

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Константинов Д.Ю., Селезнева И.А., Бородин И.А., Колотьева Н.А., Константинова Е.А., Тлустенко В.С., Лебедева С.С., Темник Е.И., Ремизов В.В.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПРОФИЛЬ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Ротовая жидкость является альтернативным биологическим материалом, подтверждающим корреляционные взаимосвязи с параметрами крови при разнообразных патологических состояниях организма. В целях поиска неинвазивного подхода к стратификации пациентов при заболевании COVID-19 определены молекулярные биомаркеры ротовой жидкости у больных с коронавирусной инфекцией средней степени тяжести в сравнении с клинически здоровыми лицами. Показано, что протеомные, углеводные, макро- и микроэлементные профили ротовой жидкости при коронавирусной инфекции могут применяться для диагностики. Выявлены особенности белкового обмена: увеличение содержания общего белка, мочевины; повышение активности ферментов аспаратаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы, креатинфосфокиназы, щелочной фосфатазы; изменения углеводного обмена, что выражается повышением уровней глюкозы и лактата, увеличением активности лактатдегидрогеназы, содержания натрия, хлоридов, кальция, магния, железа.

Ключевые слова: ротовая жидкость; COVID-19; метаболические параметры.

Для цитирования: Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Константинов Д.Ю., Селезнева И.А., Бородин И.А., Колотьева Н.А., Константинова Е.А., Тлустенко В.С., Лебедева С.С., Темник Е.И., Ремизов В.В. Молекулярный профиль ротовой жидкости при новой коронавирусной инфекции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (3): 133-138. DOI:<http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-3-133-138>

Gilmiyarova F.N., Gusyakova O.A., Konstantinov D.Y., Selezneva I.A., Borodina I.A., Kolotyeva N.A., Konstantinova E.A., Tlustenko V.S., Lebedeva S.S., Temnik E.I., Remizov V.V.

MOLECULAR PROFILE OF ORAL FLUID IN NEW CORONAVIRUS INFECTION

Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia

Oral fluid is an alternative biological material that confirms correlations with blood parameters in various pathological conditions of the body. In order to find a non-invasive approach to stratification of patients with COVID-19 disease, molecular biomarkers of the oral fluid have been determined in patients with moderate coronavirus infection in comparison with clinically healthy individuals. It has been shown that proteomic, carbohydrate, macro- and microelement profiles of the oral fluid in coronavirus infection can be used for diagnostics. The features of protein metabolism were revealed: an increase in the content of total protein, urea; increased activity of enzymes aspartate aminotransferase, gamma glutamyl transpeptidase, creatine phosphokinase, alkaline phosphatase; changes in carbohydrate metabolism, which is expressed by an increase in glucose and lactate levels, an increase in lactate dehydrogenase activity, sodium, chloride, calcium, magnesium, iron content.

Key words: oral fluid; COVID-19; metabolic parameters.

For correspondence: Selezneva I.A., PhD, docent of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: kaf_biohim@samsmu.ru

For citation: Gilmiyarova F.N., Gusyakova O.A., Konstantinov D.Y., Selezneva I.A., Borodina I.A., Kolotyeva N.A., Konstantinova E.A., Tlustenko V.S., Lebedeva S.S., Temnik E.I., Remizov V.V. Molecular profile of oral fluid in new coronavirus infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66(3): 133-138 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-3-133-138>

Information about authors:

Gilmiyarova F.N., <http://orcid.org/0000-0001-5992-3609>;
Gusyakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>;
Konstantinov D.Y., <https://orcid.org/0000-0002-6177-8487>;
Selezneva I.A., <https://orcid.org/0000-0001-6647-5330>;
Borodina I.A., <https://orcid.org/0000-0001-7115-6430>;
Kolotyeva N.A., <https://orcid.org/0000-0002-7583-6222>;
Konstantinova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-6022-0983>;
Tlustenko V.S., <https://orcid.org/0000-0002-2756-5277>;
Lebedeva S.S., <https://orcid.org/0000-0001-8699-2562>;
Temnik E.I., <https://orcid.org/0000-0002-4283-1481>;
Remizov V.V., <https://orcid.org/0000-0002-1004-5443>.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 26.01.2021
Accepted 17.02.2021

Для корреспонденции: Селезнева Инна Александровна, канд. мед. наук, доц. каф. фундаментальной и клин. биохимии с лаб. диагностикой; e-mail: kaf_biohim@samsmu.ru

