опросника отмечено у 18,3 % пациентов. Таким образом, среди пациентов с ССЗ наиболее часто регистрировалась умеренная степень ксеростомии.

Объективная оценка секреторной функции слюнных желез проводилась путем определения скорости нестимулированного слюноотделения. В группе пациентов с ССЗ медиана данного показателя составила 0,29 [0,18; 0,40] мл/мин, тогда как в контрольной группе – 0,42 [0,40; 0,44] мл/мин. Различия между группами были статистически значимыми ($p < 0,001$; U-критерий Манна–Уитни) [11]. Распределение значений скорости нестимулированного слюноотделения представлено на Рисунке 3.3.

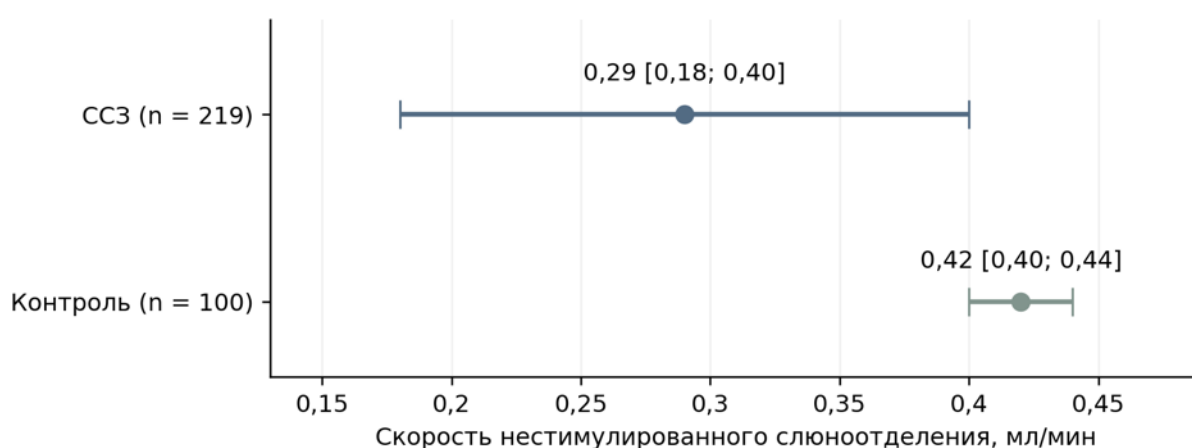


Рисунок 3.3 – Скорость нестимулированного слюноотделения у пациентов с ССЗ и участников контрольной группы, Me [Q1; Q3]

Для оценки факторов, ассоциированных со скоростью нестимулированного слюноотделения, у пациентов с ССЗ дополнительно анализировали взаимосвязь данного показателя с параметрами стоматологического статуса и медикаментозной нагрузкой.

Между скоростью нестимулированного слюноотделения и значением гигиенического показателя была выявлена слабая отрицательная корреляционная связь ($\rho = -0,29$; $p < 0,001$) [11]. Более низкие значения скорости слюноотделения ассоциировались с более высокими значениями гигиенического показателя.

Дополнительно оценивали связь скорости нестимулированного слюноотделения с числом одновременно принимаемых лекарственных препаратов. Выявлена отрицательная корреляционная связь между числом препаратов и скоростью нестимулированного слюноотделения ($\rho = -0,42$; $p < 0,001$): большее число препаратов было связано с более низкой скоростью слюноотделения [11].

3.3. Клинико-лабораторное исследование биомаркеров ротовой жидкости

3.3.1. С-реактивный белок

Характеристика подвыборки

Подвыборку для исследования СРБ составили 26 пациентов с ИБС. У каждого участника в один день были получены парные образцы нестимулированной РЖ и сыворотки крови и выполнено углубленное пародонтологическое обследование. Медианный возраст составил 60,5 [53,25; 65,50] лет. Мужчин и женщин было по 13 человек. Курение в анамнезе было зарегистрировано у 12 участников (46,2 %).

Хронический пародонтит был диагностирован у всех 26 пациентов. Средняя степень тяжести хронического пародонтита была установлена у 19 пациентов (73,1 %), тяжелая – у 7 пациентов (26,9 %). Клинические и пародонтологические характеристики представлены в Таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Клиническая и пародонтологическая характеристика подвыборки СРБ (n = 26)

Показатель	Значение
Возраст, лет, Ме [Q1; Q3]	60,5 [53,25; 65,50]
Пол, м/ж, n	13/13
Курение в анамнезе, n (%)	12 (46,2)
Скорость слюноотделения, мл/мин, Ме [Q1; Q3]	0,26 [0,17; 0,50]
BOP, %, Ме [Q1; Q3]	27,5 [16,25; 55,00]
PPD, мм, Ме [Q1; Q3]	4,35 [3,60; 4,60]
CAL, мм, Ме [Q1; Q3]	5,30 [4,20; 6,10]
Индекс гигиены (ОHI-S)	2,15 [2,00; 2,60]
Жалобы на кровоточивость десен, n (%)	16 (61,5)
Степень тяжести хронического пародонтита: средняя / тяжелая, n (%)	19 (73,1) / 7 (26,9)

Медиана индекса BOP составила 27,5 %, индивидуальные значения находились в пределах 11,0–71,0 %. Медианы PPD и CAL равнялись 4,35 и 5,30 мм соответственно. Скорость нестимулированного слюноотделения варьировала от 0,05 до 0,70 мл/мин при медиане 0,26 мл/мин.

Для оценки различий, связанных со степенью тяжести хронического пародонтита, пародонтологические показатели и концентрации СРБ в ротовой жидкости и сыворотке крови сопоставляли между пациентами со средней и тяжелой степенью заболевания. Результаты представлены в Таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Пародонтологические показатели и концентрации СРБ в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита в подвыборке СРБ (n = 26)

Показатель	Средняя степень (n = 19)	Тяжелая степень (n = 7)	p
CAL, мм, Ме [Q1; Q3]	4,70 [4,13; 5,48]	6,40 [6,30; 6,83]	< 0,001
PPD, мм, Ме [Q1; Q3]	3,80 [3,60; 4,50]	4,60 [4,43; 4,80]	0,015
BOP, %, Ме [Q1; Q3]	23,0 [14,25; 31,25]	56,0 [48,25; 62,00]	0,004
СРБ ротовой жидкости, нг/мл, Ме [Q1; Q3]	26,25 [5,71; 69,31]	160,36 [95,22; 245,54]	0,005
Сывороточный СРБ, мг/л, Ме [Q1; Q3]	4,80 [3,33; 8,30]	5,90 [4,75; 15,13]	0,225

У пациентов с тяжелой степенью хронического пародонтита медиана PPD составила 4,60 [4,43; 4,80] мм и была статистически значимо выше, чем у пациентов со средней степенью – 3,80 [3,60; 4,50] мм ($p = 0,015$). Медиана индекса BOP при тяжелой степени также была выше: 56,0 [48,25; 62,00] % против 23,0 [14,25; 31,25] % при средней степени ($p = 0,004$).

Концентрация СРБ ротовой жидкости при тяжелой степени хронического пародонтита была статистически значимо выше, чем при средней степени: 160,36 [95,22; 245,54] нг/мл против 26,25 [5,71; 69,31] нг/мл соответственно ($p = 0,005$). Для концентрации СРБ сыворотки крови статистически значимых различий между группами не выявлено: 5,90 [4,75; 15,13] мг/л при тяжелой степени и 4,80 [3,33; 8,30] мг/л при средней степени ($p = 0,225$).

Концентрации СРБ в ротовой жидкости и сыворотке крови

Медиана концентрации СРБ в ротовой жидкости составила 35,66 [13,68; 121,07] нг/мл при диапазоне значений 0,04–836,07 нг/мл. В сыворотке крови медиана концентрации СРБ составила 5,35 [3,40; 10,70] мг/л при диапазоне значений 1,50–68,60 мг/л. Основные описательные характеристики представлены в Таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Концентрации СРБ в ротовой жидкости и сыворотке крови (n = 26)

Показатель	Me [Q1; Q3]	Минимум	Максимум
СРБ ротовой жидкости, нг/мл	35,66 [13,68; 121,07]	0,04	836,07
СРБ сыворотки крови, мг/л	5,35 [3,40; 10,70]	1,50	68,60

Распределение концентраций СРБ в РЖ и сыворотке крови было правосторонне асимметричным. По критерию Шапиро–Уилка статистика W составила 0,632 для СРБ РЖ и 0,574 для сывороточного СРБ; в обоих случаях распределение статистически значимо отличалось от нормального ($p < 0,001$). В последующем регрессионном анализе концентрации СРБ преобразовывали по функции $\ln(\text{СРБ} + 1)$.

Статистически значимых различий концентрации СРБ РЖ в зависимости от пола не выявлено: медиана у женщин составила 36,07 [14,25; 86,61] нг/мл, у мужчин – 35,25 [13,68; 121,07] нг/мл ($p = 0,980$). Между концентрацией СРБ в РЖ и скоростью нестимулированного слюноотделения статистически значимой корреляции также не выявлено ($r = -0,088$; $p = 0,668$). В связи с отсутствием выявленной ассоциации скорость нестимулированного слюноотделения в последующие регрессионные модели СРБ не включали.

Корреляционный анализ

Между концентрациями СРБ в сыворотке крови и ротовой жидкости выявлена заметная положительная корреляционная связь ($r = 0,662$; $p < 0,001$), соответствующая градации по шкале Чеддока. Простая линейная регрессия на логарифмически преобразованных переменных была описана уравнением $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1) = 1,189 + 1,158 \cdot \ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ при коэффициенте детерминации $R^2 = 0,328$ (Рисунок 3.4). Одномерная модель с $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ объясняла 32,8 % вариабельности $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$; оставшиеся 67,2 % вариабельности данной моделью не объяснялись. Пациенты с сывороточным СРБ не ниже 5 мг/л ($n = 14$) имели более высокую кровоточивость при зондировании, чем пациенты с сывороточным

СРБ ниже 5 мг/л ($n = 12$): медиана индекса ВОР 44,0 % [27,5; 57,5] против 17,5 % [14,75; 25,25] ($p = 0,037$); по возрасту и полу подгруппы не различались ($p = 0,456$ и $p = 0,695$).

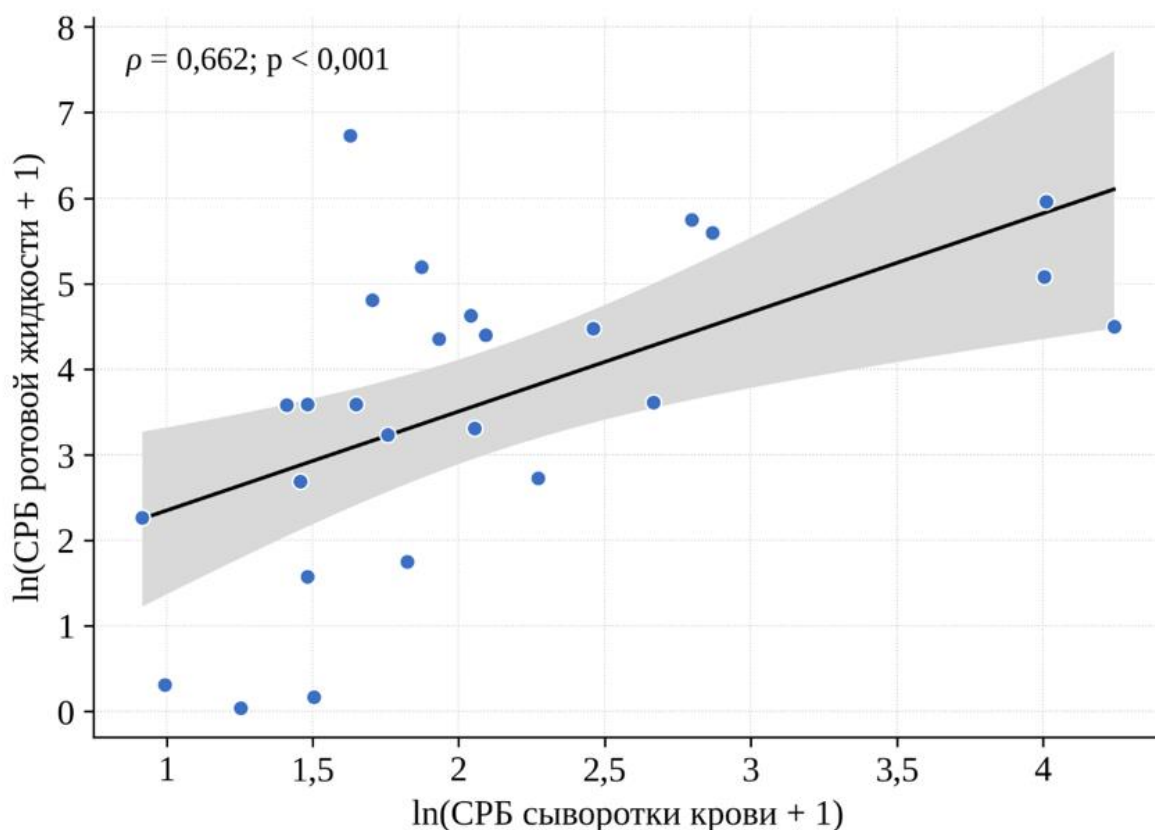


Рисунок 3.4 – Зависимость $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ от $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ ($n = 26$)

Наибольшее значение коэффициента корреляции среди исследованных попарных связей было отмечено между индексом ВОР и концентрацией СРБ ротовой жидкости: $\rho = 0,820$ ($p < 0,001$). В однофакторной линейной регрессионной модели с зависимой переменной $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ коэффициент регрессии для индекса ВОР составил $B = 0,072$ ($SE = 0,011$; $p < 0,001$), $R^2 = 0,649$. Увеличение индекса ВОР на 10 процентных пунктов соответствовало увеличению (СРБ ротовой жидкости + 1) приблизительно в 2,05 раза (Рисунок 3.5). Статистически значимые положительные корреляции концентрации СРБ ротовой жидкости выявлены также с CAL ($\rho = 0,604$; $p = 0,001$)

и PPD ($\rho = 0,655$; $p < 0,001$). Корреляция с индексом ОНІ-S статистической значимости не достигала ($\rho = 0,316$; $p = 0,116$).

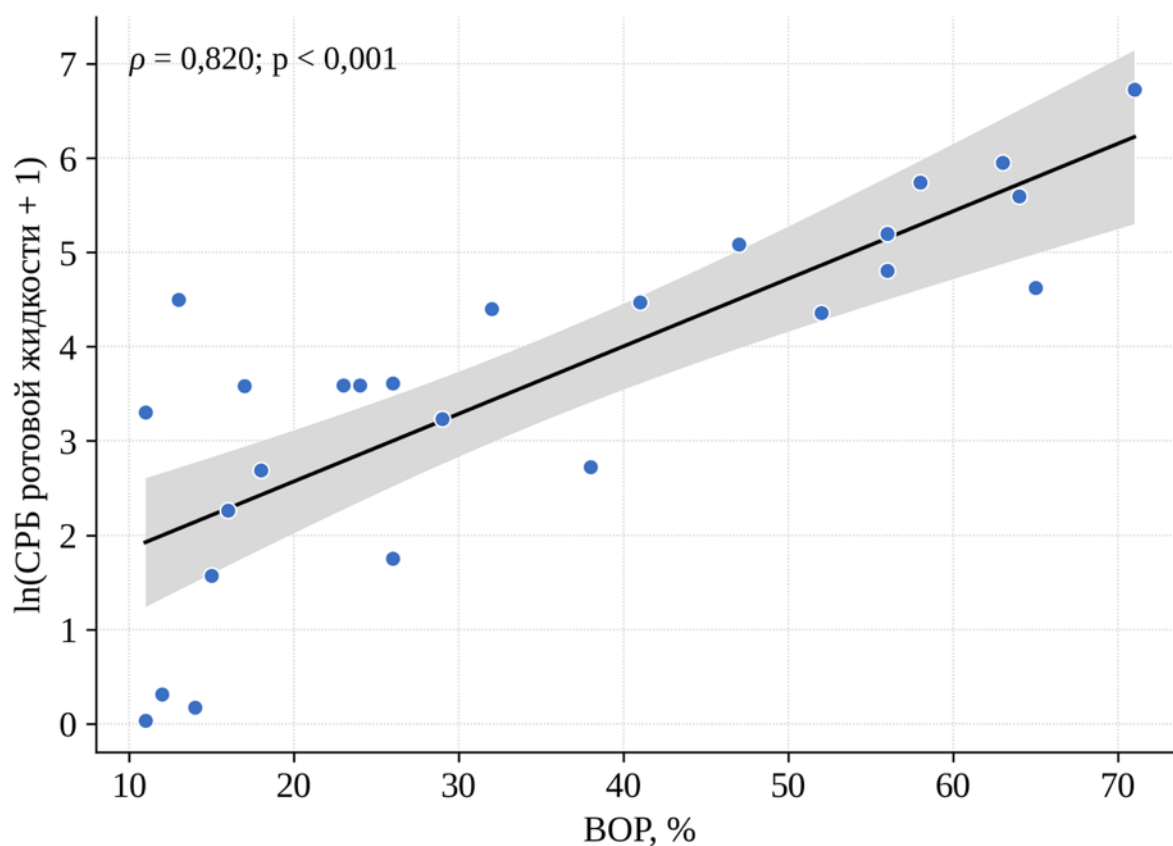


Рисунок 3.5 – Зависимость $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ от индекса ВОР ($n = 26$)

В четырехгрупповой подвыборке ($n = 83$) также была выявлена положительная корреляция между индексом ВОР и концентрацией СРБ ротовой жидкости ($\rho = 0,807$; $p < 0,001$).

При дополнительной двухкатегориальной стратификации по индексу ОНІ-S удовлетворительный уровень гигиены (0,7–1,6 балла) был зарегистрирован у 4 пациентов, тогда как значения индекса ОНІ-S в диапазоне 1,7–3,0 балла, соответствующие неудовлетворительному или плохому уровню гигиены, – у 22 пациентов. Медиана концентрации СРБ ротовой жидкости составила соответственно 2,09 [0,28; 9,43] нг/мл и 78,64 [26,98; 150,54] нг/мл. Различия между группами были статистически значимыми (точный двусторонний U-критерий Манна–Уитни: $U = 8,0$; $p = 0,007$).

