

УДК 616.316.-008.839.6-074

*О.І. Залюбовська, Т.І. Тюпка, В.В. Зленко, Ю.Н. Авідзба,
М.І. Литвиненко, О.М. Яворська*

Харківський національний медичний університет

САЛІВОДІАГНОСТИКА: РЕАЛІЇ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Діагностичні можливості слини на сьогоднішній час недостатньо вивчені і зараз відбувається стадія накопичення знань в цій галузі. Подальше вивчення і впровадження в практичну медицину нових лабораторних методів дослідження слини дозволить розширити перспективи для профілактики, діагностики та моніторингу різних захворювань.

Ключові слова: *слина, лабораторна діагностика, слинні залози.*

Саліводіагностику (дослідження слини) на теперішній час вважають одним із перспективних методів лабораторної діагностики. Навіть короточасні і незначні хімічні і метаболічні порушення в організмі здатні змінювати властивості слини. Слину використовували в клінічній діагностиці з давнини, а лікарі китайської медицини вважали слину і кров двійниками, що є однаковими за походженням [1]. В останні роки дослідження слини отримали широке розповсюдження, було доведено її важливе значення в забезпеченні загального гомеостазу організму та її тісний зв'язок з кров'ю. Кількість публікацій, присвячених дослідженню слини, щорічно зростає. Безсумнівно, секрет слинної залози є одним з найбільш перспективних об'єктів для дослідження. Слина – єдина біологічна рідина з унікальним набором дослідницьких можливостей, які передбачають неінвазивний, багаторазовий і майже необмежений за обсягом забір матеріалу [2, 3]. На жаль, ще залишається нез'ясованим механізм, що регулює підтримку певного складу слини. Велику увагу клінічних фахівців привертають нові лабораторні методи аналізу слини з метою отримання різноманітної діагностичної інформації. Новий етап дослідження слини почався у зв'язку з появою серії нових біологічних дисциплін, заснованих на інших методичних підходах, і з використанням більш чутливих методів (насамперед мас-спектрометрії). Найбільше значення в дослідженні слини як діагностичної біологічної рідини зараз мають протеоміка і біоінформатика [1, 4, 5], оскільки більшість

наукових проривів здійснено саме в дослідженнях білкового й пептидного складу слини.

Сьогодні інтерес до дослідження слини з метою діагностики захворювань порожнини рота розширився, оскільки з'явилися численні нові дані про взаємозв'язок слинних залоз з багатьма системами організму, розроблені нові методи аналітичної і молекулярної діагностики. Таким чином, виникла можливість використовувати слину для діагностики не тільки стоматологічних, але й різних соматичних захворювань.

В цьому огляді наведені узагальнені дані вітчизняних і зарубіжних наукових робіт з питань саліводіагностики.

Слина (лат. *saliva*) – складна біологічна рідина, яка є комплексним секретом великих і малих слинних залоз. Вона виконує ряд важливих функцій, порушення яких призводить до виникнення багатьох захворювань, з одного боку (це стосується насамперед стоматологічної патології), а з іншого – може бути наслідком різних соматичних захворювань. До основних функцій слини відносять секреторну, захисну, трофічну, буферну, регуляторну, видільну та ін. Порушення функцій слини можуть бути пов'язані як із кількісними, так і з якісними змінами її складу [3].

Щодня слинними залозами людини продукується від 0,5 до 2,0 л слини. Її рН коливається від 5,5 до 8,0. Швидкість секреції слини людини складає 0,24 мл/хв. Однак вона може коливатися у стані спокою від 0,01 до 18,0 мл/хв і зростати при жуванні їжі до 200 мл/хв [3, 6].

© О.І. Залюбовська, Т.І. Тюпка, В.В. Зленко та ін. 2016

Зменшення секреції слини (гіпосалівація) є симптомом багатьох захворювань, які супроводжуються дегідратацією тканин: септичних станів, гастроентероколіту, цукрового діабету, а також отруєння нікотином, атропіном, опіатами, синдрому Шегрена, калькульозного сіаладеніту. Збільшення секреції слини (гіперсалівація) спостерігається при запальних захворюваннях тканин порожнини рота (гінгівіті, стоматиті, пародонтиті та ін.), при виразковій хворобі дванадцятипалої кишки, токсикозі вагітних, епідемічному енцефаліті, а також під впливом симпатоміметиків (пілокарпіну, фізостигміну та ін.) [6].

Слина є складним секретом, в якому міститься 99 % води і 1 % розчинених органічних і неорганічних сполук.