Введение. В последние годы большую востребованность и информативность приобрели диагностические методы тестирования заболеваний с использованием ротовой жидкости – неинвазивной биологической матрицы, формирующей комплексную, многостороннюю и динамическую оценку патологического процесса на системном уровне [1 – 3]. Уникален молекулярный состав ротовой жидкости, содержащий широкий спектр белков и пептидов, нуклеиновых кислот, электролитов, ферментов, гормонов и других регуляторов [4]. Диагностика многих соматических заболеваний основана на присутствии в ротовой жидкости молекул, проникающих в неё из крови через гематосаливарный барьер, который обеспечивает избирательное поступление различных классов химических соединений путём диализа, диффузии, ультрафильтрации, осмоса, сорбции. При этом биологические индикаторы ротовой жидкости, показывающие надежные корреляционные взаимосвязи с гематологическими параметрами, отражающие как локальное состояние ротовой полости, так и отдельных систем организма, являются надежной платформой диагностики, создающей патогенетически обоснованный подход к лечению разнообразной соматической патологии.

В настоящее время поиск новых способов диагностики новой коронавирусной инфекции и внедрение их в практическое здравоохранение является актуальным. Основным методом диагностирования COVID-19 является полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией для обнаружения SARS-CoV-2 [5]. При этом конкретная область, служащая мишенью для ПЦР, включает ген RdRP (PHK-зависимая PHK-полимераза), ген E (белок оболочки) или ген N (нуклеокапсид) [6,7]. Традиционным для данного исследования является взятие мазка-отпечатка слизистой оболочки полости носа и носоглотки. Однако, известно, что потенциальным источником патогенных вирусов может быть человеческая слюна [8]. Слюна является средой обитания, наряду с SARS-CoV-2, таких вирусов, как Эпштейна-Барра, простого герпеса, гепатита А, В и С, цитомегаловируса, папилломы человека, иммунодефицита человека, Чикунгунья, ЗИК и Эбола. Взаимодействие вирусов со слюной представляет собой сложный биологический процесс, в частности, происходит изменение таких биологических паттернов, как усиление агрегации и передачи информации [9]. Вместе с тем, такие биологически активные компоненты слюны, как протеины, богатые пролином, муцины MG1 и MG2 могут взаимодействовать с патогенами и оказывать множественное влияние на их биологическое поведение [10].

Ротовая жидкость, служащая хорошим резервуаром для патогенов, находящаяся как в полости рта, так и в слизистой оболочке нижних дыхательных путей и носоглотки, а также в инфицированных слюнных железах [11, 12], является, с одной стороны, потенциальным источником их распространения, а с другой – «молекулярным ключом», фундаментально отражающим спектр гематологических особенностей вирусной инфекции. Показано, что протеомные, углеводные и липидные профили сыворотки крови при коронавирусной инфекции могут применяться для диагностики тяжёлых случаев COVID-19 [13] и прогнозирования прогрессирования заболевания от более лёгкой до тяжёлой степени [14]. Наряду с этим оправдан поиск молекулярных индикаторов новой коронавирусной инфекции в ротовой жидкости, который позволит взглянуть на данную инфекцию

из глубины фундаментальных биохимических процессов, и, благодаря такому подходу, увидеть наиболее точные и ёмкие диагностические критерии, позволяющие максимально оптимизировать лечение и прогноз течения инфекции.

Цель работы – определить молекулярные биомаркеры ротовой жидкости для неинвазивного подхода к стратификации пациентов при заболевании COVID-19.

Материал и методы. Исследование проводилось на базе кафедр фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой и инфекционных болезней Самарского ГМУ Минздрава России. Контролем служили клинически здоровые – 89 человек (38% – мужчины и 62% – женщины, средний возраст $24 \pm 2,5$ года), и 92 человека (24% – мужчины и 76% – женщины, средний возраст $55,68 \pm 1,83$ лет), находящиеся на стационарном лечении в специализированном ковидном госпитале с диагнозом новая коронавирусная инфекция со среднетяжёлым течением болезни.