Многофакторный анализ и анализ устойчивости

Для одновременной оценки вклада системного воспаления и пародонтального статуса в концентрацию СРБ ротовой жидкости была построена многофакторная линейная регрессионная модель. Зависимой переменной служил $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$, предикторами – $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$, индекс ВОР и индекс ОНІ-S. Состав предикторов был задан априорно с ограничением их числа. Модель была статистически значимой: $F(3; 22) = 22,12$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,751$; скорректированный $R^2 = 0,717$. По сравнению с однофакторной моделью, включавшей только $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$, значение R^2 увеличилось на 0,423, то есть на 42,3 процентного пункта. Статистически значимых признаков гетероскедастичности остатков не выявлено (тест Бреуша–Пагана: $p = 0,389$). Коэффициенты модели представлены в Таблице 3.9.

Таблица 3.9 – Коэффициенты многофакторной линейной регрессии для $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ ($n = 26$)

Переменная	B	SE	95 % ДИ	p	VIF	Частный R^2 , %
Константа	-0,731	0,932	[-2,660; 1,200]	0,441	–	–
$\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$	0,635	0,232	[0,154; 1,115]	0,012	1,16	25,4
ВОР, %	0,056	0,011	[0,033; 0,079]	$< 0,001$	1,40	53,3
ОНІ-S, баллы (0–3)	0,497	0,438	[-0,412; 1,405]	0,269	1,25	5,5
Примечание: B – нестандартизованный коэффициент регрессии; SE – стандартная ошибка коэффициента; частный R^2 – частный коэффициент детерминации						

В основной многофакторной модели статистически значимая независимая положительная ассоциация с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ была выявлена для индекса ВОР ($B = 0,056$; 95 % ДИ [0,033; 0,079]; $p < 0,001$; частный $R^2 = 53,3$ %) и $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ ($B = 0,635$; 95 % ДИ [0,154; 1,115]; $p = 0,012$; частный $R^2 = 25,4$ %). Для индекса ОНІ-S статистически значимой независимой

ассоциации не выявлено ($B = 0,497$; 95 % ДИ $[-0,412; 1,405]$; $p = 0,269$; частный $R^2 = 5,5$ %). Точечная оценка частного R^2 для индекса ВОР была выше, чем для СРБ сыворотки крови.

В качестве анализа чувствительности была выполнена робастная линейная регрессия с М-оценкой Хьюбера. Результаты подтвердили устойчивость основных ассоциаций: $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ сохранял статистически значимую положительную связь с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ ($B = 0,643$; $p = 0,005$), как и индекс ВОР ($B = 0,047$; $p < 0,001$). Для индекса ОНІ-S статистически значимой независимой ассоциации не выявлено ($B = 0,807$; $p = 0,060$).

В расширенной модели с дополнительным учетом возраста, пола, курения, приема статинов и антиагрегантов статистически значимая положительная ассоциация сохранялась как для индекса ВОР ($B = 0,058$; 95 % ДИ $[0,031; 0,085]$; $p < 0,001$), так и для $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ ($B = 0,546$; 95 % ДИ $[0,030; 1,061]$; $p = 0,039$). Для приема антиагрегантов коэффициент регрессии был отрицательным, однако ассоциация не достигала принятого уровня статистической значимости ($B = -0,911$; 95 % ДИ $[-1,826; 0,004]$; $p = 0,051$). Для индекса ОНІ-S, возраста, пола, курения и приема статинов статистически значимых независимых ассоциаций с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ не выявлено. Параметры расширенной модели представлены в Таблице 3.10.

Таблица 3.10 – Расширенная многофакторная модель для $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ с учетом потенциальных смешивающих факторов ($n = 26$)

Переменная	B	SE	95 % ДИ	p	VIF
Константа	-0,767	2,092	$[-5,180; 3,646]$	0,718	–
$\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$	0,546	0,244	$[0,030; 1,061]$	0,039	1,35
ВОР, %	0,058	0,013	$[0,031; 0,085]$	$< 0,001$	1,95
ОНІ-S, баллы (0–3)	0,596	0,526	$[-0,514; 1,706]$	0,273	1,89
Возраст, лет	0,010	0,021	$[-0,035; 0,054]$	0,653	1,42

Продолжение Таблицы 3.10

Пол	0,391	0,583	[−0,839; 1,621]	0,511	2,56
Курение когда-либо	−0,123	0,578	[−1,343; 1,098]	0,835	2,42
Прием статинов	−0,184	0,475	[−1,186; 0,819]	0,704	1,04
Прием антиагрегантов	−0,911	0,434	[−1,826; 0,004]	0,051	1,20
Примечание: Пол, курение когда-либо, прием статинов и антиагрегантов кодировали как бинарные переменные (1 – наличие признака, 0 – отсутствие; для пола 1 – мужской, 0 – женский)					

Для наглядного сопоставления устойчивости основных ассоциаций коэффициенты индекса ВОР и сывороточного СРБ в основной и расширенной моделях представлены на Рисунке 3.6.

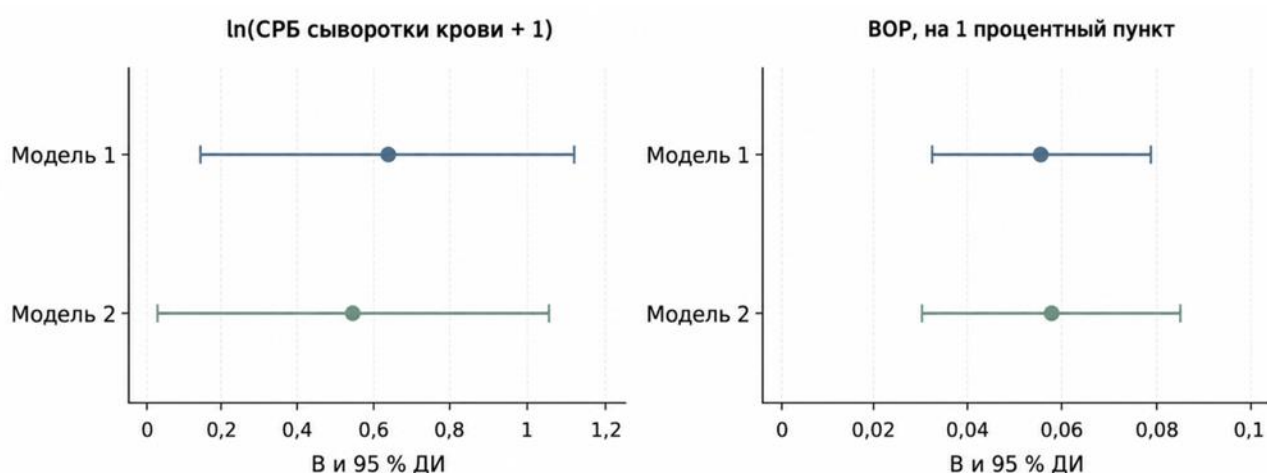


Рисунок 3.6 – Коэффициенты индекса ВОР и $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ в основной и расширенной моделях для $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$

При включении дополнительных ковариат оценки коэффициентов основных предикторов существенно не изменялись и сохраняли прежнее направление: для индекса ВОР В составил 0,056 в основной и 0,058 в расширенной модели, для $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ – 0,635 и 0,546 соответственно. В обеих моделях 95 % доверительные интервалы коэффициентов индекса ВОР и сывороточного СРБ не включали нулевое значение.

В подвыборке из 26 пациентов дискриминационную способность концентрации СРБ ротовой жидкости оценивали методом ROC-анализа в отношении двух бинарных исходов: индекс ВОР > 30 % и концентрации СРБ в сыворотке крови ≥ 5 мг/л. В данном анализе для построения ROC-кривой индекса ВОР представляли как бинарный показатель с пороговым значением 30 %; в корреляционном и регрессионном анализе его рассматривали как непрерывную переменную. Результаты представлены в Таблице 3.11.

Исход (выборка)	AUC	95 % ДИ	Порог, нг/мл	Чувствительность, %	Специфичность, %	J
ВОР > 30 %	0,940	0,853– 1,000	76,89	91,7	92,9	0,845
Сывороточный СРБ $\geq$ 5 мг/л	0,786	0,608– 0,964	36,07	78,6	83,3	0,619

Примечание: J – индекс Юдена; пороговые значения определяли по максимальному значению J

Для исхода индекса $\text{BOP} > 30\%$ площадь под ROC-кривой составила 0,940 (95 % ДИ 0,853–1,000). Пороговому значению СРБ РЖ 76,89 нг/мл соответствовали чувствительность 91,7 % и специфичность 92,9 %; индекс Юдена составил 0,845.

При оценке диагностической способности СРБ ротовой жидкости в отношении концентрации СРБ в сыворотке крови ≥ 5 мг/л площадь под ROC-кривой составила 0,786 (95 % ДИ 0,608–0,964). При пороговом значении СРБ ротовой жидкости 36,07 нг/мл чувствительность составила 78,6 %, специфичность – 83,3 %, индекс Юдена – 0,619.

3.3.2. МВ-фракция креатинфосфокиназы

Подвыборка для исследования КФК-МВ включала 20 пациентов с ИБС и хроническим пародонтитом: 15 со средней и 5 с тяжелой степенью заболевания. Медиана возраста составила 63,5 [56,0; 69,5] года. В исследование вошли 11 мужчин (55,0 %) и 9 женщин (45,0 %).

Значения КФК-МВ выше номинального предела обнаружения набора (0,182 нг/мл) были получены в ротовой жидкости у 18 из 20 пациентов (90,0 %), в сыворотке крови – у 19 из 20 пациентов (95,0 %). Медиана концентрации КФК-МВ составила 2,15 [0,86; 3,14] нг/мл в ротовой жидкости и 2,15 [0,86; 5,02] нг/мл в сыворотке крови. Максимальные значения составили 9,88 и 14,63 нг/мл соответственно. Основные клинико-лабораторные показатели представлены в Таблице 3.12.

Таблица 3.12 – Клинико-лабораторные показатели в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита в подвыборке КФК-МВ (n = 20)

Показатель	Все пациенты, n = 20	Средняя степень, n = 15	Тяжелая степень, n = 5	p
КФК-МВ РЖ, нг/мл	2,15 [0,86; 3,14]	1,55 [0,41; 2,49]	3,34 [2,79; 5,12]	0,021
КФК-МВ сыворотки, нг/мл	2,15 [0,86; 5,02]	2,54 [0,81; 5,07]	2,15 [0,96; 5,27]	0,793
PPD, мм	4,35 [4,20; 4,95]	4,20 [4,13; 4,40]	5,20 [5,00; 5,23]	0,001
CAL, мм	5,35 [4,95; 5,90]	5,20 [4,80; 5,48]	6,30 [6,08; 6,68]	0,001
ВОР, %	39,0 [30,5; 50,0]	38,0 [28,5; 48,0]	49,0 [37,5; 58,8]	0,149
ОHI-S, баллы	2,00 [1,50; 2,30]	1,70 [1,35; 2,18]	2,30 [2,03; 2,40]	0,125
Скорость слюноотделения, мл/мин	0,32 [0,25; 0,50]	0,43 [0,22; 0,50]	0,31 [0,29; 0,44]	1,000
Примечание: Количественные показатели представлены как Ме [Q1; Q3]; p-значения рассчитаны с использованием двустороннего U-критерия Манна–Уитни				

У пациентов с тяжелой степенью хронического пародонтита медиана концентрации КФК-МВ в ротовой жидкости составляла 3,34 [2,79; 5,12] нг/мл и превышала соответствующий показатель при средней степени тяжести – 1,55 [0,41; 2,49] нг/мл ($p = 0,021$). В то же время сывороточный уровень КФК-МВ между группами статистически значимо не различался ($p = 0,793$). Значения ВОР, ОHI-S и скорости нестимулированного слюноотделения между группами статистически значимо не различались.

Концентрации КФК-МВ в ротовой жидкости и сыворотке крови не демонстрировали значимой корреляции ($p = 0,118$; $p = 0,621$). В то же время повышение уровня КФК-МВ в ротовой жидкости было связано с увеличением PPD ($p = 0,660$; $p = 0,002$) и CAL ($p = 0,673$; $p = 0,001$). Для ВОР, ОHI-S, скорости нестимулированного слюноотделения и возраста подобных взаимосвязей не установлено ($p > 0,05$).

Для оценки выявленных ассоциаций после учета концентрации КФК-МВ в сыворотке крови были построены отдельные многофакторные линейные регрессионные модели для PPD и CAL. Коэффициент детерминации составил $R^2 = 0,417$ (скорректированный $R^2 = 0,348$) для модели с PPD и $R^2 = 0,559$ (скорректированный $R^2 = 0,507$) для модели с CAL. Коэффициенты моделей представлены в Таблице 3.13.

Таблица 3.13 – Коэффициенты многофакторных линейных регрессионных моделей для $\ln(\text{КФК-МВ ротовой жидкости} + 1)$ ($n = 20$)

Переменная	B	SE	95 % ДИ	p	VIF	Частный R^2 , %
Модель 1: PPD						
Константа	-3,018	1,172	[-5,490; -0,545]	0,020	–	–
$\ln(\text{КФК-МВ сыворотки крови} + 1)$	0,033	0,143	[-0,269; 0,335]	0,819	1,00	0,3
PPD, мм	0,888	0,256	[0,348; 1,427]	0,003	1,00	41,5
Модель 2: CAL						
Константа	-2,578	0,791	[-4,248; -0,908]	0,005	–	–
$\ln(\text{КФК-МВ сыворотки крови} + 1)$	0,045	0,124	[-0,218; 0,307]	0,723	1,00	0,8
CAL, мм	0,651	0,141	[0,354; 0,949]	< 0,001	1,00	55,7
Примечание: B – нестандартизованный коэффициент регрессии; SE – стандартная ошибка коэффициента; частный R^2 – частный коэффициент детерминации						

В соответствующих моделях PPD и CAL сохраняли статистически значимые положительные ассоциации с концентрацией КФК-МВ в ротовой жидкости после учета концентрации КФК-МВ в сыворотке крови. При этом сывороточная концентрация КФК-МВ статистически значимой ассоциации с зависимой переменной ни в одной из моделей не имела.

3.4. Четырехгрупповое клинико-лабораторное исследование

3.4.1. Характеристика клинических групп

В четырехгрупповую аналитическую подвыборку вошли 83 участника. Контрольную группу без ИБС и хронического пародонтита составили 20 человек, группу изолированного хронического пародонтита – 20, группу изолированной ИБС – 22, группу сочетания ИБС и хронического пародонтита – 21 участник. Клинико-демографические характеристики групп представлены в Таблице 3.14.

Таблица 3.14 – Клинико-демографическая характеристика четырех групп (n = 83) [73]

Показатель	Контроль (n = 20)	Хронический пародонтит (n = 20)	ИБС (n = 22)	ИБС + хронический пародонтит (n = 21)	p
Возраст, лет, Me [Q1; Q3]	53,0 [50,0; 55,5]	56,5 [51,5; 61,2]	61,0 [54,0; 62,0]	60,0 [55,0; 63,0]	0,084
Мужчины / женщины, n	10 / 10	9 / 11	8 / 14	10 / 11	0,821
ИМТ, кг/м ² , Me [Q1; Q3]	25,30 [23,62; 27,12]	27,95 [25,73; 29,23]	28,35 [27,00; 28,95]	28,30 [26,10; 29,50]	0,097
Курение, n (%)	5 (25,0)	8 (40,0)	11 (50,0)	9 (42,9)	0,413
Сахарный диабет, n (%)	0 (0)	6 (30,0)	3 (13,6)	5 (23,8)	0,060

Медиана возраста составила 53,0 [50,0; 55,5] года в контрольной группе, 56,5 [51,5; 61,2] года при изолированном хроническом пародонтите, 61,0 [54,0; 62,0] года при изолированной ИБС и 60,0 [55,0; 63,0] года при сочетании ИБС и хронического пародонтита. Статистически значимых межгрупповых различий по возрасту, полу и ИМТ не выявлено (p = 0,084; p = 0,821 и p = 0,097

соответственно). Доля курящих участников составляла от 25,0 % в контрольной группе до 50,0 % в группе изолированной ИБС; межгрупповые различия статистической значимости не достигали ($p = 0,413$). Сахарный диабет отмечен у 6 пациентов с изолированным хроническим пародонтитом, у 3 – с изолированной ИБС и у 5 – с сочетанием ИБС и хронического пародонтита, тогда как среди участников контрольной группы случаев данного заболевания не было ($p = 0,060$).

3.4.2. Пародонтологические показатели, скорость нестимулированного слюноотделения и концентрация С-реактивного белка в ротовой жидкости

При сравнении четырех групп различия были выявлены по индексу ОНI-S, CAL, PPD, индексу BOP, скорости нестимулированного слюноотделения и концентрации СРБ РЖ ($p < 0,001$ для каждого показателя). Медианы и межквартильные интервалы приведены в Таблице 3.15 и на Рисунке 3.7.