Серед органічних компонентів найважливішими є білки, вміст яких становить 2,0–5,0 г/л, зокрема муцин, глікопротеїни, протеоглікани, альбуміни, α -глобуліни, β -глобуліни, а також ферменти лізоцим, амілаза, кисла і лужна фосфатаза, пероксидаза, амінотрансфераза, лактатдегідрогеназа тощо. Крім того, в слині містяться вуглеводи (моно-, дисахариди, глікозаміноглікани), ліпіди (вільні жирні кислоти, фосфоацилгліцероли, холестерол і його ефіри), небілкові азотисті сполуки, вітаміни, гормони. Зміни вмісту, концентрації та активності перелічених органічних компонентів відбуваються при різних захворюваннях і можуть бути використані для їх діагностики [6, 7].

Велику діагностичну роль відіграє визначення білкового складу слини. Сукупність білків слини утворює її протеом. Протеомні дослідження слини стали можливими завдяки методам подвійного електрофорезу та мас-спектрометрії в комбінації з хроматографією, гель-фільтрацією, крапельним електрофорезом тощо [1].

Аналіз та ідентифікація білків слини є важливою умовою для визначення біомаркерів захворювань. Протеомний аналіз слини важливий для діагностики, моніторингу і профілактики різних патологічних станів і захворювань. Так, для діагностики інфекційних хвороб застосовують імуноферментний аналіз, за допомогою якого в слині визначають специфічні антитіла до збудників вірусної й бактеріальної природи (вірусних гепатитів В і С, ВІЛ) як альтернативу аналізу крові на наявність ВІЛ-специфічних IgA. Застосовують метод молекулярної діагностики – полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), при якому

в слині виявляють ДНК- або РНК-носія інфекції. Вміст у слині вірусної ДНК або РНК при гепатиті В і С корелює з такими у сироватці крові. Дослідження слини може бути інформативним тестом діагностики вірусного гепатиту В і С, ВІЛ-інфекції. На відміну від звичайних методик він дозволяє отримати результат не за кілька годин, а лише за 20 хв. Новітній метод ПЛР-дослідження дозволяє проводити аналіз слини на інфекції, наприклад, на токсоплазмоз, цитомегаловірус, мононуклеоз, простий герпес, краснуху, атипові форми пневмонії та інші серйозні захворювання, при яких вчасно поставлений діагноз і своєчасно розпочате лікування полегшує перебіг хвороби і навіть рятує життя хворому [8, 9].

Слина є джерелом генетичних маркерів. Концентрація групоспецифічних глікопротеїнів у слині коливається досить широко: від 10 до 130 мг/л. Аналіз слини на наявність антигеновмісних білків використовують у судовій медицині для визначення групи крові, коли взяття проб крові для цього дослідження неможливе. За складом слини може бути виявлена генетична схильність до таких захворювань, як пародонтоз, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, рак молочної залози та ін. [1, 2, 6].

За допомогою методу мас-спектрометрії був встановлений ряд онкомаркерів, які використовують для ранньої діагностики пухлин голови та шиї. Протеомним дослідженням в слині визначено 26 онкомаркерів плоскоклітинного орального раку, серед яких специфічним, найчутливішим і точнішим є трансферин, збільшення рівня якого спостерігали у хворих на цю патологію. Провівши аналіз слини 30 пацієнток з раком молочної залози, вчені виявили в їхній слині 49 білків-маркерів, які вказують на наявність ракових пухлин. Визначений також специфічний пептид слини, підвищений рівень якого спостерігається у хворих на рак молочної залози. Для пацієнтів подібна діагностика буде зручніше звичного аналізу крові. Здати слину на аналіз можна буде при відвідуванні стоматолога, що заощадить час, пацієнт буде застрахований від небезпеки зараження СНІДом або іншими небезпечними захворюваннями. Виявлено чотири білки в слині у хворих на рак шлунка, які відсутні у здорових людей, що можна також використовувати як скринінгове дослідження з метою ранньої діагностики цієї патології [1, 9, 10, 11].

Змішану слину використовують як об'єкт дослідження при вивченні метаболізму ліків. Встановлена кореляція між кількістю у крові і слині таких лікарських засобів, як фенобарбітал, діазепам, препарати літію. Склад слини може бути використаний для оцінки вмісту в організмі алкоголю і наркотиків. У деяких країнах використовується миттєве дослідження слини водія на предмет виявлення в ній заборонених наркотичних препаратів [6, 7].