Диагноз COVID-19 был установлен на основании выявления РНК SARS-CoV-2 из клинических образцов (мазки со слизистой носа и задней стенки глотки, мокрота, бронхоальвеолярный лаваж) и данных анамнеза, осмотра, физикальных и рентгенологических исследований. Качественное выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени с применением коммерческого набора реактивов «РеалБест РНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест», Россия) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). Методом твердофазного иммуноферментного анализа у пациентов проводили качественное определение иммуноглобулинов класса М и G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови человека с использованием наборов реагентов «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия).

Клиническими критериями среднетяжёлого течения являлось частота дыхательных движений от 22/мин до 30/мин, сатурация SpO₂ от 95% до 93%, одышка при физической нагрузке, изменения в легких при компьютерной томографии (объем поражения: минимальный или средний; КТ 1-2).

Материалом для исследования являлась ротовая жидкость, собранная в стерильный пластиковый одноразовый контейнер. Перед сбором ротовой жидкости все участники исследования были ознакомлены с правилами подготовки и процедурой сбора ротовой жидкости [15].

Биохимические методы исследования ротовой жидкости проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Cobas Integra 400+» фирмы «Roche Diagnostics» (Япония) с помощью коммерческого набора реактивов фирмы «Roche Diagnostics» (Швейцария). Контроль качества при выполнении исследований осуществляли с использованием контрольной сыворотки двух уровней «Precinorm», «Precipat» фирмы «Roche Diagnostics» (Швейцария) с построением контрольных карт и применением критериев Вестгарда. Определяли содержание общего белка, мочевины, мочевой кислоты, глюкозы, лактата, железа, магния, кальция, фосфора, калия, натрия, хлоридов, активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, креатинфосфокиназы, гаммаглутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью статистического пакета SPSS Statistics 21. Использованы стандартные методы описательной статистики. Были изучены формы распределения исследуемых показателей. Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Использовался непараметрический U критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони в качестве альтернативы t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В соответствии с поставленной целью работы мы определили метаболический состав ротовой жидкости клинически здоровых лиц и пациентов с диагнозом новая коронавирусная инфекция, проанализировав показатели белкового, углеводного, минерального обменов.

В настоящее время протеймный анализ ротовой жидкости всё чаще применяется в качестве диагностики, мониторинга, профилактики разнообразных патологических процессов. В ротовой жидкости содержится более 2000 разнообразных белков, демонстрирующих самые разнообразные свойства и образующих её протейом [16]. Функции их многообразны: это обеспечение иммунологической ответной реакции за счет присутствия в слюне иммуноглобулинов, а также антимикробных пептидов – лизоцима, лактоферрина, сиалопероксидазы, гистатинов, дефензинов; защита и смазка тканей полости рта благодаря наличию муцинов; обеспечение начального этапа пищеварительного процесса и устранение потенциально вредных веществ, поступающих из пищи с помощью пролинбогатых белков.

В ротовой жидкости пациентов с коронавирусной инфекцией наблюдается достоверное увеличение содержания общего белка (табл. 1) на 117% ($p=0,0002$) в отличие от клинически здоровых обследованных.

Анализ содержания низкомолекулярных азотсодержащих конечных продуктов белкового обмена в ротовой жидкости больных COVID-19 показал отчётливую тенденцию к снижению уровня мочевой кислоты (-36%). Выявлено повышение содержания мочевины на 30%, что указывает на активацию процессов катаболизма белков. Эти данные согласуются с повышением активности АсАТ, что свидетельствует об активации процессов трансаминирования. Нельзя исключить определённый вклад микробного сообщества полости рта. Следует также ожидать из-за высокой активности уреазы микроорганизмов рост бактериальной обсеменённости полости рта.

Известно, что источники происхождения белков слюны разнообразны, причём 90% белков и пептидов секретируются слюнными железами: богатые пролином пептиды, α -амилаза, цистатины, гистатин, муцины, секреторный IgA и карбоангидраза. Поскольку белковые и гликопротеиновые компоненты слюны играют важную роль в модуляции микробиоты полости рта и помогают в клиренсе патогенов [17], увеличение протейомного компонента ротовой жидкости в условиях коронавирусной инфекции может быть связано с пополнением его спектром белков с антимикробными и иммунологическими свойствами.

Кроме того, у пациентов с COVID-19 отмечается специфическая картина активности трансаминаз, являющихся объективными показателями белкового обмена, а также интенсивности цитолитических процессов (табл. 2). Так, наблюдается снижение активности фермента аланинаминотрансферазы на 16% по сравнению со здоровыми лицами, что отражает уменьшение интенсивности процессов трансаминирования, и, тем самым, способствует нарушению синтеза аминокислот и белков, входящих в состав слизистой оболочки тканей полости рта.