Таблица 3.15 – Стоматологические показатели, скорость нестимулированного слюноотделения и концентрация СРБ ротовой жидкости в четырех клинических группах ($n = 83$) [73]

Показатель	Контроль ($n = 20$)	Хронический пародонтит ($n = 20$)	ИБС ($n = 22$)	ИБС + хронический пародонтит ($n = 21$)	p
Индекс ОНI-S, Me [Q1; Q3]	0,75 [0,56; 1,01]	2,12 [1,75; 2,36]	1,33 [0,99; 1,68]	2,30 [2,10; 2,58]	$< 0,001$
CAL, мм, Me [Q1; Q3]	0,45 [0,30; 0,60]	5,65 [4,17; 6,12]	1,20 [0,90; 1,20]	6,20 [5,70; 6,70]	$< 0,001$

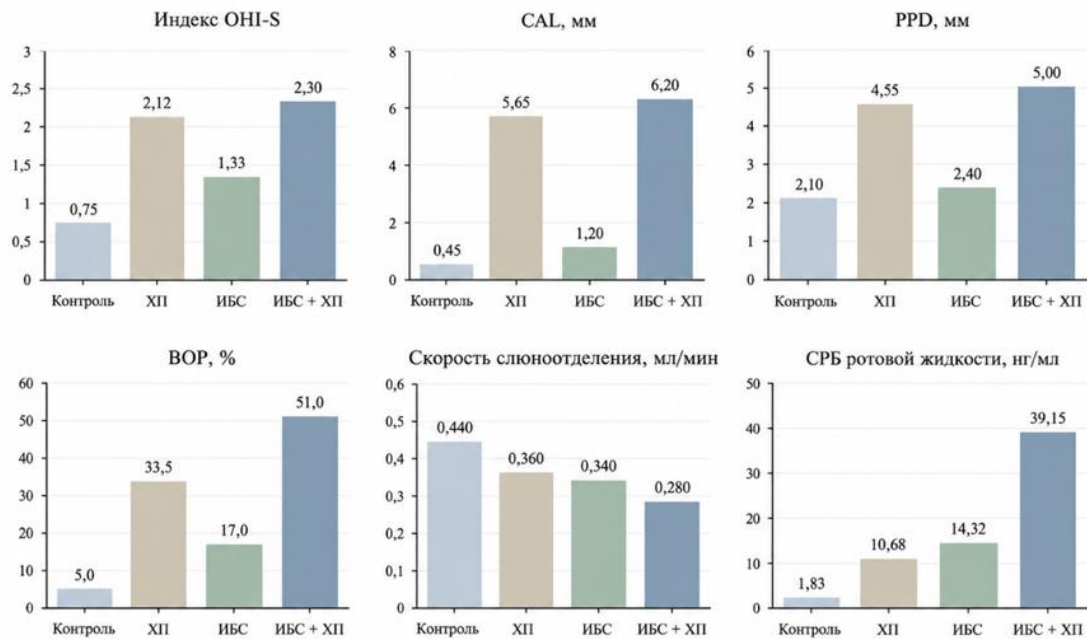
Продолжение Таблицы 3.15

PPD, мм, Ме [Q1; Q3]	2,10 [1,90; 2,42]	4,55 [3,77; 4,93]	2,40 [2,23; 2,50]	5,00 [4,60; 5,20]	< 0,001
ВОР, %, Ме [Q1; Q3]	5,0 [3,0; 6,25]	33,5 [29,75; 40,75]	17,0 [13,25; 20,25]	51,0 [41,0; 61,0]	< 0,001
Скорость слюноотделения, мл/мин, Ме [Q1; Q3]	0,440 [0,415; 0,470]	0,360 [0,300; 0,372]	0,340 [0,300; 0,367]	0,280 [0,240; 0,300]	< 0,001
СРБ ротовой жидкости, нг/мл, Ме [Q1; Q3]	1,83 [1,50; 3,02]	10,68 [6,81; 13,90]	14,32 [10,33; 19,48]	39,15 [25,49; 121,21]	< 0,001

Значения индекса ОНI-S статистически значимо различались между группами ($p < 0,001$). Медиана индекса ОНI-S составила 0,75 [0,56; 1,01] балла в контрольной группе, 2,12 [1,75; 2,36] балла при изолированном хроническом пародонтите, 1,33 [0,99; 1,68] балла при изолированной ИБС и 2,30 [2,10; 2,58] балла при сочетании ИБС и хронического пародонтита.

Медиана CAL составила 5,65 [4,17; 6,12] мм при изолированном хроническом пародонтите и 6,20 [5,70; 6,70] мм при сочетании ИБС и хронического пародонтита. В контрольной группе и в группе изолированной ИБС соответствующие значения составили 0,45 [0,30; 0,60] и 1,20 [0,90; 1,20] мм. Медиана PPD достигала 5,00 [4,60; 5,20] мм при сочетании ИБС и хронического пародонтита; при изолированном хроническом пародонтите она составляла 4,55 [3,77; 4,93] мм, при изолированной ИБС – 2,40 [2,23; 2,50] мм, в контрольной группе – 2,10 [1,90; 2,42] мм.

Наибольшая медиана индекса ВОР была зарегистрирована при сочетании ИБС и хронического пародонтита – 51,0 [41,0; 61,0] %. При изолированном хроническом пародонтите она составила 33,5 [29,75; 40,75] %, при изолированной ИБС – 17,0 [13,25; 20,25] %, в контрольной группе – 5,0 [3,0; 6,25] %.



Примечание: ХП – хронический пародонтит

Рисунок 3.7 – Стоматологические показатели, скорость нестимулированного слюноотделения и концентрация СРБ ротовой жидкости в четырех клинических группах (n = 83)

Скорость нестимулированного слюноотделения была наибольшей в контрольной группе – 0,440 [0,415; 0,470] мл/мин. При изолированном хроническом пародонтите медиана составляла 0,360 [0,300; 0,372] мл/мин, при изолированной ИБС – 0,340 [0,300; 0,367] мл/мин, а при сочетании ИБС и хронического пародонтита – 0,280 [0,240; 0,300] мл/мин. При попарных сравнениях контрольная группа отличалась от каждой из трех клинических групп ($p < 0,001$ для каждого сравнения). Между группами изолированного хронического пародонтита и изолированной ИБС статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,604$). В группе сочетания ИБС и хронического пародонтита скорость нестимулированного слюноотделения была ниже, чем при изолированном хроническом пародонтите ($p < 0,001$) и изолированной ИБС ($p < 0,001$). Попарные сравнения выполняли U-критерием Манна–Уитни с поправкой Холма.

Концентрация СРБ в ротовой жидкости также статистически значимо различалась между четырьмя группами. Медиана составляла 1,83 [1,50; 3,02]

нг/мл в контрольной группе, 10,68 [6,81; 13,90] нг/мл при изолированном хроническом пародонтите, 14,32 [10,33; 19,48] нг/мл при изолированной ИБС и 39,15 [25,49; 121,21] нг/мл при сочетании ИБС и хронического пародонтита [73]. Все три клинические группы отличались от контрольной группы ($p < 0,001$ для каждого сравнения). В группе сочетанной патологии концентрация СРБ РЖ была выше, чем при изолированном хроническом пародонтите и изолированной ИБС ($p < 0,001$ для обоих сравнений). Различие между группами изолированного хронического пародонтита и изолированной ИБС также достигало статистической значимости после поправки Холма ($p = 0,048$).

В общей четырехгрупповой подвыборке между индексом ВОР и концентрацией СРБ РЖ была установлена положительная корреляция ($\rho = 0,807$; $p < 0,001$).

Многофакторный анализ

Для оценки самостоятельных ассоциаций ИБС и хронического пародонтита с концентрацией СРБ в ротовой жидкости была построена многофакторная линейная регрессионная модель. В качестве зависимой переменной использовали $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$. ИБС и хронический пародонтит вводили в модель как бинарные предикторы; дополнительно выполняли поправку на возраст, пол, ИМТ, курение и наличие сахарного диабета. Скорректированный коэффициент детерминации модели составил 0,692. Коэффициенты основных предикторов представлены в Таблице 3.16.

Таблица 3.16 – Ассоциации ИБС и хронического пародонтита с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ в многофакторной модели ($n = 83$) [73]

Предиктор	В	95 % ДИ	p
ИБС	1,68	[1,361; 2,001]	$< 0,001$
Хронический пародонтит	1,33	[1,016; 1,678]	$< 0,001$
Примечание: В – нестандартизованный коэффициент регрессии; модель скорректирована по возрасту, полу, ИМТ, статусу курения и наличию сахарного диабета			

После поправки на возраст, пол, ИМТ, курение и сахарный диабет положительная ассоциация с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ сохранялась как для ИБС ($B = 1,68$; 95 % ДИ $[1,361; 2,001]$; $p < 0,001$), так и для хронического пародонтита ($B = 1,33$; 95 % ДИ $[1,016; 1,678]$; $p < 0,001$). Возраст, пол, ИМТ, курение и наличие сахарного диабета в данной модели статистически значимых ассоциаций с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ не показали (все $p > 0,05$).

Дополнительно в четырехгрупповой подвыборке оценивали дискриминационную способность концентрации СРБ в ротовой жидкости в отношении индекса $\text{ВОР} > 30$ %. Площадь под ROC-кривой составила 0,860 (95 % ДИ 0,773–0,946). Пороговое значение СРБ ротовой жидкости, определенное по максимальному индексу Юдена, составило 12,40 нг/мл; ему соответствовали чувствительность 82,9 %, специфичность 70,8 % и индекс Юдена 0,537.

3.4.3. Показатели в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита

В анализ степени тяжести хронического пародонтита вошел 41 пациент: 20 – с изолированным хроническим пародонтитом и 21 – с сочетанием ИБС и хронического пародонтита. У 23 пациентов (56,1 %) диагностирована средняя степень тяжести заболевания, у 18 (43,9 %) – тяжелая.

Пародонтологические показатели и концентрацию СРБ ротовой жидкости сопоставляли у пациентов со средней и тяжелой степенью хронического пародонтита. Результаты представлены в Таблице 3.17.

Таблица 3.17 – Пародонтологические показатели и концентрация СРБ ротовой жидкости в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита (n = 41)

Показатель	Средняя степень (n = 23)	Тяжелая степень (n = 18)	p
CAL, мм, Ме [Q1; Q3]	5,30 [4,05; 5,70]	6,50 [6,25; 7,08]	< 0,001
PPD, мм, Ме [Q1; Q3]	4,30 [3,65; 4,60]	5,20 [5,03; 5,40]	< 0,001
BOP, %, Ме [Q1; Q3]	38,0 [31,0; 49,0]	54,0 [40,0; 64,0]	0,006
СРБ ротовой жидкости, нг/мл, Ме [Q1; Q3]	15,03 [7,53; 22,84]	32,19 [17,23; 133,68]	0,004

У пациентов с тяжелой степенью хронического пародонтита медианы CAL и PPD были выше, чем у пациентов со средней степенью: 6,50 [6,25; 7,08] против 5,30 [4,05; 5,70] мм и 5,20 [5,03; 5,40] против 4,30 [3,65; 4,60] мм соответственно ($p < 0,001$ для обоих показателей). Медиана индекса BOP при тяжелой степени также была выше и составила 54,0 [40,0; 64,0] % против 38,0 [31,0; 49,0] % при средней степени ($p = 0,006$).

Концентрация СРБ ротовой жидкости при тяжелой степени хронического пародонтита составила 32,19 [17,23; 133,68] нг/мл и была статистически значимо выше, чем при средней степени – 15,03 [7,53; 22,84] нг/мл ($p = 0,004$).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ротовая жидкость используется для неинвазивного определения широкого спектра соединений, в том числе белковых биомаркеров воспаления и ряда показателей, традиционно исследуемых в крови [170]. Возможность получать образцы без венепункции представляет интерес при длительном наблюдении пациентов с хроническими заболеваниями, включая сердечно-сосудистую патологию. При этом интерпретация результатов исследования ротовой жидкости имеет ряд особенностей. На концентрацию аналита могут влиять способ и продолжительность сбора, скорость слюноотделения, время суток, условия первичной обработки и хранения образца [47, 155, 156, 179]. Для части биомаркеров дополнительное значение имеет стоматологический статус.

СРБ присутствует в ротовой жидкости, и одним из предполагаемых путей его поступления из системного кровотока является десневая жидкость [82, 171]. В условиях воспаления пародонта локальные изменения в полости рта могут влиять на концентрацию СРБ ротовой жидкости и тем самым изменять ее соотношение с сывороточным уровнем [99, 128, 181]. Современные данные также указывают на возможность локальной продукции СРБ в тканях полости рта [171]. Таким образом, концентрация СРБ в ротовой жидкости может отражать одновременно системный и локальный пародонтальный компоненты воспаления.

Кроме того, поведенческие факторы способны влиять на состояние тканей пародонта и характеристики ротовой жидкости [140, 197]. Отсутствие учета потенциальных смешивающих факторов может обусловить систематическое смещение полученных результатов и их некорректную интерпретацию.

Отдельную методологическую проблему представляет перенос ИФА-наборов, валидированных для сыворотки или плазмы крови, на ротовую жидкость. Ротовая жидкость содержит муцины, ферменты, иммуноглобулины, клеточные элементы, бактериальные компоненты и десневую жидкость, что способно влиять на результаты иммуноферментного анализа [155]. Поэтому при исследовании биомаркеров ротовой жидкости необходимы стандартизация

преаналитического этапа и предварительная оценка аналитической пригодности используемой тест-системы для данной биологической среды.

С учетом указанных методологических и клинических факторов исследование было построено в несколько этапов. На методическом этапе у 21 пациента сопоставляли четыре способа получения ротовой жидкости. Итоговая клиническая совокупность основного клинико-лабораторного этапа составила 339 участников: 219 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, 100 лиц контрольной группы и 20 пациентов с хроническим пародонтитом без сердечно-сосудистой патологии. Отдельные аналитические блоки включали парное исследование СРБ в ротовой жидкости и сыворотке крови у 26 пациентов, исследование КФК-МВ у 20 пациентов и четырехгрупповое сопоставление 83 участников с различными сочетаниями ИБС и хронического пародонтита. Такой дизайн позволил последовательно рассмотреть сначала преаналитический этап, а затем клинические факторы, способные менять смысл получаемого лабораторного результата.

В нашем исследовании концентрация обоих исследованных белков различалась в зависимости от способа получения материала. Для СРБ медиана составляла 29,56 нг/мл при использовании метода пассивного слюноотечения и 27,25 нг/мл при использовании метода сплевывания, снижалась до 19,00 нг/мл при использовании абсорбционного метода и до 9,50 нг/мл при использовании метода сбора стимулированной ротовой жидкости. Для КФК-МВ медианные концентрации составляли соответственно 1,63; 1,42; 0,99 и 0,49 нг/мл. Между методом пассивного слюноотечения и методом сплевывания статистически значимых различий концентраций СРБ и КФК-МВ не выявлено ($p = 0,122$ и $p = 0,170$ соответственно).

Этот результат согласуется с данными о том, что способ получения является самостоятельной преаналитической переменной. Стимулированная и нестимулированная ротовая жидкость различаются по скорости секреции и составу; сорбирующие устройства также могут изменять измеряемую концентрацию отдельных белков [156, 179]. Al Nabobe и соавт. показали, что

величина и даже направление такого влияния зависят от конкретного исследуемого анализита [180]. Поэтому результаты, полученные разными способами получения, нельзя считать полностью взаимозаменяемыми.

При использовании метода сбора стимулированной ротовой жидкости объем полученного материала увеличивался примерно в 4,5 раза – с 1,30 до 5,80 мл за сопоставимый период, тогда как концентрации СРБ и КФК-МВ снижались. Для КФК-МВ доля результатов ниже предела обнаружения возрастала с 14,3 до 28,6 %. Практически это означает, что увеличение объема образца не всегда улучшает качество исследования. Для белкового биомаркера, находящегося в ротовой жидкости в относительно низких концентрациях, повышение скорости секреции может сопровождаться разведением и снижением доли измеряемых результатов [179, 180].

Абсорбционный метод создавал другую проблему. Объем жидкости, доступной для последующего лабораторного анализа, не соответствовал объему, рассчитанному только по увеличению массы абсорбирующего материала. Часть анализита может удерживаться материалом устройства, а эффективность последующего извлечения зависит от свойств самого белка и способа обработки. Поэтому применение абсорбционных устройств для количественного определения биомаркеров требует предварительной оценки влияния используемого устройства на извлечение и последующее определение конкретного анализита [156].

Метод пассивного слюноотечения остается одним из широко используемых способов получения нестимулированной ротовой жидкости [156, 179]. Однако в исследованной группе пациентов с ИБС его применение характеризовалось рядом практических ограничений. Субъективная трудность получения РЖ при использовании метода пассивного слюноотечения была выше, чем при использовании метода сплевывания: 2 [1; 3] против 1 [1; 2] балла ($p = 0,035$ после поправки Холма). Попадание РЖ за пределы пробирки также чаще регистрировалось при использовании метода пассивного слюноотечения – в 47,6 % случаев против 9,5 % при использовании метода сплевывания ($p = 0,039$ после

поправки Холма). Кроме того, при использовании метода пассивного слюноотечения выявлена обратная связь между оценкой субъективной трудности процедуры и скоростью получения РЖ ($p = -0,911$; $p < 0,001$). Метод сплевывания не предусматривал контакта образца с абсорбирующим материалом, позволял определять скорость слюноотделения и обеспечивал концентрации СРБ и КФК-МВ, статистически значимо не отличавшиеся от значений, полученных методом пассивного слюноотечения. Совокупность полученных данных послужила основанием для выбора метода сплевывания для последующих этапов исследования.

Важным оказалось и время получения материала. Wetterö и соавт. показали выраженную суточную вариабельность СРБ ротовой жидкости при значительно более умеренной его связи с циркулирующим СРБ [149]. Поэтому единый временной интервал 08:00–10:00 в настоящем исследовании имел методический смысл. Различия, связанные со временем сбора и условиями подготовки пациента, в противном случае могли бы увеличивать межиндивидуальную вариабельность и затруднять клиническое сопоставление результатов [117, 155].

Отдельный блок результатов касается секреторной функции слюнных желез. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями скорость нестимулированного слюноотделения была ниже, чем в контрольной группе: 0,29 [0,18; 0,40] против 0,42 [0,40; 0,44] мл/мин ($p < 0,001$) [11]. Жалобы на сухость во рту предъявляли 81,7 % пациентов с ССЗ и 22,0 % участников контрольной группы. При оценке выраженности ксеростомии по данным анкетирования, выполненного с использованием опросника, представленного в клинических рекомендациях СТАР и построенного по принципу Xerostomia Inventory (XI), наиболее часто регистрировалась умеренная выраженность ксеростомии – у 41,6 % пациентов.

Субъективное ощущение сухости во рту и объективно определяемая скорость слюноотделения связаны между собой, но не являются тождественными показателями. На выраженность ксеростомии могут влиять системные заболевания, лекарственная терапия, состояние слизистой оболочки и

индивидуальная чувствительность пациента; при этом субъективные жалобы не всегда прямо соответствуют величине слюноотделения [121, 194]. Поэтому сочетание субъективной оценки с объективным определением скорости нестимулированного слюноотделения позволяет более полно характеризовать секреторную функцию слюнных желез.