Спадкові та набуті порфірії – це хвороби, що пов'язані з порушеннями синтезу гему. Встановлено, що концентрація порфіринів і продуктів їх розпаду в слині корелює з їх концентрацією у крові, тому визначення вмісту порфіринів у слині можна використовувати для діагностики і контролю лікування порфірій [8].

З літературних джерел відомо, що у змішаній слині проявляють активність більше 100 ферментів. Зміни рН слини, які відбуваються при різних запальних захворюваннях тканин пародонта, призводять до порушення активності багатьох ферментів. Так, активність кислій фосфатази в слині, як правило, збільшується при пародонтиті, гінгівіті, карієсі, про що неодноразово повідомлялося різними авторами й пропонується використовувати як маркер запалення, що корелює з тяжкістю перебігу захворювання. У змішаній слині також присутні серинові та цистеїнові протеази лейкоцитів, клітин злушеного епітелію і мікроорганізмів. Кислі лізосомні протеази представлені катепсинами А, В, Н та L. Їх кількість зростає при гінгівітах і пародонтитах. У нормі вони мають низьку активність, оскільки в слині присутні інгібітори цих ферментів [7, 8, 12].

Лізоцим (мурамідаза) слини – фермент, вміст якого складає 0,15–0,25 г/л, тобто близько 5 % усіх білків слини. Лізоцим має високі антибактеріальні властивості, оскільки руйнує клітинну стінку бактерій. Активність лізоциму в слині зменшується при пародонтиті, гінгівіті, патології слинних залоз. Визначення активності лізоциму слини дозволяє оцінити функціональний стан слинних залоз і проєктивні властивості слини при патологічних процесах у ротовій порожнині. Також цей показник широко використовують при розробці нових лікарських засобів на основі лізоциму. Зниження активності лізоциму в слині спостерігають у хворих на рак шлунка [6, 7, 13, 14].

В останні роки велику увагу приділяють вивченню активності ферментів клітинного захисту, а саме антиоксидантних ферментів у змішаній слині: супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, які зменшують швидкість ініціації ланцюгової реакції перекисного окиснення. Встановлено, що показники інтенсивності вільнорадикальних процесів і активності антиоксидантних ферментів у слині є більш чутливими в порівнянні з плазмою крові [6, 7, 15].

Завдяки сучасним технологіям став можливим аналіз слини на гормони.

В клінічній практиці ширше стали використовуватися методи дослідження стероїдних гормонів (тестостерону, андростендіону, дегідроепіандростерону сульфату, прогестерону, естрадіолу, кортизолу) у слині. В клініко-лабораторній діагностиці важливим питанням є співвідношення концентрації стероїдних гормонів у крові і слині. При дослідженні рівня стероїдних гормонів у плазмі крові і слині було встановлено, що їх визначення в слині може мати діагностичне значення, враховуючи тісний кореляційний взаємозв'язок вмісту гормонів у крові і слині як у здорових осіб, так і у хворих [16–18]. Це дослідження дає можливість протягом доби виміряти гормональні коливання, визначити рівень стероїдних гормонів і кортизолу точно в часі. Отримані дані допомагають лікареві правильно призначити і коригувати лікування та прийом медичних препаратів.

Дослідження рівня кортизолу в слині має ряд переваг: методика неінвазивна, займає кілька хвилин, легко виконується пацієнтом і не вимагає допомоги медперсоналу. Зразок слини може бути кориснішим, ніж будь-який зразок плазми або сечі, для протоколів короткострокового динамічного контролю (особливо для діагностики ендогенного гіперкортицизму).

Останнім часом для швидкого мультианалітичного визначення гормонів у слині стали застосовувати білкові чипи. Високу аналітичну чутливість і специфічність має рідинна хроматографія, і її використання є особливо важливим при визначенні гормонів білкової природи. Застосування цієї методики дозволяє виявляти такий низькомолекулярний пептид, як гормон «голоду» – грелін [2, 8, 9].