Однако, что касается активности ещё одного участника обмена белков – гаммаглутамилтранспептидазы, выявлено достоверное повышение активности фермента в ротовой жидкости у пациентов с COVID-19 на 162,5% ($p=0,0011$) в отличие от группы клинически здоровых. Это микросомальный фермент, обеспечивающий метаболизм глутатиона, главного антиоксиданта в организме, а также энзим, выступающий в роли катализатора реакций трансаминирования белков.

В ротовой жидкости выявлено повышение активности фермента аспаратаминотрансферазы на 70% по сравнению с клинически здоровыми лицами. Фермент АсАТ является митохондриальным катализатором, компонентом малат-аспартатной челночной системы, которая обеспечивает бесперебойность окислительных процессов в митохондриях, связанных с образованием энергии. Обнаруженное повышение активности данного фермента будет способствовать, по-видимому, усилению тканевого дыхания и процессов окислительного фосфорилирования, что в конечном итоге приведёт к увеличению образования энергии и, как закономерный итог, к компенсаторному повышению регенераторных процессов в тканях полости рта.

Обращает на себя внимание значимое повышение активности щелочной фосфатазы на 194% ($p<0,0001$)

Таблица 1

Характеристика показателей белкового метаболизма ротовой жидкости у клинически здоровых лиц и пациентов с COVID-19

Показатели		Здоровые лица	Пациенты с COVID-19	<i>p</i>
Общий белок, г/л	Me	0,41	0,89	0,0002
	Q1 – Q3	0,26 – 0,55	0,39 – 1,32	
	95% CI for median	0,33 – 0,48	0,58 – 1,20	
Мочевина, ммоль/л	Me	4,5	5,85	0,1674
	Q1 – Q3	3,38 – 5,63	3,00 – 9,00	
	95% CI for median	3,64 – 5,00	3,72 – 7,50	
Мочевая кислота, мкмоль/л	Me	83,1	52,9	0,5954
	Q1 – Q3	19,63 – 156,90	6,18 – 138,75	
	95% CI for median	38,24 – 113,51	14,02 – 121,19	

Примечание. Здесь и в табл. 2 – 5: Me – медиана, Q1 – Q3 – 1 и 3 квартиль, 95% CI for median – 95% доверительный интервал для медианы, *p* – уровень межгрупповой значимости; жирным шрифтом выделены достоверно значимые показатели.

Таблица 2

Характеристика активности ферментов ротовой жидкости у клинически здоровых лиц и пациентов с COVID-19

Показатели		Здоровые лица	Пациенты с COVID-19	<i>p</i>
АлАТ, Ед/л	Me	5,6	4,7	0,7008
	Q1 – Q3	3,18 – 14,30	2,4 – 23,5	
	95% CI for median	4,14 – 8,87	3,02 – 15,93	
АсАТ, Ед/л	Me	17,1	29,05	0,0676
	Q1 – Q3	7,4 – 44,2	10,5 – 96,9	
	95% CI for median	11,98 – 27,1	12,96 – 64,65	
КФК, Ед/л	Me	10,2	25,55	0,0005
	Q1 – Q3	6,88 – 15,73	13,0 – 51,5	
	95% CI for median	8,84 – 12,56	14,77 – 39,98	
ГГТП, Ед/л	Me	4,00	10,5	0,0011
	Q1 – Q3	2,6 – 6,1	3,8 – 19,5	
	95% CI for median	3,34 – 4,70	5,78 – 16,09	
Щелочная фосфатаза, Ед/л	Me	3,2	9,4	< 0,0001
	Q1 – Q3	1,78 – 5,03	4,7 – 20,6	
	95% CI for median	2,3 – 4,15	6,12 – 17,39	

Таблица 3

Характеристика показателей минерального обмена ротовой жидкости у здоровых лиц и пациентов с COVID-19