Одновременный прием шести и более лекарственных препаратов был зарегистрирован у 69,1 % пациентов с ССЗ. Скорость слюноотделения отрицательно коррелировала с числом одновременно принимаемых препаратов ($\rho = -0,42$; $p < 0,001$) и с индексом ОНІ-S ($\rho = -0,29$; $p < 0,001$). Связь лекарственной нагрузки со снижением секреторной функции и ксеростомией описана в исследованиях пациентов старших возрастных групп и больных хроническими заболеваниями [121, 167, 195]. Изменения свойств слюны также описывались у пациентов, получающих антигипертензивную терапию [150, 194].

Однако полученные данные не позволяют выделить действие конкретной лекарственной группы. Учитывая различия пациентов по возрасту, сопутствующей патологии и схемам терапии, при стоматологическом обследовании целесообразно учитывать прежде всего общую лекарственную нагрузку наряду с жалобами на сухость во рту и объективной скоростью слюноотделения.

Снижение слюноотделения имеет значение для стоматологического статуса пациента. Ротовая жидкость играет важную роль в поддержании гомеостаза полости рта. Учитывая высокую частоту жалоб на сухость во рту у пациентов с ССЗ, оценка секреторной функции слюнных желез представляет клинический интерес при их стоматологическом обследовании [167, 195].

Вместе с тем скорость слюноотделения имеет значение и для самого процесса получения образца. При величине около 0,29 мл/мин для получения 3 мл нестимулированной ротовой жидкости требуется примерно 10 минут. У пациентов с более выраженной гипосаливацией сбор необходимого объема может занимать существенно больше времени. Поэтому при лабораторном

исследовании важно фиксировать не только объем, но и продолжительность сбора [156, 179].

В рамках изучения свойств ротовой жидкости разработано устройство для исследования ее кислотности, на которое получен патент на полезную модель [50]. Дальнейшее применение данного технического решения может быть связано с изучением кислотности ротовой жидкости в сочетании со скоростью слюноотделения, стоматологическим статусом и содержанием биомаркеров у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

После стандартизации преаналитического этапа центральным стал вопрос о том, насколько концентрация СРБ ротовой жидкости отражает системный показатель и какую роль при этом играет состояние пародонта.

В биомаркерной подвыборке была выявлена положительная корреляция между СРБ ротовой жидкости и сыворотки крови: $\rho = 0,662$ ($p < 0,001$). Одномерная модель на логарифмически преобразованных переменных объясняла 32,8 % вариабельности $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$. Сывороточный показатель был статистически связан с СРБ ротовой жидкости, однако объяснял лишь часть его межиндивидуальной вариабельности.

Wetterö и соавт. отмечали умеренную связь при выраженном влиянии суточного ритма [149]. В исследовании Shim и соавт. характер связи также зависел от особенностей обследованных групп [135]. Обзорные публикации подтверждают возможность определения СРБ в ротовой жидкости, однако указывают на неоднородность имеющихся данных и ограниченность оснований для использования СРБ ротовой жидкости как прямого эквивалента сывороточного показателя [171, 181].

В нашей выборке наиболее выраженной попарной связью оказалась корреляция концентрации СРБ ротовой жидкости с кровоточивостью при зондировании: $\rho = 0,820$ ($p < 0,001$). Статистически значимые положительные корреляции концентрации СРБ ротовой жидкости были выявлены также с CAL ($\rho = 0,604$; $p = 0,001$) и PPD ($\rho = 0,655$; $p < 0,001$). Корреляция с индексом ОНІ-S статистической значимости не достигала ($\rho = 0,316$; $p = 0,116$).

Более информативным, чем отдельные корреляции, был многофакторный анализ. При зависимой переменной $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ и трех заданных предикторах модель имела $R^2 = 0,751$. Независимая положительная ассоциация сохранялась как для индекса ВОР ($B = 0,056$; 95 % ДИ 0,033–0,079; $p < 0,001$), так и для $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ ($B = 0,635$; 95 % ДИ 0,154–1,115; $p = 0,012$). При неизменных остальных предикторах увеличение индекса ВОР на 10 процентных пунктов соответствовало увеличению величины (СРБ ротовой жидкости + 1) примерно в 1,75 раза.

Частный R^2 составил 53,3 % для ВОР и 25,4 % для сывороточного СРБ, что указывает на существенный вклад обоих факторов в вариабельность СРБ ротовой жидкости. Вместе с тем данные показатели характеризуют статистический вклад предикторов в рамках модели и не позволяют напрямую оценить долю пародонтального и системного компонентов в формировании концентрации СРБ ротовой жидкости.

Выявленная связь уровня СРБ в ротовой жидкости с индексом ВОР имеет возможное биологическое объяснение. При воспалении тканей пародонта увеличиваются объем десневой жидкости и проницаемость сосудов, вследствие чего компоненты плазмы крови могут в большем количестве поступать в полость рта через зубодесневую борозду [99, 114]. Одновременно пародонтит ассоциирован с повышенным уровнем СРБ в системном кровотоке [177]. Метаанализ рандомизированных исследований показал изменение сывороточного СРБ после пародонтологического лечения [184]. Поэтому пародонтальное воспаление потенциально может влиять на сливарный показатель сразу через несколько взаимосвязанных механизмов.

При этом полученные данные не позволяют считать повышение концентрации СРБ в ротовой жидкости при хроническом пародонтите исключительно следствием локального воспаления тканей пародонта. После учета индекса ВОР сохранялась независимая связь уровня СРБ в ротовой жидкости с концентрацией сывороточного СРБ. Следовательно, в исследованной клинической выборке СРБ ротовой жидкости целесообразно рассматривать как

показатель, связанный как с системным воспалительным статусом, так и с состоянием тканей пародонта.

В основной многофакторной линейной регрессионной модели, включавшей $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$, индексы ВОР и ОНІ-S, последний не продемонстрировал самостоятельной статистически значимой ассоциации с $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$ ($p = 0,269$). Индекс ОНІ-S характеризует наличие зубных отложений, тогда как индекс ВОР непосредственно отражает кровоточивость тканей после зондирования и применяется для оценки их воспалительного состояния [92, 183]. В этой связи индексы ОНІ-S и ВОР в контексте биомаркеров нельзя считать взаимозаменяемыми.

В дополнительном двухкатегориальном анализе концентрация СРБ ротовой жидкости была выше у пациентов с неудовлетворительным и плохим уровнем гигиены ($p = 0,007$). Однако размеры подгрупп существенно различались – 22 и 4 пациента. Этот результат имеет скорее дополнительное описательное значение. Основной вывод относительно индекса ОНІ-S определяется многофакторной моделью, где независимой ассоциации выявлено не было.

Основная модель оставалась устойчивой при дополнительных проверках. Робастная регрессия с М-оценкой Хьюбера сохраняла направление и статистическую значимость ассоциаций индекса ВОР и сывороточного СРБ. После включения возраста, пола, курения, приема статинов и антиагрегантов индекс ВОР оставался статистически значимым ($B = 0,058$; $p < 0,001$), как и сывороточный СРБ ($B = 0,546$; $p = 0,039$). Полученные результаты подтверждают устойчивость выявленных ассоциаций к изменению спецификации модели.

Скорость нестимулированного слюноотделения анализировали отдельно. Ее корреляция с СРБ ротовой жидкости была близка к нулю ($p = -0,088$; $p = 0,668$). При дополнительном включении этого показателя в многофакторную модель самостоятельная ассоциация также не достигала статистической значимости ($B = -1,459$; 95 % ДИ $-3,569-0,652$; $p = 0,165$). Ассоциации индекса ВОР ($B = 0,057$; 95 % ДИ $0,034-0,080$; $p < 0,001$) и $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$

($B = 0,720$; 95 % ДИ 0,233–1,206; $p = 0,006$) при этом сохранялись. Скорректированный R^2 модели составлял 0,730. Таким образом, в исследованной подвыборке скорость нестимулированного слюноотделения не была независимо ассоциирована с концентрацией СРБ ротовой жидкости после учета индексов ВОР, ОНІ-S и сывороточного СРБ.

Четырехгрупповой анализ дал возможность рассмотреть те же закономерности в другой структуре выборки. У 83 участников медиана СРБ ротовой жидкости составляла 1,83 [1,50; 3,02] нг/мл в референтной группе, 10,68 [6,81; 13,90] нг/мл при изолированном хроническом пародонтите, 14,32 [10,33; 19,48] нг/мл при изолированной ИБС и 39,15 [25,49; 121,21] нг/мл при сочетании двух заболеваний [73].

После учета возраста, пола, индекса массы тела, курения и сахарного диабета ИБС и хронический пародонтит сохраняли независимые положительные ассоциации с концентрацией СРБ ротовой жидкости [73]. Полученные данные показывают, что межгрупповые различия СРБ ротовой жидкости не сводились только к демографическим и общесоматическим характеристикам участников. При этом более высокая концентрация СРБ в ротовой жидкости была ассоциирована как с наличием хронического пародонтита, так и с наличием ИБС.

Связь индекса ВОР с концентрацией СРБ в ротовой жидкости в этой подвыборке ($p = 0,807$) согласуется с результатами биомаркерной подвыборки ($p = 0,820$).

При сопоставлении двух промежуточных групп медиана СРБ ротовой жидкости составила 14,32 нг/мл при ИБС без хронического пародонтита и 10,68 нг/мл при хроническом пародонтите без ИБС, несмотря на более высокую кровоточивость в группе изолированного хронического пародонтита. Различие по СРБ между этими группами было статистически значимым ($p = 0,048$). Само по себе проведенное сравнение не позволяет сделать вывод о преобладающем вкладе системного воспаления, однако свидетельствует о том, что различия концентрации СРБ ротовой жидкости между группами не обусловлены только различиями индекса ВОР.

Наиболее высокая концентрация зарегистрирована при сочетании ИБС и хронического пародонтита. Похожая направленность описана Varma и соавт. у пациентов с пародонтитом при наличии и отсутствии острого инфаркта миокарда: наиболее выраженные изменения воспалительных биомаркеров наблюдались при сочетании пародонтальной и кардиологической патологии [173]. Прямое сопоставление абсолютных значений с результатами указанного исследования следует проводить с осторожностью вследствие различий в характеристиках клинических групп и применявшихся протоколах исследования.

Отечественные работы, в которых одновременно оцениваются сывороточный и слюиварный воспалительный биомаркер, количественный пародонтальный статус и многофакторные ассоциации, представлены ограниченно. В обзорной работе Бурмистровой и соавт. обобщены данные о диагностическом потенциале воспалительных маркеров слюны, включая СРБ, при хронической ИБС [35]. В работах Янушевича и соавт. изучались провоспалительные цитокины и матриксные металлопротеиназы при хроническом генерализованном пародонтите [31]. Полежаева и Дымочка также описывали изменения воспалительных биомаркеров ротовой жидкости при пародонтите [52]. В настоящей работе системный и пародонтальный компоненты оценивались одновременно, что позволяет точнее определить стоматологические условия интерпретации СРБ ротовой жидкости.

При анализе 41 пациента с хроническим пародонтитом после стратификации по степени тяжести к средней степени были отнесены 23 пациента, к тяжелой – 18. У пациентов с тяжелой степенью медиана PPD составила 5,20 [5,03; 5,40] мм и была выше, чем при средней степени – 4,30 [3,65; 4,60] мм ($p < 0,001$). Медиана индекса ВОР также была выше при тяжелой степени: 54,0 [40,0; 64,0] % против 38,0 [31,0; 49,0] % ($p = 0,006$). Концентрация СРБ ротовой жидкости при тяжелой степени составила 32,19 [17,23; 133,68] нг/мл и статистически значимо превышала значение при средней степени – 15,03 [7,53; 22,84] нг/мл ($p = 0,004$).

Сходная направленность различий была выявлена в биомаркерной подвыборке ($n = 26$). При тяжелой степени хронического пародонтита концентрация СРБ ротовой жидкости составила 160,36 [95,22; 245,54] нг/мл против 26,25 [5,71; 69,31] нг/мл при средней степени ($p = 0,005$). В то же время концентрация СРБ сыворотки крови статистически значимо между группами не различалась: 5,90 [4,75; 15,13] против 4,80 [3,33; 8,30] мг/л соответственно ($p = 0,225$).

Полученные результаты подчеркивают необходимость комплексной оценки состояния тканей пародонта. Уровень клинического прикрепления и глубина пародонтальных карманов характеризуют выраженность поражения тканей пародонта, тогда как кровоточивость при зондировании отражает текущее воспалительное состояние тканей [92, 145, 183]. Поэтому при интерпретации СРБ ротовой жидкости оценку степени тяжести хронического пародонтита целесообразно дополнять количественной оценкой индекса ВОР на момент обследования.

Выявленная связь концентрации СРБ ротовой жидкости с индексом ВОР в сочетании с более высокими значениями показателя при тяжелой степени хронического пародонтита позволяет рассматривать СРБ ротовой жидкости как потенциальный дополнительный показатель воспалительного состояния тканей пародонта. Вместе с тем его клиническое применение в этом качестве требует дальнейшей валидации.

Разведочный ROC-анализ показал дискриминирующую способность СРБ ротовой жидкости в отношении бинарного критерия $ВОР > 30 \%$: площадь под ROC-кривой составила 0,940 в биомаркерной подвыборке и 0,860 в четырехгрупповой подвыборке. Вместе с тем расчетные пороговые значения концентрации СРБ ротовой жидкости, определенные по максимальному индексу Юдена, существенно различались и составили 76,89 и 12,40 нг/мл соответственно. Различие пороговых значений, вероятно, связано с особенностями состава исследованных подвыборок: биомаркерная подвыборка включала пациентов с ИБС и хроническим пародонтитом, тогда как четырехгрупповая подвыборка

включала участников с различными сочетаниями наличия и отсутствия ИБС и хронического пародонтита. Полученные пороговые значения определялись и оценивались в тех же выборках и не проходили внешней валидации, поэтому не могут рассматриваться как универсальные клинические диагностические критерии.

При оценке дискриминирующей способности СРБ ротовой жидкости в отношении концентрации СРБ в сыворотке крови ≥ 5 мг/л AUC составила 0,786 при 95 % ДИ 0,608–0,964. Широкий доверительный интервал указывает на неопределенность оценки, вероятно связанную с ограниченным объемом подвыборки, и не позволяет обосновать использование СРБ ротовой жидкости в качестве замены лабораторному определению СРБ в сыворотке крови. ROC-анализы для ВОР > 30 % и для сывороточного СРБ ≥ 5 мг/л были направлены на решение разных диагностических задач. Поэтому прямое сопоставление соответствующих значений AUC не позволяет судить о преимуществе одного диагностического подхода над другим [97].

Результаты исследования КФК-МВ отличались от полученных для СРБ. Концентрация КФК-МВ в ротовой жидкости превышала номинальный предел обнаружения у 18 из 20 пациентов (90,0 %), однако статистически значимой связи с сывороточной концентрацией не выявлено ($\rho = 0,118$; $p = 0,621$). Выявление аналита в ротовой жидкости само по себе не означает соответствия его концентрации системному уровню. При этом при объеме выборки 20 наблюдений 95 % ДИ коэффициента корреляции составил от $-0,360$ до $0,539$, что не позволяет полностью исключить наличие слабой или умеренной связи между показателями.

Современная доказательная база по КФК-МВ ротовой жидкости остается ограниченной [164]. Систематический обзор саливарных биомаркеров острого инфаркта миокарда также подчеркивает значительную неоднородность методов и необходимость дальнейшей аналитической и клинической валидации [163].

Полученный результат согласуется не со всеми ранее опубликованными данными. Mirzaii-Dizgah и соавт. (2012) у пациентов с острым инфарктом миокарда описали сильную корреляцию КФК-МВ слюны и сыворотки крови

[159]. В то же время Mortazavi и соавт. (2016) не выявили статистически значимого различия активности КФК-МВ слюны между пациентами с инфарктом миокарда и контрольной группой, а корреляция с сывороточным показателем была слабой и статистически незначимой [168]. Foley и соавт. (2012) после септальной алкогольной абляции также не обнаружили корреляции между КФК-МВ слюны и сыворотки крови [162]. Различия между результатами этих исследований следует оценивать с учетом клинической ситуации, способа определения аналита и исследуемой характеристики КФК-МВ; современные обзоры характеризуют существующую доказательную базу как неоднородную и требующую дальнейшей валидации [163, 164].

Здесь необходимо учитывать и особенности самой тест-системы. Набор для определения КФК-МВ исходно предназначен для сыворотки и плазмы крови. Ротовая жидкость отличается по белковому составу, содержанию муцинов, протеолитических ферментов, клеточных и бактериальных компонентов, способных влиять на реакцию иммуноанализа [170]. При использовании такого набора для анализа ротовой жидкости необходима дополнительная оценка матричного эффекта, аналитического восстановления и параллелизма разведений, поскольку характеристики тест-системы были валидированы преимущественно для сыворотки и плазмы крови [189].

В рамках изученного протокола не получено данных, позволяющих рассматривать КФК-МВ ротовой жидкости как прямой неинвазивный аналог сывороточного показателя. При клиническом подозрении на повреждение миокарда исследование ротовой жидкости не может заменить стандартное кардиологическое обследование и определение сывороточных биомаркеров [163, 164].

С позиций стоматологической интерпретации полученных данных интерес представляет выявление положительных ассоциаций концентрации КФК-МВ ротовой жидкости с показателями состояния тканей пародонта.

В многофакторном анализе ассоциации КФК-МВ ротовой жидкости с RPD и CAL сохранялись после учета концентрации КФК-МВ в сыворотке крови.