Слина є біологічним середовищем, що контактує з емаллю зуба і є для неї основним джерелом кальцію, фосфору, цинку та інших мікроелементів, важливих для збереження

зубів. Аналіз вмісту в слині мінеральних речовин широко використовується в діагностиці стоматологічної патології (карієс, гінгівіт, пародонтит, пародонтоз, сіаладеніт тощо) [6–8]. Але в останній час з'явилися повідомлення про діагностичну цінність цих показників і для соматичних хвороб. За даними проведених досліджень встановлено, що у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) рівень кальцію слини статистично достовірно нижчий за референтні показники. Специфічність зниження концентрації кальцію в слині як діагностичного маркера становить 72,7 %, чутливість – 88,7 %. Таким чином, визначення рівня кальцію слини можна застосовувати як простий і надійний неінвазивний діагностичний маркер ГЕРХ. Перспективи подальших досліджень полягають у впровадженні даної діагностичної методики на первинному рівні надання медичної допомоги (окремо або в комплексі з іншими неінвазивними методиками). Методика дозволяє з високим ступенем вірогідності спростувати діагноз ГЕРХ при негативному результаті та обґрунтовано застосовувати інвазивні методи обстеження для точної верифікації діагнозу при позитивному результаті [19].

У складі слини можуть виділятися продукти обміну – сечовина, сечова кислота, деякі лікарські речовини, а також солі свинцю, ртуті та ін., завдяки чому організм звільняється від шкідливих продуктів життєдіяльності. У зв'язку з цим доцільно проводити діагностику нефритів у маленьких дітей за змі-

нами вмісту в слині сечовини, що значно зростає при цьому захворюванні у порівнянні з нормою [7, 8].

Встановлена чітка відповідність між вмістом NO в слині і станом серцево-судинної системи. Рівень NO в секреті слинних залоз є інформативним маркером стану фізіологічних і патофізіологічних реакцій в організмі, які супроводжують артеріальну гіпертензію і бронхіальну астму. При цих станах вміст NO в слині різко збільшується. Вміст нітратів і нітритів у ротовій рідині – досить варіабельна ознака. При кількісній оцінці вмісту NO в порожнині рота слід враховувати не тільки кількість стабільних метаболітів NO, а й активність нітрат-нітритредуктазного комплексу. Накопичення нітритів і нітратів у ротовій рідині при низькій активності редуктазних ферментів є несприятливою прогностичною ознакою і свідчить про запальні процеси в яснах і слизових оболонках верхніх відділів травного тракту [20–26].

Таким чином, слина є клінічно-інформативною біологічною рідиною, яка містить безліч біомаркерів, що робить можливим проведення численних аналізів для розробки способів тестування пацієнта на місці, у тому числі експрес-тестів. Діагностика по слині – нова галузь більш простого використання не тільки маркерів, але й аналізаторів, що може бути корисним при діагностиці захворювань, у тому числі й онкологічних. Використання слини розширює перспективи для постановки клінічного діагнозу, динаміки і моніторингу захворювання.

Список літератури

1. Колесов С.А. Протеом слюны и его диагностические возможности / С.А. Колесов, Л.В. Коркоташвили // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 5. – С. 54–58.
2. Кочурова Е.В. Диагностические возможности слюны / Е.В. Кочурова, С.В. Козлов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 1. – С. 13–15.
3. Лихорад Е.В. Слюна: значение для органов и тканей полости рта в норме и при патологии / Е.В. Лихорад, Н.В. Шаховец // Мед. журнал. – 2013. – № 3. – С. 7–11.
4. Siqueira W.L. The salivary proteome: challenges and perspectives / W.L. Siqueira, C. Daves // Proteomics Clin. Appl. – 2011. – № 5 (11–12). – P. 575–579.
5. Zhang A. Salivary proteomics in biomedical research / A. Zhang, H. Sun, X. Wang // Clin. Chim. Act. – 2013. – № 415. – P. 261–265.
6. Тарасенко Л.М. Биохимия органов полости рта / Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада. – Полтава: Полтава, 2008. – 70 с.
7. Вавилова Т.П. Биологическая химия. Биохимия полости рта / Т.П. Вавилова, А.Е. Медведев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 560 с.
8. Вавилова Т.П. Слюна. Аналитические возможности и перспективы / Т.П. Вавилова, О.О. Янушевич, И.Г. Островская. – М.: Бинум, 2014. – 312 с.
9. Евстигнеев И.В. Определение гормонов и антител в слюне в клинической лабораторной практике / И.В. Евстигнеев // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2014. – № 4 (73). – С. 55–59.