Показатели		Здоровые лица	Пациенты с COVID-19	<i>p</i>
Кальций, ммоль/л	Me	0,58	1,18	< 0,0001
	Q1 – Q3	0,46 – 0,74	0,93 – 1,59	
	95% CI for median	0,51 – 0,64	1,01 – 1,49	
Фосфор, ммоль/л	Me	4,46	4,27	0,5774
	Q1 – Q3	3,36 – 5,37	2,85 – 6,57	
	95% CI for median	3,82 – 4,86	3,84 – 5,66	
Магний, ммоль/л	Me	0,19	0,5	< 0,0001
	Q1 – Q3	0,15 – 0,26	0,42 – 0,72	
	95% CI for median	0,17 – 0,23	0,45 – 0,63	
Железо, мкмоль/л	Me	0,2	0,9	< 0,0001
	Q1 – Q3	0,00 – 0,7	0,6 – 1,5	
	95% CI for median	0,00 – 0,4	0,7 – 1,3	

в ротовой жидкости пациентов с COVID-19 по сравнению с данными клинически здоровых лиц. Щелочная фосфатаза слюны имеет основное значение в регуляции минерального обмена: выполняет свою традиционную функцию в полости рта – гидролиз органических фосфатов, а также выступает в роли инициатора кальцификации. Этот фермент способствует связыванию ионов кальция и фосфатов на поверхности эмали, образуя высокие концентрации последних, укрепляет устойчивость мицелл слюны и, тем самым, обеспечивает реминерализацию твёрдых тканей зубов. Факт увеличения активности щелочной фосфатазы отражает прогрессирующее нарушение структурной целостности тканей, способствующее поступлению мембран связанных и свободных фосфатов в биосреду ротовой полости. Кроме того, это служит показателем выраженного воспалительного процесса в мягких тканях ротовой полости в условиях нарушений проницаемости клеточных мембран, служащих источником фосфатаз. В сочетании с повышенной активностью АсАТ свидетельствует о глубоких структурных нарушениях в тканях слизистой оболочки и выходе молекулярного материала из эпителиоцитов ротовой полости. Это может служить отягощающим моментом и вносить вклад

в молекулярный дисбаланс метаболических процессов, протекающих в жидких биосредах организма, индуцируя сдвиги, способствующие генерализации воспалительного процесса.

Наряду с этим, у больных с COVID-19 отмечается увеличение перенасыщенности кальцием их ротовой жидкости на 103% ($p < 0,0001$) (табл.3).

Это может привести к деминерализации эмали, потере структурированности ротовой жидкости, разрушению её мицелл и потере связи минеральных компонентов слюны с белками, и, как итог, к прогрессированию воспалительно-деструктивных заболеваний полости рта во время коронавирусной инфекции.

Отражением подобных процессов в ротовой жидкости является увеличение содержания железа на 350% ($p < 0,0001$), что свидетельствует о кровоточивости дёсен, тем самым ухудшается гигиена полости рта, что, в свою очередь, приводит к росту в ней патогенной микрофлоры. Необходимо учитывать, что железо – мощный прооксидант, стимулятор свободно-радикального окисления, и повышение его уровня свидетельствует об усилении свободно-радикального окисления в тканях ротовой полости, слюнных железах, ротовой жидкости, протоковой слюне при антиоксидантной недостаточности организма.

Таблица 4

Характеристика показателей углеводного обмена ротовой жидкости у здоровых лиц и пациентов с COVID-19

Показатели		Здоровые лица	Пациенты с COVID-19	<i>p</i>
Глюкоза, ммоль/л	Me	0,02	0,025	0,6763
	Q1 – Q3	0,01 – 0,043	0,00 – 0,23	
	95% CI for median	0,02 – 0,03	0,0018 – 0,17	
ЛДГ, Ед/л	Me	26,25	367,0	< 0,0001
	Q1 – Q3	13,1 – 62,25	185,5 – 1124	
	95% CI for median	18,02 – 45,74	220,21 – 1015,38	
Лактат, ммоль/л	Me	0,02	0,14	0,2653
	Q1 – Q3	0,01 – 0,07	0,00 – 0,54	
	95% CI for median	0,02 – 0,03	0,0018 – 0,27	

Таблица 5

Характеристика содержания калия, натрия, хлоридов в ротовой жидкости у здоровых лиц и пациентов с COVID-19