Модель с PPD объясняла 41,7 % вариабельности $\ln(\text{КФК-МВ ротовой жидкости} + 1)$ ($R^2 = 0,417$; скорректированный $R^2 = 0,348$), а модель с CAL – 55,9 % ($R^2 = 0,559$; скорректированный $R^2 = 0,507$). Частный R^2 составил 41,5 % для PPD и 55,7 % для CAL, тогда как для сывороточной концентрации КФК-МВ – менее 1 % в обеих моделях. При этом статистически значимых связей КФК-МВ ротовой жидкости с BOP, OHI-S, скоростью нестимулированного слюноотделения и возрастом не выявлено. Следовательно, в данной подвыборке ассоциации КФК-МВ ротовой жидкости были связаны прежде всего с PPD и CAL, а не со всеми исследованными показателями состояния полости рта.

Механизм выявленных ассоциаций КФК-МВ ротовой жидкости с клиническими показателями состояния тканей пародонта в рамках настоящего исследования установить невозможно. Сохранение статистически значимых ассоциаций КФК-МВ ротовой жидкости с PPD и CAL после учета концентрации КФК-МВ в сыворотке крови указывает на необходимость учитывать состояние тканей пародонта при интерпретации данного показателя в ротовой жидкости. Вместе с тем полученные данные не позволяют сделать вывод о локальном происхождении КФК-МВ из тканей пародонта, а также полностью исключить влияние других факторов на ее концентрацию в ротовой жидкости. В связи с этим дальнейшие исследования КФК-МВ ротовой жидкости должны включать аналитическую валидацию метода для данной биологической среды, изучение источников и путей поступления КФК-МВ в ротовую жидкость и оценку показателя в более широких клинических группах с учетом пародонтологического статуса [163, 164, 170].

Результаты исследования СРБ и КФК-МВ показывают, что сам факт определения биомаркера в ротовой жидкости недостаточен для его клинической интерпретации. Для СРБ были установлены статистически значимые связи как с его сывороточной концентрацией, так и с показателями состояния тканей пародонта. Для КФК-МВ, несмотря на возможность ее определения в ротовой жидкости у большинства обследованных пациентов, статистически значимой связи с сывороточной концентрацией выявлено не было. Эти различия указывают

на необходимость самостоятельной оценки диагностической значимости каждого биомаркера ротовой жидкости.

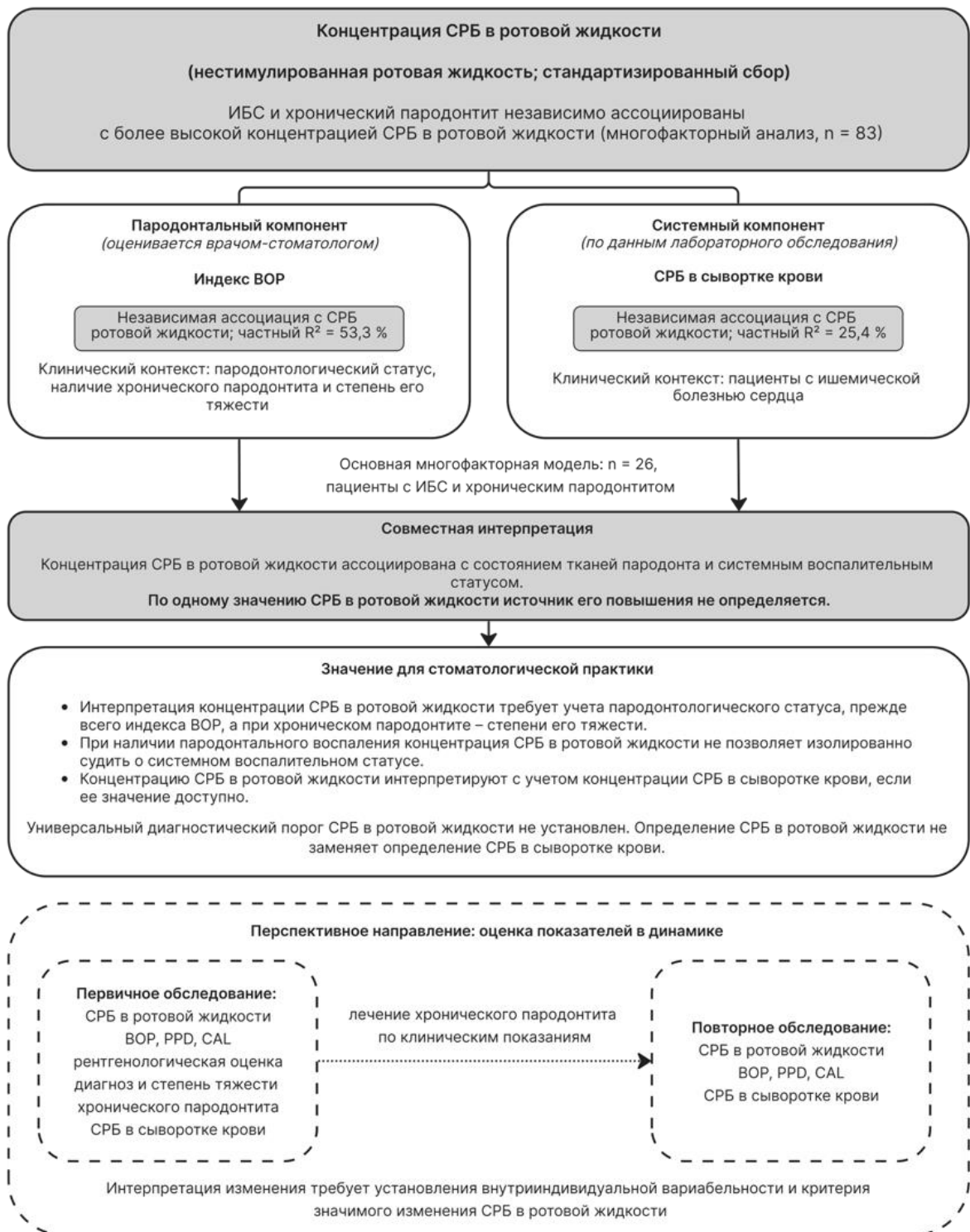
Для СРБ полученные результаты указывают на ограничения клинической интерпретации единичного значения его концентрации в ротовой жидкости у конкретного пациента. Диапазон концентраций СРБ ротовой жидкости в исследованных образцах превышал четыре порядка величины – от 0,04 до 836,07 нг/мл. В однофакторной регрессионной модели $\ln(\text{СРБ сыворотки крови} + 1)$ объяснял 32,8 % вариабельности $\ln(\text{СРБ ротовой жидкости} + 1)$, тогда как многофакторный анализ показал независимые положительные ассоциации концентрации СРБ ротовой жидкости как с сывороточным СРБ, так и с индексом ВОР. Единичное значение СРБ ротовой жидкости не позволяет однозначно разграничить вклад системного и пародонтального воспалительных компонентов, поэтому его клиническая интерпретация требует учета системного воспалительного статуса и состояния тканей пародонта.

С учетом полученных результатов составлена схема интерпретации концентрации СРБ в ротовой жидкости у пациентов с ишемической болезнью сердца. Схема обобщает результаты настоящего исследования и не предполагает использования СРБ ротовой жидкости в качестве самостоятельного теста для диагностики ИБС или замены определения СРБ в сыворотке крови.

Схема разработана на основании результатов, полученных при стандартизированном сборе нестимулированной ротовой жидкости методом сплевывания в утренние часы [149], до проведения пародонтологического зондирования, с количественной интерпретацией результатов в пределах калибровочной кривой используемой тест-системы [155].

При интерпретации концентрации СРБ в ротовой жидкости индекс ВОР следует рассматривать как количественный показатель кровоточивости при зондировании. Используемые в пародонтологии значения индекса ВОР 10 и 30 % характеризуют состояние тканей пародонта и не являются пороговыми значениями концентрации СРБ в ротовой жидкости [145, 183].

Таким образом, предлагаемая схема интерпретации основывается на совместном учете пародонтального и системного компонентов. Пародонтальный компонент включает оценку индекса ВОР и клинического контекста хронического пародонтита, в том числе степени его тяжести; системный компонент представлен концентрацией СРБ в сыворотке крови. Полученные результаты показывают, что по одному значению концентрации СРБ в ротовой жидкости невозможно разграничить системный и пародонтальный компоненты его повышения. Универсальный диагностический порог концентрации СРБ в ротовой жидкости не установлен, а ее определение не заменяет определение СРБ в сыворотке крови. Схема интерпретации представлена на Рисунке 4.1.



Примечание: ВОР – индекс кровоточивости при зондировании; PPD – глубина зондирования пародонтального кармана; CAL – уровень клинического прикрепления. R^2 – доля вариабельности концентрации СРБ в ротовой жидкости, связанная с предиктором при учете остальных предикторов модели; значения частных R^2 не суммируются.

Рисунок 4.1 – Схема интерпретации концентрации С-реактивного белка в ротовой жидкости у пациентов с ишемической болезнью сердца с учетом пародонтального статуса и перспективной динамической оценки

Ограничения интерпретации единичного значения не исключают потенциальной клинической значимости повторного определения СРБ в ротовой жидкости. Возможность неинвазивного повторного получения материала делает перспективной оценку динамики концентрации СРБ в ротовой жидкости относительно индивидуального исходного уровня пациента [161]. В обзоре Raqué и соавт. (2022), включившем 57 исследований с повторным исследованием ротовой жидкости, большинство работ относилось к пародонтологии; авторы показали возможность оценки изменений биомаркеров во времени и их связи с течением заболевания или ответом на лечение, одновременно подчеркивая необходимость стандартизации условий исследования [161]. В исследовании Hungund и соавт. (2023) у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом после нехирургического пародонтологического лечения отмечалось снижение концентрации СРБ ротовой жидкости [106]. Возможность использования лабораторных показателей для оценки ответа на пародонтологическое лечение подтверждается и отечественными работами, в которых описаны изменения цитокинового профиля [72] и остеомаркеров крови [20] при лечении генерализованного пародонтита, а также динамика концентрации цитокинов в смешанной слюне [19]. Необходимость объективных критериев эффективности обсуждается и применительно к местной антисептической терапии заболеваний пародонта [23]. В дальнейших продольных исследованиях динамику концентрации СРБ в ротовой жидкости целесообразно сопоставлять с изменениями индекса ВОР, PPD, CAL и концентрации СРБ в сыворотке крови при соблюдении единого стандартизированного протокола получения и лабораторного исследования образцов. Для интерпретации индивидуальной динамики необходимо также установить внутрииндивидуальную вариабельность и критерий значимого изменения концентрации СРБ в ротовой жидкости.

Настоящее исследование имеет ряд ограничений. Наблюдательный одномоментный дизайн позволяет рассматривать выявленные связи как статистические ассоциации без установления причинно-следственных

отношений. Многофакторные модели построены на аналитических подвыборках ограниченного объема ($n = 26$ для СРБ и $n = 20$ для КФК-МВ). Используемые ИФА-наборы не были валидированы производителями для исследования ротовой жидкости. Пороговые значения разведочного ROC-анализа определялись и оценивались в тех же выборках и не проходили внешней валидации. В связи с этим необходимы внешняя валидация полученных многофакторных моделей и оценка предложенной схемы интерпретации в независимых клинических выборках.

Таким образом, исследование биомаркеров ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями требует стандартизации преаналитического этапа и учета состояния тканей пародонта. Концентрация СРБ в ротовой жидкости ассоциирована как с концентрацией СРБ в сыворотке крови, так и с показателями пародонтального воспаления; для КФК-МВ статистически значимой связи между концентрациями в ротовой жидкости и сыворотке крови в настоящем исследовании не установлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено клинико-лабораторной интерпретации белковых биомаркеров ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями с учетом состояния тканей пародонта и секреторной функции слюнных желез. Работа включала методический и основной клинико-лабораторный этапы; итоговая клиническая совокупность основного этапа включала 339 участников. Для решения отдельных исследовательских задач были сформированы аналитические подвыборки, позволившие сопоставить концентрации С-реактивного белка и КФК-МВ в ротовой жидкости и сыворотке крови, а также оценить особенности СРБ ротовой жидкости при ишемической болезни сердца, хроническом пародонтите и их сочетании.

На методическом этапе установлено, что способ получения ротовой жидкости влияет на измеряемые концентрации биомаркеров. При использовании абсорбционного метода и метода сбора стимулированной ротовой жидкости концентрации СРБ и КФК-МВ были ниже, чем при использовании методов пассивного слюноотечения и сплевывания. При использовании метода сплевывания концентрации обоих биомаркеров статистически значимо не отличались от значений, полученных методом пассивного слюноотечения; при этом метод сплевывания обеспечивал больший объем и более высокую скорость получения РЖ, характеризовался меньшей субъективной трудностью процедуры и меньшей частотой попадания РЖ за пределы пробирки. По совокупности преаналитических, аналитических показателей и показателей практической выполнимости метод сплевывания был выбран для последующих этапов исследования. Полученные результаты подтверждают необходимость стандартизации преаналитического этапа при исследовании белковых биомаркеров ротовой жидкости.

У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями выявлены снижение скорости нестимулированного слюноотделения и более высокая частота жалоб на сухость во рту по сравнению с контрольной группой. Скорость слюноотделения

снижалась по мере увеличения количества одновременно принимаемых лекарственных препаратов. Полученные данные обосновывают необходимость учитывать секреторную функцию слюнных желез и лекарственную нагрузку при стоматологическом обследовании пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также при планировании и стандартизации получения ротовой жидкости.

Одним из основных результатов работы стало уточнение клинко-лабораторного значения СРБ ротовой жидкости. Его концентрация была положительно связана с концентрацией СРБ в сыворотке крови. Вместе с тем многофакторный анализ показал независимые положительные ассоциации концентрации СРБ ротовой жидкости как с сывороточным СРБ, так и с кровоточивостью при зондировании. В четырехгрупповом анализе ИБС и хронический пародонтит независимо ассоциировались с более высокими значениями СРБ ротовой жидкости, а наиболее высокие значения регистрировались при сочетании этих заболеваний. У пациентов с тяжелой степенью хронического пародонтита концентрация СРБ ротовой жидкости была выше, чем при средней степени, тогда как концентрация СРБ в сыворотке крови статистически значимо не различалась в зависимости от степени тяжести хронического пародонтита. Интерпретация СРБ ротовой жидкости, следовательно, требует одновременного учета системного воспалительного статуса и воспалительного состояния тканей пародонта.

Количественная интерпретация однократного значения СРБ ротовой жидкости ограничена выраженной межиндивидуальной вариабельностью показателя. Сывороточный СРБ объяснял только часть вариабельности, а расчетные точки отсечения различались в зависимости от состава аналитической выборки. Поэтому однократное значение СРБ ротовой жидкости не может рассматриваться как самостоятельный показатель системного воспаления или интерпретироваться с использованием универсального диагностического порога. Отсюда следует целесообразность дальнейшего изучения данного биомаркера в динамике относительно индивидуального исходного уровня пациента.

Для КФК-МВ получен иной результат. Статистически значимой связи между концентрациями биомаркера в ротовой жидкости и сыворотке крови не выявлено, что не позволяет рассматривать КФК-МВ ротовой жидкости как прямой неинвазивный аналог сывороточной концентрации данного биомаркера. Вместе с тем концентрация КФК-МВ ротовой жидкости положительно ассоциировалась с глубиной зондирования пародонтального кармана и уровнем клинического прикрепления, включая модели с учетом сывороточной концентрации КФК-МВ. Полученные данные указывают на необходимость дальнейшего изучения факторов, определяющих концентрацию КФК-МВ в ротовой жидкости, включая механизмы ее связи с клиническими показателями состояния тканей пародонта.

На основании полученных результатов предложен клинико-лабораторный подход к интерпретации СРБ ротовой жидкости у пациентов с ишемической болезнью сердца. Он предусматривает стандартизированное получение нестимулированной ротовой жидкости методом сплевывания до проведения пародонтологического зондирования, количественную оценку результатов в пределах рабочего диапазона калибровочной кривой и обязательный учет состояния тканей пародонта, включая кровоточивость при зондировании. Предлагаемый подход не предусматривает использования универсального порогового значения СРБ ротовой жидкости и не предполагает его применения вместо определения СРБ в сыворотке крови.

Перспективы дальнейших исследований включают определение внутрииндивидуальной и аналитической вариабельности СРБ ротовой жидкости и критериев значимого индивидуального изменения. Необходимы проспективная оценка динамики СРБ ротовой жидкости до и после лечения заболеваний пародонта одновременно с динамикой индекса ВОР и концентрации СРБ в сыворотке крови, внешняя валидация многофакторных моделей и предложенного клинико-лабораторного подхода на независимых выборках, а также аналитическая валидация определения КФК-МВ в ротовой жидкости.

ВЫВОДЫ

1. Метод сплевывания обоснован как способ получения образцов ротовой жидкости для определения концентраций СРБ и КФК-МВ у пациентов с ССЗ. Концентрации биомаркеров, определенные в образцах, полученных методом сплевывания, статистически значимо не отличались от значений при пассивном слюноотечении ($p = 0,122$ и $p = 0,170$ соответственно), при этом преаналитические характеристики и показатели практической выполнимости были более благоприятными. При использовании абсорбционного метода и метода сбора стимулированной ротовой жидкости концентрации СРБ и КФК-МВ были ниже, чем при пассивном слюноотечении. Сформирован стандартизированный протокол получения, первичной обработки и хранения образцов ротовой жидкости.

2. Наличие сердечно-сосудистых заболеваний ассоциировано с ухудшением стоматологического статуса и снижением секреторной функции слюнных желез. Неудовлетворительный и плохой уровни гигиены полости рта по индексу ОНI-S зарегистрированы у 74,4 % пациентов с ССЗ и у 19,0 % лиц контрольной группы; жалобы на сухость во рту – у 81,7 и 22,0 % соответственно. У пациентов с ССЗ преобладала умеренная степень ксеростомии, выявленная у 41,6 % обследованных. Скорость нестимулированного слюноотделения у пациентов с ССЗ была ниже, чем в контрольной группе (0,29 против 0,42 мл/мин; $p < 0,001$), и отрицательно коррелировала с количеством принимаемых лекарственных препаратов ($\rho = -0,42$; $p < 0,001$).