10. Salivary peptidomics / F. Amado, M.J. Lobo, P. Domingues et al. // *Exper. Rev. Proteomics*. – 2010. – № 7 (5). – P. 709–721.
11. Zhang A. Salivary biomarkers for clinical applications / A. Zhang, H. Sun, X. Wang // *Mol. Diagn. Ther.* – 2009. – № 13 (4). – P. 245–259.
12. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости : метод. рекомендации / А.П. Левицкий, О.В. Деньга, О.А. Макаренко и др. – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.
13. Кавушевська Н.С. Дослідження антимікробної активності стоматологічних гелів на основі лізоциму / Н.С. Кавушевська, Т.І. Тюпка, Ю.С. Маслій // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2012. – № 5–6 (22–23). – С. 94–97.
14. Левицкий А.П. Биохимические изменения в пародонте крыс с аллоксановым диабетом и их коррекция лизоцимом / А.П. Левицкий, Е.П. Ступак, А.И. Фурдычко // *Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник української медичної стоматологічної академії*. – 2013. – № 2 (42), Т. 13. – С. 205–208.
15. Role of violations prooxidant-antioxidant homeostasis in the pathogenesis of experimental periodontitis in rats / Т.І. Тюпка, А.О. Минаєва, А.І. Labunets, W. Zukow // *J. Education, Health and Sport*. – 2016. – № 6 (1). – P. 341–348.
16. Вавилова Т.П. Возможности и перспективы исследования гормонов в слюне / Т.П. Вавилова, И.Г. Островская, А.Е. Медведев // *Биомедицинская химия*. – 2014. – № 3 (60). – С. 295–307.
17. Higashi T. Salivary hormone measurement using LC/MS/MS: specific and patient-friendly tool for assessment of endocrine function / T. Higashi // *Biol. Pharm. Bull.* – 2012. – № 35. – P. 1401–1408.
18. Zolotukhin S. Metabolic hormones in saliva: origins and functions / S. Zolotukhin // *Oral Dis.* – 2013. – № 19 (3). – P. 219–229.
19. Бичков Н.А. Цінність неінвазивних методів діагностики гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби / Н.А. Бичков, Ю.А. Бичков, С.В. Бичкова // *Український медичний часопис*. – 2013. – № 5 (97). – С. 124–126.
20. Роль слінних залоз у механізмах ауторегуляції рівня оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушень / В.О. Костенко, А.М. Єлінська, Л.І. Ляшенко та ін. // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. – 2013. – № 2 (42), Т. 13. – С. 10–14.
21. Лазебник Л.Б. Роль оксида азота (NO) в патогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения / Л.Б. Лазебник, В.Н. Дроздов, Е.Н. Барышников // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2005. – № 2. – С. 4–11.
22. Роль NO-синтаз у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у тканинах пародонта і слінних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, А.М. Єлінська, В.В. Талаш, В.О. Костенко // *Світ медицини та біології*. – 2014. – № 2. – С. 139–142.
23. Изменение количества оксида азота в слюне в экзаменационный период / С.М. Минасян, Э.С. Геворкян, А.В. Даян и др. // *Гигиена и санитария*. – 2007. – № 4. – С. 79–81.
24. Особенности секреции оксида азота в слюнных железах у человека в норме и при патологии / О.В. Мячина, А.А. Зуйкова, А.Н. Пашков и др. // *Вестник ВГУ*. – 2006. – № 1. – С. 137–140.
25. Романенко Е.Г. Пути образования оксида азота в полости рта и методы его оценки / Е.Г. Романенко // *Терапевт. стоматология*. – 2013. – № 1. – С. 16–18.
26. Lundberg J.O. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics / J.O. Lundberg, E. Weitzberg, M.T. Gladwin // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2008. – Vol. 7. – № 2. – P. 156–167.

О.И. Залюбовская, Т.И. Тюпка, В.В. Зленко, Ю.Н. Авидзба, Н.И. Литвиненко, Е.Н. Яворская
САЛИВОДИАГНОСТИКА: РЕАЛИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Диагностические возможности слюны на сегодняшний день недостаточно изучены и находятся в стадии накопления знаний в этой области. Дальнейшее изучение и внедрение в практическую медицину новых лабораторных методов исследования слюны позволит расширить перспективы для профилактики, диагностики и мониторинга различных заболеваний.

Ключевые слова: слюна, лабораторная диагностика, слюнные железы.

O.I. Zalyubovska, T.I. Tiupka, V.V. Zlenko, Yu.N. Avidzba, M.I. Litvinenko, O.M. Yavorska
SALIVA DIAGNOSTICS: REALITIES AND PROSPECTS

The diagnostic capabilities of saliva in today's time not well understood and are in the process of accumulation of knowledge in this area. Further study and implementation in medical practice of new laboratory studies of saliva will increase the prospects for prevention, diagnosis and monitoring of various diseases.

Key words: saliva, laboratory diagnostics, salivary gland.

Поступила 11.11.16