Показатели		Здоровые лица	Пациенты с COVID-19	<i>p</i>
Калий, ммоль/л	Me	22,1	21,86	0,6619
	Q1 – Q3	17,94 – 25,06	13,5 – 27,28	
	95% CI for median	20,18 – 22,95	16,1 – 25,47	
Натрий, ммоль /л	Me	9,0	21,0	< 0,0001
	Q1 – Q3	7,0 – 12,0	10,0 – 28,5	
	95% CI for median	8,0 – 11,0	10,56 – 25,2	
Хлориды, ммоль/л	Me	21,0	37	< 0,0001
	Q1 – Q3	17,0 – 24,0	29,5 – 45,75	
	95% CI for median	19,0 – 22,0	31,95 – 43,1	

Возрастает содержание магния на 163% ($p < 0,0001$) в отличие от клинически здоровых лиц. Изменение градиента соотношения железо/магний в ротовой жидкости – свидетельство оксидативного стресса и возникновения сдвигов кислотно-основного равновесия в щелочную сторону, что усиливает элементный дисбаланс в смешанной слюне, формируя тем самым предрасположенность к иммунопатологическим состояниям.

Безусловно, подобные процессы возможны лишь при недостаточном снабжении инфицированных тканей кислородом, о чем свидетельствует пониженная сатурация у данных пациентов (SpO₂ от 95% до 93%). Анализируя активность лактатдегидрогеназы – цитозольного фермента, одного из участников обратимых реакций анаэробного окисления глюкозы, осуществляющего взаимопревращения пирувата в лактат, нами было обнаружено достоверное увеличение общей активности данного фермента в ротовой жидкости (табл. 4). Следует подчеркнуть, что в слюваобразцах пациентов активность данного фермента превышала активность в ротовой жидкости здоровых лиц практически в 15 раз ($p < 0,0001$). Можно предположить, что вследствие тропизма коронавируса к слюнным железам и мягким тканям полости рта подобный факт может указывать либо на мишень действия самого вируса, либо на результат воздействия вторичных продуктов повреждения, образующихся в процессе ответной реакции организма.

Кроме того, в происходящие нарушения механизмов общей и локальной резистентности организма вносят вклад ферменты микробного метаболизма полости рта. Так, в ротовой жидкости как здоровых лиц, так и пациентов с новой коронавирусной инфекцией содержится сопоставимое количество глюкозы, образующейся в результате гидролиза полисахаридов и гликопротеинов

в ротовой жидкости, и частично поступающей с секретами слюнных желез, отражая её содержание в плазме крови. Однако моносахара в ротовой жидкости пациентов в условиях высокой активности лактатдегидрогеназы быстро утилизируются микрофлорой ротовой полости и превращаются в органические кислоты, в частности, в лактат, о чём свидетельствует увеличение его содержания на 600% в ротовой жидкости больных с COVID-19. Это, в свою очередь, способствует очаговой деминерализации эмали и усугублению молекулярно-деструктивных изменений при ковидной инфекции.

Иллюстрацией подобных процессов является изменение проницаемости гематосаливарного барьера для таких элементов, как калий, натрий и хлор (табл. 5).

Известно, что Na⁺ и K⁺ поступают с секретом околоушных и подчелюстных слюнных желез. При изучении элементного состава ротовой жидкости в слюваобразцах клинически здоровых лиц обнаружено значительно меньше натрия, чем в ротовой жидкости пациентов. По-видимому, увеличение секреции натрия приводит к достоверному повышению его содержания в слюне на 133% ($p < 0,0001$). Это связано с процессами реабсорбции данного элемента в протоках слюнных желез и находится под контролем гипофиза и коры надпочечников. Интересно, что содержание калия в ротовой жидкости обследованных в обеих группах не изменяется, однако, как всегда, превышает уровень в плазме крови в 4-5 раз. В отличие от калия, уровень хлорид-анионов в ротовой жидкости, основным источником которых является околоушная слюнная железа, всегда остается ниже, чем в плазме крови. Увеличение количества хлоридов в слюваобразцах пациентов составило 76% ($p < 0,0001$). Подобное изменение хлорид-анионов происходит параллельно изменению концентрации натрия, по-видимому,

отражая сдвиги кислотно-щелочного состояния и осмотического давления в организме.