3. У пациентов с ССЗ медианные концентрации СРБ и КФК-МВ в ротовой жидкости составили 35,66 [13,68; 121,07] и 2,15 [0,86; 3,14] нг/мл соответственно. Выявлена положительная корреляционная связь между концентрациями СРБ в ротовой жидкости и сыворотке крови ($\rho = 0,662$; $p < 0,001$), тогда как для КФК-МВ статистически значимой связи не установлено ($\rho = 0,118$; $p = 0,621$).

4. Установлены независимые ассоциации концентрации СРБ в ротовой жидкости с кровоточивостью при зондировании и концентрацией СРБ в сыворотке крови; вклад индекса ВОР в вариабельность концентрации СРБ в ротовой жидкости превышал вклад сывороточного СРБ (частный R^2 53,3 и 25,4 % соответственно). Концентрация КФК-МВ в ротовой жидкости положительно ассоциирована с глубиной пародонтальных карманов и уровнем клинического прикрепления после учета концентрации КФК-МВ в сыворотке крови.

5. Выявлены независимые ассоциации ишемической болезни сердца ($B = 1,68$; $p < 0,001$) и хронического пародонтита ($B = 1,33$; $p < 0,001$) с повышением концентрации СРБ в ротовой жидкости после учета возраста, пола, индекса массы тела, курения и сахарного диабета. Наибольшая концентрация СРБ в ротовой жидкости зарегистрирована при сочетании ишемической болезни сердца и хронического пародонтита – 39,15 [25,49; 121,21] нг/мл. При тяжелой степени хронического пародонтита концентрация СРБ в ротовой жидкости была выше, чем при средней степени: 32,19 [17,23; 133,68] против 15,03 [7,53; 22,84] нг/мл соответственно ($p = 0,004$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При определении концентраций СРБ и КФК-МВ в ротовой жидкости у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями рекомендуется получать нестимулированную ротовую жидкость методом сплевывания в утренние часы с 08:00 до 10:00, до проведения пародонтологического зондирования, при стандартизированной подготовке пациента и с регистрацией продолжительности и объема сбора. Образцы с видимой примесью крови следует исключать. Первичную обработку рекомендуется проводить центрифугированием при $3000 \times g$ в течение 10 минут при 4°C с последующим аликвотированием супернатанта и хранением при -80°C до проведения лабораторного исследования.

2. При определении концентрации СРБ в ротовой жидкости методом ИФА с использованием набора Human CRP ELISA Kit (RayBiotech) рекомендуется применять разведение 1:100 в качестве исходного рабочего разведения. При выходе результата за пределы калибровочного диапазона следует использовать неразведенный образец или разведение 1:1000. Для количественного расчета следует использовать результат, полученный в пределах калибровочного диапазона, с последующим пересчетом концентрации с учетом коэффициента разведения.

3. При интерпретации концентрации СРБ в ротовой жидкости у пациентов с ишемической болезнью сердца рекомендуется одновременно оценивать состояние тканей пародонта с обязательной регистрацией индекса ВОР, а при наличии хронического пародонтита учитывать степень его тяжести. Концентрацию СРБ в ротовой жидкости следует оценивать с учетом как пародонтального, так и системного воспаления. При наличии результатов определения СРБ в сыворотке крови концентрацию СРБ в ротовой жидкости следует интерпретировать с их учетом.

4. Концентрацию КФК-МВ в ротовой жидкости не следует использовать для косвенной оценки концентрации КФК-МВ в сыворотке крови. Определение КФК-МВ в ротовой жидкости на данном этапе целесообразно проводить в рамках научных исследований с обязательной оценкой состояния тканей пародонта, включая показатели PPD, CAL, а также индекс BOP.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДИ – доверительный интервал

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ – интерлейкин

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

КФК-МВ – МВ-фракция креатинфосфокиназы

ММП – матриксная металлопротеиназа

РЖ – ротовая жидкость

СРБ – С-реактивный белок

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ХП – хронический пародонтит

AAP – American Academy of Periodontology, Американская академия пародонтологии

AUC – площадь под ROC-кривой

BOP – кровоточивость при зондировании

CAL – уровень клинического прикрепления

EFP – European Federation of Periodontology, Европейская федерация пародонтологии

LOD – предел обнаружения

ОHI-S – упрощенный индекс гигиены полости рта Грина–Вермиллиона

PPD – глубина зондирования пародонтального кармана

R² – коэффициент детерминации

ROC-анализ – анализ операционных характеристик диагностического теста

VIF – фактор инфляции дисперсии

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айвазова, Р. А. Клинико-диагностические критерии и оценка эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта у пациентов с кислотозависимой патологией желудочно-кишечного тракта : специальность 14.01.14 «Стоматология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Айвазова Регина Андраниковна ; ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова Минздрава России. – Москва, 2019. – 274 с.
2. Айвазова, Р. А. Применение лазерных технологий при хроническом гингивите / Р. А. Айвазова, И. С. Агафонова, С. Н. Ермольев // Лазерная медицина. – 2022. – Т. 26. – № 3-4. – С. 32-37.
3. Анализ микроэлементного состава слюны у пациентов на фоне сопутствующей патологии / А. М. Иманов, Ю. А. Мазур, Ф. Я. Гаджиев [и др.] // Эндодонтия Today. – 2022. – Т. 20. – № 4. – С. 328-332.
4. Анализ распространённости заболеваний слизистой оболочки полости рта при ксеростомии на фоне общесоматических патологий / Ю. С. Музюкин, Н. В. Лапина, Е. С. Овчаренко [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2025. – Т. 29. – № 4. – С. 393-402.
5. Ассоциативные параллели взаимосвязи и взаимообусловленности клинических особенностей стоматологической патологии с сердечно-сосудистыми заболеваниями / В. Г. Галонский, Э. С. Сурдо, В. Н. Чернов [и др.] // Проблемы стоматологии. – 2021. – Т. 17. – № 1. – С. 12-19.
6. Биобанкирование. Национальное руководство / С. В. Анисимов, Т. М. Ахмеров, О. П. Балановский [и др.]. – Москва : Издательство ТРИУМФ, 2022. – 308 с. – ISBN 978-5-93673-322-2.
7. Биомаркеры и прогностический потенциал ротовой жидкости для ранней диагностики хронического пародонтита / А. А. Зуб, Т. В. Гайворонская, Е. С. Сирак [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2022. – Т. 17. – № 2. – С. 217-221.

8. Биомаркеры слюны и протеомика: диагностические и клинические возможности будущего / А. В. Митронин, О. А. Хворостенко, Д. А. Останина, Ю. А. Митронин // *Эндодонтия Today*. – 2021. – Т. 19. – № 3. – С. 171-174.
9. Биопленкообразующие бактерии в атеросклеротических бляшках у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и хроническим пародонтитом / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева, М. В. Витович [и др.] // *Клиническая стоматология*. – 2020. – № 2 (94). – С. 40-45.
10. Взаимосвязь свойств ротовой жидкости и качества выполненных реставраций у пациентов с первичным гипотиреозом / С. С. Григорьев, Е. Ю. Бушуева, А. Н. Козьменко [и др.] // *Проблемы стоматологии*. – 2024. – Т. 20. – № 3. – С. 34-39.
11. Влияние сердечно-сосудистых заболеваний и медикаментозной терапии на скорость слюноотделения и pH ротовой жидкости / Б. Б. Расаматов, К. А. Озден, Е. Л. Аксенова, А. Ю. Киреева, И. А. Никольская, А. А. Семина, С. П. Семитко // *Медицинский алфавит*. – 2025. – № 30. – С. 33-39.
12. Выявление маркеров воспалительных процессов полости рта (пародонтиты, периимплантиты) при биохимических методах исследования слюны / А. А. Долгалев, Т. И. Джандарова, Е. А. Булычева [и др.] // *Институт стоматологии*. – 2023. – № 4 (101). – С. 79-83.
13. Гематосаливарный барьер: строение, функции, методы (обзор литературы) / И. А. Селезнева, Ф. Н. Гильмиярова, В. С. Тлустенко [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2022. – Т. 67. – № 6. – С. 334-338.
14. Губанова, В. В. Методы исследования биологических жидкостей ротовой полости. Лабораторные маркеры в диагностике заболеваний пародонта / В. В. Губанова // *Scientist*. – 2024. – Т. 27. – № 1. – С. 63-67.
15. Демидов, А. В. Анализ методов и средств оценки биохимических показателей ротовой жидкости при воспалении / А. В. Демидов, С. М. Геращенко // *Измерение. Мониторинг. Управление. Контроль*. – 2025. – № 4 (54). – С. 125-132.

16. Диагностическая значимость белков острой фазы воспаления в ротовой жидкости у беременных женщин при стоматологических заболеваниях / Е. Х. Чибичян, С. О. Сурменева, А. С. Ломова, Я. В. Болоцких // Кубанский научный медицинский вестник. – 2018. – Т. 25. – № 1. – С. 133-138.
17. Диагностические возможности анализа ротовой жидкости у лиц с инфекцией COVID-19 на фоне воспалительных заболеваний пародонта / Н. Р. Еварницкая, О. О. Янушевич, Р. А. Айвазова, Т. М. Стурова // Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование. – 2023. – № 84. – С. 36-41.
18. Диагностические возможности спектроскопии высокого разрешения ЯМР ^1H и ^{13}C ротовой жидкости пациентов с цереброваскулярной патологией / А. В. Митронин, О. А. Антонова, Д. А. Останина [и др.] // Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование. – 2022. – № 82. – С. 30-33.
19. Динамика концентрации цитокинов в смешанной слюне у пациентов с хроническим пародонтитом легкой степени тяжести в сочетании с периимплантитом / А. А. Долгалев, Т. И. Джандарова, С. Н. Гаража [и др.] // Медицинский алфавит. – 2025. – № 30. – С. 49-53.
20. Динамика остеомаркеров крови при лечении генерализованного пародонтита / О. А. Успенская, Е. С. Качесова, А. И. Медникова, Р. А. Фтоян // Эндодонтия Today. – 2024. – Т. 22. – № 2. – С. 162-166.
21. Еварницкая, Н. Р. Инфекция COVID-19: стоматологические аспекты и корреляции биохимических показателей / Н. Р. Еварницкая, О. О. Янушевич, Р. А. Айвазова // Пародонтология. – 2023. – Т. 28. – № 2. – С. 143-151.
22. Еловикова, Т. М. Слюна как биологическая жидкость и ее роль в здоровье полости рта : учебное пособие / Т. М. Еловикова, С. С. Григорьев. – Екатеринбург : Издательский Дом «ТИРАЖ», 2018. – 136 с. – ISBN 978-5-89895-892-3.
23. Заболевание пародонта – местная антисептическая терапия: проблема эффективности. Обзор литературы / З. С. Хабадзе, Ю. А. Генералова, В. С. Шубаева [и др.] // Медицинский алфавит. – 2021. – № 2. – С. 24-37.
24. Зуб, А. А. Оценка прогностической значимости определения супероксиддисмутазы и каталазы в десневой жидкости для диагностики риска

- развития хронического пародонтита / А. А. Зуб, Т. В. Гайворонская, Н. И. Быкова // Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование. – 2023. – № 84. – С. 30-35.
25. Зыкова, А. С. Пародонтит как фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Систематический обзор / А. С. Зыкова, А. С. Оправин, А. Г. Соловьев // Пародонтология. – 2024. – Т. 29. – № 1. – С. 25-33.
26. Игидбашян, В. М. Исследование активности щелочной фосфатазы ротовой жидкости при лечении пациентов с хроническим генерализованным гингивитом / В. М. Игидбашян, Л. А. Зюлькина, А. М. Кокчян // Известия вузов. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2024. – № 1. – С. 5-10.
27. Изменение биохимических показателей ротовой жидкости у здоровых лиц разных возрастных групп и при сопутствующих заболеваниях / О. С. Чуйкин, О. З. Топольницкий, К. Н. Кучук [и др.] // Проблемы стоматологии. – 2023. – Т. 19. – № 3. – С. 103-107.
28. Изменение химических параметров ротовой жидкости при возраст-ассоциированных стоматологических заболеваниях / М. А. Копенкин, Л. Г. Полушина, Е. А. Семенцова [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2024. – Т. 23. – № 3. – С. 46-58.
29. Иманов, А. М. Особенности микроэлементного состава слюны у пациентов пожилого возраста / А. М. Иманов, Ю. А. Мазур, Э. М. Какабадзе // Эндодонтия Today. – 2023. – Т. 21. – № 1. – С. 75-81.
30. Иммунологические механизмы инфламмейджинга в патогенезе хронического генерализованного пародонтита / Л. Ю. Островская, Н. Б. Захарова, И. Н. Багирова [и др.] // Head and neck. Голова и шея. Российский журнал. – 2025. – Т. 13. – № 4. – С. 128-143.
31. Исследование маркеров слюны при воспалительных заболеваниях пародонта / О. О. Янушевич, Н. Р. Еварницкая, С. Н. Ермольев, Р. А. Айвазова // Российская стоматология. – 2023. – Т. 16. – № 2. – С. 46-50.
32. Кисельникова, Л. П. Характеристика состояния некоторых факторов местного иммунитета рта и возможности их коррекции у пациентов с

- заболеваниями тканей пародонта / Л. П. Кисельникова, А. А. Гутник, И. Г. Данилова // Клиническая стоматология. – 2022. – Т. 25. – № 4. – С. 34-43.
33. Клинико-диагностическая ценность кардиомаркеров в биологических жидкостях человека / А. М. Чаулин, Л. С. Карслян, Е. В. Григорьева [и др.] // Кардиология. – 2019. – Т. 59. – № 11. – С. 66-75.
34. Клинико-диагностические характеристики саливарных матриксных металлопротеиназ как потенциальных биомаркеров при хроническом пародонтите / В. В. Базарный, Л. Г. Полушина, А. Ю. Максимова [и др.] // Лабораторная служба. – 2020. – Т. 9. – № 4. – С. 54-58.
35. Клиническая значимость маркеров воспаления в слюне при диагностике хронической ишемической болезни сердца / Л. Ф. Бурмистрова, Е. А. Борисова, М. В. Петров [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2025. – № 2. – С. 74.
36. Клиническая информативность хемокинов ротовой жидкости при хроническом пародонтите / В. В. Базарный, Ю. В. Мандра, Л. Г. Полушина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 345-352.
37. Клинические изменения на слизистой оболочке рта у пациентов при сердечно-сосудистых заболеваниях и тактика их местного лечения / Е. В. Пустовойт, Н. И. Крихели, И. Р. Аракелян [и др.] // Российская стоматология. – 2024. – Т. 17. – № 1. – С. 65-67.
38. Коморбидность как фактор, инициирующий сдвиг микроэлементного состава слюны / А. М. Иманов, Ю. А. Мазур, Ф. Я. Гаджиев [и др.] // Эндодонтия Today. – 2022. – Т. 20. – № 4. – С. 333-337.
39. Матвеева, Е. В. Влияние сопутствующей соматической патологии на пародонтологические, гигиенические индексы и минеральный состав ротовой жидкости / Е. В. Матвеева, И. Н. Антонова, А. В. Кипчук // Пародонтология. – 2023. – Т. 28. – № 1. – С. 67-74.
40. Метелица, К. И. Ксеростомия и ее осложнения в полости рта / К. И. Метелица, Т. Н. Манак // Современная стоматология. – 2021. – № 2 (83). – С. 6-10.

41. Микроэлементный состав ротовой жидкости пациентов с хронической ишемией головного мозга / А. В. Митронин, М. Ю. Максимова, Д. А. Останина, О. А. Антонова // Эндодонтия Today. – 2023. – Т. 21. – № 1. – С. 62-66.
42. Митронин, А. В. Биомаркеры смешанной слюны как индикаторы состояния организма / А. В. Митронин, О. А. Антонова // Российская стоматология. – 2022. – Т. 15. – № 1. – С. 61-62.
43. Мовсесян, Н. А. Изменение некоторых иммунологических показателей ротовой жидкости у пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области / Н. А. Мовсесян, И. В. Жильцов, Т. А. Торосян // Современная стоматология. – 2022. – № 1 (86). – С. 35-39.
44. На пути к созданию общего глоссария биобанков Российской Федерации / А. А. Михайлова, Ю. А. Насыхова, А. И. Муравьев [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2020. – Т. 19. – № 6. – С. 2710.
45. Новые биомаркеры для диагностики заболеваний рта: обзор литературы / Б. Ж. Нысанова, Р. И. Кульманбетов, М. Б. Тлешев [и др.] // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2024. – № 4. – С. 1-30.
46. Оказание стоматологической помощи пациентам со стабильной ишемической болезнью сердца. Обзор литературы / Е. Н. Анисимова, Н. Ю. Анисимова, Н. А. Рязанцев [и др.] // Институт стоматологии. – 2024. – № 4 (105). – С. 76-78.
47. Особенности биобанкирования ротовой жидкости у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы / Б. Б. Расаматов, К. А. Озден, А. Ю. Киреева, С. П. Семитко, А. А. Семина, В. В. Шишков, А. Ю. Туркина // Актуальные вопросы профилактики и лечения заболеваний полости рта : сборник статей научно-практической конференции стоматологов ФМБА России, Москва, 18–19 апреля 2024 года. – Москва : Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна, 2024. – С. 143-146.
48. Оценка эффективности применения ополаскивателя для полости рта с синбиотическим комплексом у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией:

- наблюдательное клиническое исследование / А. В. Митронин, М. Ю. Максимова, Д. А. Останина [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2023. – Т. 30. – № 4. – С. 61-70.
49. Пародонтит – модификатор сердечно-сосудистых заболеваний / Т. Л. Рединова, Т. В. Савельева, А. А. Янгирова [и др.] // Врач. – 2025. – Т. 36. – № 4. – С. 44-49.
50. Патент № RU 227 760 U1 Российская Федерация, МПК А61С 19/04 (2006.01); G01N 33/487 (2006.01). Устройство для исследования кислотности ротовой жидкости : № 2024102661 : заявл. 02.02.2024 : опубл. 01.08.2024 / Туркина А. Ю., Макеева И. М., Павлов Ч. С., Расаматов Б. Б., Озден К. А., Ларионов Д. И., Исайкина М. А., Мутаев О. М. // Patents.Google : официальный сайт. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU227760U1/ru>.
51. Патогенетический подход к коррекции морфофункциональных нарушений в тканях пародонта у пациентов с хроническим гингивитом / И. С. Агафонова, С. Н. Ермольев, Р. А. Айвазова [и др.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2024. – Т. 24. – № 1 (89). – С. 34-40.
52. Полежаева, П. Э. Биохимические маркеры при пародонтите / П. Э. Полежаева, А. А. Дымочка // Наукосфера. – 2025. – № 11-2. – С. 112-120.
53. Протеомный профиль ротовой жидкости у пациентов с сосудистыми когнитивными расстройствами / М. Ю. Максимова, С. Н. Иллариошкин, А. В. Митронин, О. А. Антонова // Нервные болезни. – 2023. – № 3. – С. 9-13.
54. Расаматов, Б. Б. Роль анализа ротовой жидкости в оценке активности воспаления при пародонтите / Б. Б. Расаматов // Сборник тезисов научно-практических конференций молодых ученых : тезисы докладов / ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации ; Научно-практическая конференция молодых ученых, Москва, 22 апреля 2025 г. ; Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии», Москва, 15 мая 2025 г. – Москва : ФГБУ ДПО «ЦГМА», 2025. – С. 109-110.

55. Саливарные факторы роста у пациентов с хроническим пародонтитом / В. В. Базарный, Л. Г. Полушина, Е. А. Семенцова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2021. – Т. 102. – № 5. – С. 636-641.
56. Самородская, И. В. Динамика региональных показателей смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и когнитивные нарушения в России 2019-2021 годах / И. В. Самородская, М. А. Старинская, С. А. Бойцов // Российский кардиологический журнал. – 2023. – Т. 28. – № 4. – С. 5256.
57. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2025625308 Российская Федерация. SalivaMonitor: база данных биомаркеров ротовой жидкости для диагностики и мониторинга заболеваний : № 2025624981 : заявл. 07.11.2025 : опубл. 19.11.2025 / Тимашев П. С., Туркина А. Ю., Макеева И. М., Расаматов Б. Б., Озден К. А., Семина А. А., Шишков В. В., Семитко С. П., Киреева А. Ю. // Федеральная служба по интеллектуальной собственности. – Бюллетень № 11.
58. Связь воспалительных заболеваний пародонта с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротического генеза и артериальной гипертензией (обзор) / В. С. Василенко, И. Н. Антонова, Е. В. Матвеева [и др.] // Медицина: теория и практика. – 2023. – Т. 8. – № 1. – С. 3-17.
59. Связь пародонтита с возникновением сердечно-сосудистых заболеваний / Ж. А. Хабжокова, Н. Л. Шугунова, Ж. Л. Шогенова [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2020. – № 10 (193). – С. 121-125.
60. Связь состояния соматического здоровья с заболеваниями тканей пародонта и зубов в реальной клинической практике / М. Н. Мамедов, В. А. Куценко, Э. Ф. Керимов [и др.] // Профилактическая медицина. – 2022. – Т. 25. – № 2. – С. 66-73.
61. Сиалометрия как способ диагностики ксеростомии и оценки секреторной функции (обзорная статья) / С. Е. Орлова, В. А. Иванова, И. А. Дегтев [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2021. – № 4. – С. 1-9.
62. Современные методы лечения хронического пародонтита / Л. П. Герасимова, Ф. Х. Камилов, И. Ф. Ибрагимова [и др.] // Проблемы стоматологии. – 2024. – Т. 20. – № 4. – С. 28-39.

63. Современный взгляд на клиническую ценность исследования ротовой жидкости в практике врача-педиатра / О. В. Борисова, Г. А. Маковецкая, Ф. Н. Гильмиярова [и др.] // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16. – № 19. – С. 139-145.
64. Содержание микро- и макроэлементов в ротовой жидкости при разной интенсивности кариеса зубов / О. А. Успенская, М. Л. Жданова, Е. Л. Кострова, Ю. П. Потехина // Российский остеопатический журнал. – 2022. – № 3 (58). – С. 45-53.
65. Спектральный анализ ротовой жидкости пациентов с хроническими формами нарушения мозгового кровообращения / А. В. Митронин, О. А. Антонова, В. И. Привалов [и др.] // Российская стоматология. – 2023. – Т. 16. – № 1. – С. 3-6.
66. Стоматит и родственные поражения (K12; K12.0; K12.1; K12.3) : клинические рекомендации / Ассоциация общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России». – 2024. – URL: https://e-stomatology.ru/director/protokols/clin_rec_jan2025/013.docx (дата обращения: 20.03.2026). – Текст : электронный.
67. Сычева, Ю. А. Коморбидность патологии пародонта и ишемической болезни сердца / Ю. А. Сычева, И. А. Горбачева, П. С. Шабак-Спасский // University Therapeutic Journal. – 2023. – Т. 5. – № 4. – С. 63-72.
68. Успенская, О. А. Динамика маркеров перекисного окисления липидов ротовой жидкости при хроническом пародонтите / О. А. Успенская, Е. В. Кондюрова, С. А. Спиридонова // Институт стоматологии. – 2021. – № 2 (91). – С. 74-75.
69. Успенская, О. А. Динамика химических элементов ротовой жидкости после отбеливания зубов / О. А. Успенская, Л. Я. Никуличева // Медицинский альманах. – 2024. – № 2 (79). – С. 76-80.
70. Успенская, О. А. Изучение макро- и микроэлементного состава ротовой жидкости при проведении профессионального отбеливания зубов / О. А. Успенская, Л. Я. Никуличева // Проблемы стоматологии. – 2024. – Т. 20. – № 1. – С. 92-100.

71. Успенская, О. А. Состояние системы гемостаза при генерализованном пародонтите / О. А. Успенская, Е. В. Кондюрова, И. И. Фадеева // Институт стоматологии. – 2021. – № 4 (93). – С. 88-89.
72. Успенская, О. А. Цитокиновый профиль при лечении хронического генерализованного пародонтита / О. А. Успенская, Е. В. Кондюрова, И. И. Фадеева // Проблемы стоматологии. – 2020. – Т. 16. – № 4. – С. 64-70.
73. Физико-химические свойства и уровень С-реактивного белка ротовой жидкости при пародонтите, ишемической болезни сердца и их сочетании / К. А. Озден, Б. Б. Расаматов, А. Ю. Киреева, И. А. Никольская, А. Ю. Туркина, И. М. Макеева // Медицинский алфавит. – 2026. – № 20. – С. 35-42.
74. Хронический пародонтит (K05.3) : клинические рекомендации (протоколы лечения) / Ассоциация общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России». – 2024. – URL: https://e-stomatology.ru/director/protokols/clin_rec_jan2025/025.docx (дата обращения: 20.03.2026). – Текст : электронный.
75. Чуйкин, О. С. Гематосаливарный барьер в клинической практике / О. С. Чуйкин, М. И. Штанько, К. Н. Кучук // Проблемы стоматологии. – 2021. – Т. 17. – № 2. – С. 62-67.
76. Этиопатогенетические особенности ксеростомического синдрома у подростков с сахарным диабетом 1-го типа с различным уровнем метаболического контроля / М. М. Щербакова, Н. Б. Захарова, А. В. Севбитов [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2026. – Т. 34. – № 1. – С. 5-15.
77. Accuracy of periodontitis diagnosis obtained using multiple molecular biomarkers in oral fluids: A systematic review and meta-analysis / T. Blanco-Pintos, A. Regueira-Iglesias, I. Seijo-Porto [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2023. – Vol. 50. – № 11. – P. 1420-1443.
78. Accuracy of single molecular biomarkers in saliva for the diagnosis of periodontitis: A systematic review and meta-analysis / N. Arias-Bujanda, A. Regueira-

Iglesias, C. Balsa-Castro [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2020. – Vol. 47. – № 1. – P. 2-18.

79. Active MMP-8 (aMMP-8) as a Grading and Staging Biomarker in the Periodontitis Classification / T. Sorsa, S. Alassiri, A. Grigoriadis [et al.] // Diagnostics. – 2020. – Vol. 10. – № 2. – P. 61.

80. Actuality of studying the steroid profile of saliva in the planning of dental implantation / Z. Khabadze, J. Generalova, A. Nedashkovsky [et al.] // Journal of International Dental and Medical Research. – 2021. – Vol. 14. – № 1. – P. 344-349.

81. An optimised saliva collection method to produce high-yield, high-quality RNA for translational research / R. Sullivan, S. Heavey, D. G. Graham [et al.] // PLOS ONE. – 2020. – Vol. 15. – № 3. – P. e0229791.

82. Assessing salivary C-reactive protein: Longitudinal associations with systemic inflammation and cardiovascular disease risk in women exposed to intimate partner violence / D. Out, R. J. Hall, D. A. Granger [et al.] // Brain, Behavior, and Immunity. – 2012. – Vol. 26. – № 4. – P. 543-551.

83. Balakumar, P. Cardiovascular drugs-induced oral toxicities: A murky area to be revisited and illuminated / P. Balakumar, M. Kavitha, S. Nanditha // Pharmacological Research. – 2015. – Vol. 102. – P. 81-89.

84. Basic principles of biobanking: from biological samples to precision medicine for patients / L. Annaratone, G. De Palma, G. Bonizzi [et al.] // Virchows Archiv. – 2021. – Vol. 479. – № 2. – P. 233-246.

85. Belstrøm, D. The salivary microbiota in health and disease / D. Belstrøm // Journal of Oral Microbiology. – 2020. – Vol. 12. – № 1. – P. 1723975.

86. Best Practice Recommendations for the Measurement and Interpretation of Salivary Proinflammatory Cytokines in Biobehavioral Research / J. L. Riis, H. Ahmadi, K. R. Hamilton [et al.] // Brain, Behavior, and Immunity. – 2021. – Vol. 91. – P. 105-116.

87. Biomarkers of Cardiovascular Diseases in Saliva and Gingival Crevicular Fluid: A Review / A. Szustkiewicz-Karoń, M. Schönborn, P. Pasięka [et al.] // Angiology. – 2023. – Vol. 74. – № 10. – P. 909-947.

88. Can smoking alter salivary homeostasis? A systematic review on the effects of traditional and electronic cigarettes on qualitative and quantitative saliva parameters / S. Zięba, A. Zalewska, P. Żukowski, M. Maciejczyk // *Dental and Medical Problems*. – 2024. – Vol. 61. – № 1. – P. 129-144.
89. Changes in salivary flow rate, pH, and viscosity among working men and women / S. Govindaraj, M. J. Daniel, S. S. Vasudevan, J. V. Kumaran // *Dentistry and Medical Research*. – 2019. – Vol. 7. – № 2. – P. 56-59.
90. Characteristics of medication-induced xerostomia and effect of treatment / K. Ito, N. Izumi, S. Funayama [et al.] // *PLOS ONE*. – 2023. – Vol. 18. – № 1. – P. e0280224.
91. Choo, P. J. A retrospective study of drugs associated with xerostomia from the Australian Database of Adverse Event Notifications / P. J. Choo, M.-W. Taing, L. Teoh // *The International Journal of Pharmacy Practice*. – 2022. – Vol. 30. – № 6. – P. 548-553.
92. Clinical periodontal diagnosis / G. E. Salvi, A. Roccuzzo, J.-C. Imber [et al.] // *Periodontology 2000*. – 2023. – P. 1-19.
93. Comparative evaluation of saliva collection methods for proteome analysis / C. Golatowski, M. G. Salazar, V. M. Dhople [et al.] // *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. – 2013. – Vol. 419. – P. 42-46.
94. Comparison of biomarkers in blood and saliva in healthy adults / S. Williamson, C. Munro, R. Pickler [et al.] // *Nursing Research and Practice*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 246178.
95. Comparison of C-Reactive Protein in Dried Blood Spots and Saliva of Healthy Adolescents / A.-C. Plank, J. Maschke, N. Rohleder [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 795580.
96. Comparison of passive drool and cotton-based collection methods for salivary C-reactive protein measurement / J. C. Y. Yau, T. C. T. Fong, A. H. Y. Wan, R. T. H. Ho // *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council*. – 2022. – Vol. 34. – № 9. – P. e23782.
97. Çorbacioğlu, Ş. K. Receiver operating characteristic curve analysis in diagnostic accuracy studies: A guide to interpreting the area under the curve value / Ş. K.

- Çorbacıoğlu, G. Aksel // Turkish Journal of Emergency Medicine. – 2023. – Vol. 23. – № 4. – P. 195-198.
98. C-reactive protein and cardiovascular risk in the general population / B. Kurt, M. Reugels, K. M. Schneider [et al.] // European Heart Journal. – 2026. – Vol. 47. – № 15. – P. 1799-1810.
99. C-reactive protein in gingival crevicular fluid may be indicative of systemic inflammation / E. Megson, T. Fitzsimmons, K. Dharmapatni, P. M. Bartold // Journal of Clinical Periodontology. – 2010. – Vol. 37. – № 9. – P. 797-804.
100. Dawes, C. Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition / C. Dawes // The Journal of Physiology. – 1972. – Vol. 220. – № 3. – P. 529-545.
101. Dawes, C. Role of Saliva and Salivary Diagnostics in the Advancement of Oral Health / C. Dawes, D. T. W. Wong // Journal of Dental Research. – 2019. – Vol. 98. – № 2. – P. 133-141.
102. Degrees of xerostomia? A Rasch analysis of the Xerostomia Inventory / P. H. R. Santiago, Y. Song, K. Hanna, R. Nair // Community Dentistry and Oral Epidemiology. – 2020. – Vol. 48. – № 1. – P. 63-71.
103. Delrue, C. Unlocking the Diagnostic Potential of Saliva: A Comprehensive Review of Infrared Spectroscopy and Its Applications in Salivary Analysis / C. Delrue, S. De Bruyne, M. M. Speeckaert // Journal of Personalized Medicine. – 2023. – Vol. 13. – № 6. – P. 907.
104. Diagnostic accuracy of salivary active matrix metalloproteinase (aMMP)-8 point-of-care test for detecting periodontitis in adults: A systematic review and meta-analysis / S. Wei, T. Lin, G. Sáenz-Ravello [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2024. – Vol. 51. – № 8. – P. 1093-1108.
105. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications / T. Pfaffe, J. Cooper-White, P. Beyerlein [et al.] // Clinical Chemistry. – 2011. – Vol. 57. – № 5. – P. 675-687.
106. Efficacy of nonsurgical periodontal therapy affecting salivary biomarkers in non-diabetic and type 2 diabetic periodontitis patients. An observational study / S. A.

Hungund, V. B. Desai, M. Shah [et al.] // Journal of Oral Biology and Craniofacial Research. – 2023. – Vol. 13. – № 4. – P. 500-505.

107. Estimation of Salivary Creatine Kinase Level and Periodontal Health Status among Type II Diabetic and Nondiabetic Patients with Chronic Periodontitis / A. M. Khalel, T. S. Abbas, S. H. Ali, M. B. Ali // European Journal of General Dentistry. – 2025. – Vol. 14. – № 3. – P. 354-360.

108. Evaluation of saliva collection devices for the analysis of proteins / E. Topkas, P. Keith, G. Dimeski [et al.] // Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry. – 2012. – Vol. 413. – № 13-14. – P. 1066-1070.

109. Evaluation of Salivary Biomarkers of Periodontal Disease Based on Smoking Status: A Systematic Review / J.-W. Noh, J.-H. Jang, H.-S. Yoon [et al.] // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2022. – Vol. 19. – № 21. – P. 14619.

110. Evaluation of Salivary Diagnostics: Applications, Benefits, Challenges, and Future Prospects in Dental and Systemic Disease Detection / H. Albagieh, A. Z. Alshehri, A. S. Alduraywishi [et al.] // Cureus. – 2025. – Vol. 17. – № 1. – P. e77520.

111. Examining potential confounding factors in gene expression analysis of human saliva and identifying potential housekeeping genes / P. Ostheim, S. W. Alemu, A. Tichý [et al.] // Scientific Reports. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 2312.

112. Fey, J. M. H. Saliva Collection Methods Among Children and Adolescents: A Scoping Review / J. M. H. Fey, F. J. Bikker, D. Hesse // Molecular Diagnosis & Therapy. – 2024. – Vol. 28. – № 1. – P. 15-26.

113. Garde, A. H. Long-term stability of salivary cortisol / A. H. Garde, A. M. Hansen // Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. – 2005. – Vol. 65. – № 5. – P. 433-436.

114. Gingival Crevicular Fluid (GCF): A Diagnostic Tool for the Detection of Periodontal Health and Diseases / T. Fatima, Z. Khurshid, A. Rehman [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – № 5. – P. 1208.

115. Goodson, J. M. Gingival crevice fluid flow / J. M. Goodson // Periodontology 2000. – 2003. – Vol. 31. – P. 43-54.

116. Gröschl, M. Influence of commercial collection devices for saliva on the reliability of salivary steroids analysis / M. Gröschl, M. Rauh // *Steroids*. – 2006. – Vol. 71. – № 13-14. – P. 1097-1100.
117. Guidelines for the standardization of pre-analytical variables for salivary biomarker studies in Alzheimer's disease research: An updated review and consensus of the Salivary Biomarkers for Dementia Research Working Group / T. K. S. Ng, C. Udeh-Momoh, M.-A. Lim [et al.] // *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*. – 2025. – Vol. 21. – № 2. – P. e14420.
118. Heart Disease and Stroke Statistics-2023 Update: A Report From the American Heart Association / C. W. Tsao, A. W. Aday, Z. I. Almarzooq [et al.] // *Circulation*. – 2023. – Vol. 147. – № 8. – P. e93-e621.
119. Human Saliva Collection Devices for Proteomics: An Update / Z. Khurshid, S. Zohaib, S. Najeeb [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17. – № 6. – P. 846.
120. Idrees, M. Assessing the association between unstimulated whole salivary flow rate (UWSFR) and oral health status among healthy adult subjects: A cross-sectional study / M. Idrees, M.-Z. Nassani, O. Kujan // *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. – 2018. – Vol. 23. – № 4. – P. e384-e390.
121. Impact of medications on salivary flow rate in patients with xerostomia: a retrospective study by the Xeromeds Consortium / G. Fortuna, S. Whitmire, K. Sullivan [et al.] // *Clinical Oral Investigations*. – 2023. – Vol. 27. – № 1. – P. 235-248.
122. In Vivo Vascular Permeability Detection in Mouse Submandibular Gland / X. Mao, S. Min, Q. He, X. Cong // *Journal of Visualized Experiments: JoVE*. – 2022. – № 186. – P. e64167.
123. Increased expression of C-reactive protein gene in inflamed gingival tissues could be derived from endothelial cells stimulated with interleukin-6 / T. Maekawa, K. Tabeta, K. Kajita-Okui [et al.] // *Archives of Oral Biology*. – 2011. – Vol. 56. – № 11. – P. 1312-1318.
124. Integration of salivary biomarkers into developmental and behaviorally-oriented research: problems and solutions for collecting specimens / D. A. Granger, K. T.