Заключение. Таким образом, полученные данные молекулярного профиля ротовой жидкости позволили проанализировать у больных новой коронавирусной инфекцией особенности белкового, углеводного и минерального обменов. Наиболее выраженные изменения обнаружены при определении активности ферментов: КФК, ГГТП, ЛДГ, щелочной фосфатазы, подтверждая постулат, что многочисленные биохимические процессы в организме, как физиологические, так и патологические, обеспечиваются функционированием ферментных систем в ротовой жидкости. Кроме того, обнаружены значимые изменения показателей минерального обмена, в частности, выраженные сдвиги в содержании железа в ротовой жидкости пациентов с COVID-19, свидетельствующие об антиоксидантной недостаточности организма. Данные метаболиты могут рассматриваться как в качестве неинвазивных индикаторов выявления риска развития деструктивно-воспалительных процессов в ротовой полости, так и использоваться в качестве молекулярных маркеров, сигнализирующих о прогрессировании ковидной инфекции. В целом, полученные данные подтверждают неоспоримый факт, что человеческая слюна, представляющая собой сложный, не до конца изученный биокolloид, может быть пригодной в качестве неинвазивной диагностической жидкости для клинического применения в качестве альтернативы использования сыворотки и плазмы крови [18].

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-7, 9-14, 16-18
см. REFERENCES)

8. Постнова М.В., Мулик Ю.А., Новочадов В.В., Мулик А.Б., Назаров Н.О., Фролов Д.М. Ротовая жидкость как объект функционального состояния человека. *Вестник Волгоградского государственного университета*. 2011; 1 (18): 246-52.
15. Гильмиярова Ф.Н., ред. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости. Учебное пособие. М.: Известия; 2006.

REFERENCES

1. Malamud D. Saliva as a diagnostic fluid. *Dental Clinics of North America*. 2011; 55(1): 159-78.

2. Zhang C.Z., Cheng X.Q., Li J.Y., Zhang P., Yi P., Xu X. et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Oral Science*. 2016; 8: 133-7.
3. Roblegg E. Saliva: An all-rounder of our body. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2019; 142: 133-41.
4. Baum B.J., Yates J.R., Srivastava S., Wong D.T.W., Melvin J.E. Scientific frontiers: emerging technologies for salivary diagnostics. *Adv. Dent. Res*. 2011; 2: 360-8.
5. Centers for Disease Control and Prevention Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons for coronavirus disease 2019 (COVID-19). 2020.
6. Wu A., Peng Y., Huang B., Ding X., Wang X., Niu P. et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe*. 2020; 27: 325-8.
7. Sexton N.R., Smith E.C., Blanc H., Vignuzzi M., Peersen O.B., Denison M.R. Homology-based identification of a mutation in the coronavirus RNA-dependent RNA polymerase that confers resistance to multiple mutagens. *Journal of Virology*. 2016; 90: 7415-28.
8. Postnova M.V., Mulik Y.A., Novochadov V.V., Mulik A.B., Nazarov N.O., Frolov D.M. Oral fluid as an object of the functional state of a person. *Vestnik VSU*. 2011; 1 (18): 246-52. (in Russian)
9. Anschau V., Sanjuan R. Fibrinogen gamma chain promotes aggregation of vesicular stomatitis virus in saliva. *Viruses*. 2020; 12(3): 282-309.
10. De Almeida P., V., Gregio A. M., Machado M. A., de Lima A. A., Azevedo L.R. Saliva composition and functions: A comprehensive review. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2008; 9(3): 72-80.
11. Braz-Silva H.P., Pallos D., Giannecchini S., Kai-Wang To K. SARS-CoV-2: what can saliva tell us? *Oral Diseases*. 2020. doi:doi:10.1111/odi.13365.
12. Sapkota D., Thapa S.B., Hasséus B., Jensen J.L. Saliva testing for COVID-19? *British Dental Journal – Nature*. 2020; 228: 658-9.
13. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020; 395: 507-13.
14. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Huet Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395: 497-506.
15. Gilmiyarova F.N., ed. Analytical approaches to the study of indicators of metabolism in the oral fluid. Moscow: Izvestiya; 2006. (in Russian)
16. Baran H., Kronsteiner C., Kepplinger B. Kynurenine Aminotransferases I, II and III Are Present in Saliva. *Neurosignals*. 2020; 28(1): 1-13.
17. Cross B. W., Ruhl S. Glycan recognition at the saliva – oral microbiome interface. *Cellular Immunology*. 2018; 333: 19-33.
18. Sarkar A., Xu F., Lee S. Human saliva and model saliva at bulk to adsorbed phases - similarities and differences. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2019; 273: 102034.

Поступила 26.01.21

Принята к печати 17.02.21