Kivlighan, C. Fortunato [et al.] // *Physiology & Behavior*. – 2007. – Vol. 92. – № 4. – P. 583-590.

125. Jasim, H. The diurnal pattern of cytokines, chemokines and growth factors in human saliva—a pilot study / H. Jasim, B. Ghafouri, M. Ernberg // *Frontiers in Dental Medicine*. – 2024. – Vol. 5. – P. 1420081.

126. Levels of myeloid-related proteins in saliva for screening and monitoring of periodontal disease / R. Lira-Junior, S. M. Bissett, P. M. Preshaw [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2021. – Vol. 48. – № 11. – P. 1430-1440.

127. Lott, J. A. Creatine kinase isoenzymes / J. A. Lott, L. B. Abbott // *Clinics in Laboratory Medicine*. – 1986. – Vol. 6. – № 3. – P. 547-576.

128. Lu, Q. Human gingiva is another site of C-reactive protein formation / Q. Lu, L. Jin // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2010. – Vol. 37. – № 9. – P. 789-796.

129. Medawati, A. Xerostomia as a Side Effect of Antihypertensive Drug Use: A Literature Review / A. Medawati, A. N. Sari // *International Journal of Integrative Sciences*. – 2025. – Vol. 4. – № 11. – P. 2749-2756.

130. Methodological Considerations in Saliva-Based Biomarker Research: Addressing Patient-Specific Variability in Translational Research Protocols / S. Xu, A. N. Mumuni, R. T. S. Tuason, K. A. Maki // *Current Protocols*. – 2025. – Vol. 5. – № 10. – P. e70235.

131. Mixed saliva of chemical industry workers in the context of X-ray fluorescence analysis / A. V. Mitronin, A. M. Fulova, A. A. Rozhdestvenskaya, A. A. Prokopov // *Endodontics Today*. – 2026. – Vol. 24. – № 2. – P. 417-424.

132. Morning vs. afternoon saliva: limited diurnal variation in ion composition of unstimulated whole saliva / J. S. van Santen, Z. Assy, M. Shanor [et al.] // *Clinical Oral Investigations*. – 2026. – Vol. 30. – № 3. – P. 105.

133. Mortazavi, H. Extensive comparison of salivary collection, transportation, preparation, and storage methods: a systematic review / H. Mortazavi, A.-A. Yousefi-Koma, H. Yousefi-Koma // *BMC Oral Health*. – 2024. – Vol. 24. – № 1. – P. 168.

134. Mouliou, D. S. C-Reactive Protein: Pathophysiology, Diagnosis, False Test Results and a Novel Diagnostic Algorithm for Clinicians / D. S. Mouliou // *Diseases*. – 2023. – Vol. 11. – № 4. – P. 132.

135. Multimodal Noninvasive Assessment of C-Reactive Protein for Systemic Inflammation in Adults: Cross-Sectional Study / J. Shim, S. Muraru, V. Löw [et al.] // JMIR Formative Research. – 2025. – Vol. 9. – P. e77108.
136. Navazesh, M. Measuring salivary flow: challenges and opportunities / M. Navazesh, S. K. S. Kumar // Journal of the American Dental Association. – 2008. – Vol. 139, Suppl. – P. 35S-40S.
137. Nunes, L. A. S. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review / L. A. S. Nunes, S. Mussavira, O. S. Bindhu // Biochemia Medica. – 2015. – Vol. 25. – № 2. – P. 177-192.
138. Öçbe, M. An overlooked connection: oral health status in patients with chronic diseases / M. Öçbe, E. Çelebi, Ç. B. Öçbe // BMC Oral Health. – 2025. – Vol. 25. – P. 314.
139. Omer, B. R. Correlation between Visfatin and Creatine Kinase Levels with Periodontal Health Status of Patients with Coronary Atherosclerosis and Chronic Periodontitis / B. R. Omer, M. S. Mahmood // Journal of Baghdad College of Dentistry. – 2016. – Vol. 28. – № 3. – P. 121-125.
140. Oral and General Health Implications of Alcoholism: A review of the literature / M. Morcilio, Y. G. Reibel, N. Theis-Mahon [et al.] // Journal of Dental Hygiene: JDH. – 2025. – Vol. 99. – № 1. – P. 41-54.
141. Oral fluids that detect cardiovascular disease biomarkers / J. D. Foley, J. D. Sneed, S. R. Steinhubl [et al.] // Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. – 2012. – Vol. 114. – № 2. – P. 207-214.
142. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis / M. Chen, W. Cai, S. Zhao [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2019. – Vol. 46. – № 6. – P. 608-622.
143. Periodontal disease and subsequent risk of cardiovascular outcome and all-cause mortality: A meta-analysis of prospective studies / X. Guo, X. Li, C. Liao [et al.] // PLOS ONE. – 2023. – Vol. 18. – № 9. – P. e0290545.

144. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report / M. Sanz, A. Marco Del Castillo, S. Jepsen [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2020. – Vol. 47. – № 3. – P. 268-288.
145. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions / P. N. Papapanou, M. Sanz, N. Buduneli [et al.] // *Journal of Periodontology*. – 2018. – Vol. 89, Suppl. 1. – P. S173-S182.
146. Potential impacts of high-sensitivity creatine kinase-MB on long-term clinical outcomes in patients with stable coronary heart disease / Y.-W. Wu, S. K. Ho, W.-K. Tseng [et al.] // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – P. 5638.
147. Prevalence of xerostomia and its association with systemic diseases and medications in the elderly: a cross-sectional study / C. B. Fornari, D. Bergonci, C. B. Stein [et al.] // *Sao Paulo Medical Journal = Revista Paulista De Medicina*. – 2021. – Vol. 139. – № 4. – P. 380-387.
148. Progress in salivary glands: Endocrine glands with immune functions / Y. F. Shang, Y. Y. Shen, M. C. Zhang [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1061235.
149. Pronounced Diurnal Pattern of Salivary C-Reactive Protein (CRP) With Modest Associations to Circulating CRP Levels / J. Wetterö, S. von Löhneysen, F. Cobar [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 607166.
150. Risk factors associated with xerostomia and reduced salivary flow in hypertensive patients / L. Ramírez, I. Sánchez, M. Muñoz [et al.] // *Oral Diseases*. – 2023. – Vol. 29. – № 3. – P. 1299-1311.
151. Roberts, R. Creatine kinase isoenzymes in the assessment of heart disease / R. Roberts, B. E. Sobel // *American Heart Journal*. – 1978. – Vol. 95. – № 4. – P. 521-528.
152. Role of nonsurgical periodontal therapy on leptin levels and total antioxidant capacity in chronic generalised periodontitis patients - A clinical trial / S. Nisha, A. Bettahalli Shivamallu, A. Prashant [et al.] // *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 68-73.

153. S100A8 and S100A9 in saliva, blood and gingival crevicular fluid for screening established periodontitis: a cross-sectional study / H.-D. Kim, S. Karna, Y. Shin [et al.] // BMC Oral Health. – 2021. – Vol. 21. – № 1. – P. 388.
154. Saliva Biobanking: A Scoping Review of Collection, Processing, and Storage Practices to Enhance Diagnostic Potential / M. da S. Spinola, D. V. Ribeiro, G. B. Nery [et al.] // Biopreservation and Biobanking. – 2026. – Vol. 24. – № 2. – P. 157-165.
155. Saliva: Challenges, possibilities, and limits of the diagnostic use Part 2 – Pre-analytical and analytical aspects / L. Barenghi, F. Spadari, A. B. Gianni [et al.] // Biochimica Clinica. – 2022. – Vol. 47. – № 1. – P. 12-28.
156. Saliva sampling: Methods and devices. An overview / F. G. Bellagambi, T. Lomonaco, P. Salvo [et al.] // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2020. – Vol. 124. – P. 115781.
157. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation / S. Chiappin, G. Antonelli, R. Gatti, E. F. De Palo // Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry. – 2007. – Vol. 383. – № 1-2. – P. 30-40.
158. Saliva Versus All-Site Microbiome and Proteome Mapping in Periodontitis / K. Bao, B. Afacan, J. Grossmann [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2025. – Vol. 52. – № 11. – P. 1540-1549.
159. Saliva-based creatine kinase MB measurement as a potential point-of-care testing for detection of myocardial infarction / I. Mirzaei-Dizgah, S. F. Hejazi, E. Riahi, M. M. Salehi // Clinical Oral Investigations. – 2012. – Vol. 16. – № 3. – P. 775-779.
160. Salivary and serum inflammatory biomarkers during periodontitis progression and after treatment / F. R. F. Teles, G. Chandrasekaran, L. Martin [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2024. – Vol. 51. – № 12. – P. 1619-1631.
161. Salivary biomarkers as key to monitor personalized oral healthcare and precision dentistry: A scoping review / P. N. Paqué, J. Hjerpe, A. N. Zuercher [et al.] // Frontiers in Oral Health. – 2022. – Vol. 3. – P. 1003679.
162. Salivary biomarkers associated with myocardial necrosis: results from an alcohol septal ablation model / J. D. Foley, J. D. Sneed, S. R. Steinhubl [et al.] // Oral Surgery,

Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. – 2012. – Vol. 114. – № 5. – P. 616-623.

163. Salivary biomarkers for diagnosis of acute myocardial infarction: A systematic review / D. Tuttolomondo, R. Antonelli, G. Setti [et al.] // International Journal of Cardiology. – 2023. – Vol. 371. – P. 54-64.

164. Salivary biomarkers in cardiovascular disease: An insight into the current evidence / E. I. Bahbah, C. Noehammer, W. Pulverer [et al.] // The FEBS Journal. – 2021. – Vol. 288. – № 22. – P. 6392-6405.

165. Salivary biomarkers: novel noninvasive tools to diagnose chronic inflammation / P. Dongiovanni, M. Meroni, S. Casati [et al.] // International Journal of Oral Science. – 2023. – Vol. 15. – P. 27.

166. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities / J. M. Yoshizawa, C. A. Schafer, J. J. Schafer [et al.] // Clinical Microbiology Reviews. – 2013. – Vol. 26. – № 4. – P. 781-791.

167. Salivary Changes, Systemic Conditions, and Medication Use in Independently-Living Aged: A Cross-Sectional Study / N. T. T. Branco, R. de B. Ribeiro, D. J. B. Dutra [et al.] // Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada. – 2024. – Vol. 24. – P. e220076.

168. Salivary creatine kinase MB in myocardial infarction / H. Mortazavi, S. Ebrahimi, M. Baharvand, S. Sabour // South African Dental Journal. – 2016. – Vol. 71. – № 3. – P. 112-115.

169. Salivary diagnostics: Bridging dentistry and medicine: A systematic review / D. Benni, Pallavi K. M., T. Maddukuri [et al.] // Bioinformation. – 2024. – Vol. 20. – № 12. – P. 1754-1759.

170. Salivary diagnostics: opportunities and challenges / Y. Li, Y. Ou, K. Fan, G. Liu // Theranostics. – 2024. – Vol. 14. – № 18. – P. 6969-6990.

171. Salivary High-Sensitivity C-Reactive Protein and Its Clinical Relevance in Modern Medicine: A Comprehensive Review / G. N. Bedi, S. Acharya, S. Kumar, S. A. Mapari // Cureus. – 2024. – Vol. 16. – № 4. – P. e58165.

172. Salivary IL-1 β , IL-6, and IL-10 Are Key Biomarkers of Periodontitis Severity / M. Relvas, A. Mendes-Frias, M. Gonçalves [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 15. – P. 8401.
173. Salivary levels of inflammatory and anti-inflammatory biomarkers in periodontitis patients with and without acute myocardial infarction: implications for cardiovascular risk assessment / S. Varma, B. Thomas, K. Subrahmanyam [et al.] // Frontiers in Oral Health. – 2024. – Vol. 5. – P. 1332980.
174. Salivary Proteomics for Detecting Novel Biomarkers of Periodontitis: A Systematic Review / M. Corana, G. Baima, G. Iaderosa [et al.] // Journal of Periodontal Research. – 2025. – Vol. 60. – № 7. – P. 633-655.
175. Sample Stability and Protein Composition of Saliva: Implications for Its Use as a Diagnostic Fluid / D. Esser, G. Alvarez-Llamas, M. P. de Vries [et al.] // Biomarker Insights. – 2008. – Vol. 3. – P. 25-27.
176. Sayar, F. Effect of nonsurgical periodontal therapy on the level of salivary antioxidants in patients with generalized moderate-to-severe chronic periodontitis / F. Sayar, R. Shariatmadar Ahmadi, M. Montazeri // Journal of Advanced Periodontology & Implant Dentistry. – 2019. – Vol. 11. – № 1. – P. 21-27.
177. Serum C-Reactive Protein and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis / V. Machado, J. Botelho, C. Escalda [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12. – P. 706432.
178. Spielmann, N. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives / N. Spielmann, D. T. Wong // Oral Diseases. – 2011. – Vol. 17. – № 4. – P. 345-354.
179. Szabo, Y. Z. Measuring salivary markers of inflammation in health research: A review of methodological considerations and best practices / Y. Z. Szabo, D. C. Slavish // Psychoneuroendocrinology. – 2021. – Vol. 124. – P. 105069.
180. The impact of saliva collection methods on measured salivary biomarker levels / H. Al Habobe, E. B. Haverkort, K. Nazmi [et al.] // Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry. – 2024. – Vol. 552. – P. 117628.

181. The Role of Salivary C-Reactive Protein in Systemic and Oral Disorders: A Systematic Review / M. Babaei, S. Rezaei, S. Saghafi Khadem [et al.] // Medical Journal of the Islamic Republic of Iran. – 2022. – Vol. 36. – P. 138.
182. The Xerostomia Inventory: a multi-item approach to measuring dry mouth / W. M. Thomson, J. M. Chalmers, A. J. Spencer, S. M. Williams // Community Dental Health. – 1999. – Vol. 16. – № 1. – P. 12-17.
183. Tonetti, M. S. Implementation of the new classification of periodontal diseases: Decision-making algorithms for clinical practice and education / M. S. Tonetti, M. Sanz // Journal of Clinical Periodontology. – 2019. – Vol. 46. – № 4. – P. 398-405.
184. Treatment of periodontitis and C-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials / S. Luthra, M. Orlandi, S. B. Hussain [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2023. – Vol. 50. – № 1. – P. 45-60.
185. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline / M. Sanz, D. Herrera, M. Kebschull [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2020. – Vol. 47, Suppl. 22. – P. 4-60.
186. Ultra-deep and quantitative saliva proteome reveals dynamics of the oral microbiome / N. Grassl, N. A. Kulak, G. Pichler [et al.] // Genome Medicine. – 2016. – Vol. 8. – P. 44.
187. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results / E. A. Shirtcliff, D. A. Granger, E. Schwartz, M. J. Curran // Psychoneuroendocrinology. – 2001. – Vol. 26. – № 2. – P. 165-173.
188. Utility of Salivary Biomarkers for Demonstrating Acute Myocardial Infarction / C. S. Miller, J. D. Foley, P. N. Floriano [et al.] // Journal of Dental Research. – 2014. – Vol. 93. – № 7, Suppl. – P. 72S-79S.
189. Validation of a Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Allopregnanolone in the Saliva of Healthy Pregnant Women / M. K. Grötsch, D. M. Wietor, T. Hettich, U. Ehlert // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12. – № 10. – P. 1381.

190. Validation of a high-sensitivity assay for C-reactive protein in human saliva / I. Ouellet-Morin, A. Danese, B. Williams, L. Arseneault // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2011. – Vol. 25. – № 4. – P. 640-646.
191. What Is the Normal Salivary Flow Rate in Healthy Adults? A Systematic Review with Meta-Analyses / J. R. da Silva, R. C. R. Marques, F. P. S. Nunes [et al.] // *JDR Clinical and Translational Research*. – 2026. – Vol. 11. – № 2. – P. 117-132.
192. Woodman, M. J. Beta-blockers for tenacious saliva: a case report / M. J. Woodman, P. Howard // *BMJ Supportive & Palliative Care*. – 2023. – Vol. 13. – № e3. – P. e936-e938.
193. World Health Organization : official website. Cardiovascular diseases (CVDs) : fact sheet. – URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-%28cvds%29> (дата обращения: 19.05.2026). – Текст : электронный.
194. Xerostomia and Salivary Flow in Patients Taking Antihypertensive Drugs / L. Ramírez Martínez-Acitores, F. Hernández Ruiz de Azcárate, E. Casañas [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2020. – Vol. 17. – № 7. – P. 2478.
195. Xerostomia in primary care: a register-based study of prevalence, medication categories, and associated risk factors / V. Rughwani, J. Miao Jonasson, B. Marklund [et al.] // *Frontiers in Oral Health*. – 2025. – Vol. 6. – P. 1684568.
196. Yen, E. Technical Considerations and Protocol Optimization for Neonatal Salivary Biomarker Discovery and Analysis / E. Yen, T. Kaneko-Tarui, J. L. Maron // *Frontiers in Pediatrics*. – 2021. – Vol. 8. – P. 618553.
197. Zięba, S. Ethanol- and Cigarette Smoke-Related Alternations in Oral Redox Homeostasis / S. Zięba, M. Maciejczyk, A. Zalewska // *Frontiers in Physiology*. – 2022. – Vol. 12. – P. 793028.