

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Базарный В.В.¹, Сиденкова А.П.¹, Соснин Д.Ю.²

ЛАКТОФЕРРИН РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ В НОРМЕ И ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА: ЛАБОРАТОРНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 620014, Екатеринбург, Россия;

² ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава РФ, 614990, Пермь, Россия

В статье рассматриваются вопросы клинической ценности определения белка лактоферрина в ротовой жидкости – одного из представителей протеома слюны. Обзор основан на анализе современной литературы, включающей систематические обзоры, результаты многоцентровых проспективных исследований, обзорные и оригинальные статьи ведущих специалистов в этой области, представленных в базах данных PubMed, Scopus, CyberLeninka. Освещены проблемы преаналитического этапа, методы определения лактоферрина и приведены сведения о его содержании в смешанной слюне по данным различных авторов. Особое внимание уделено клинико-диагностическому значению уровня слюварного лактоферрина при болезни Альцгеймера. По мнению большинства авторов, диагностическая чувствительность данного параметра составляет от 87 до 100%. Показаны некоторые механизмы взаимосвязи данного белка и центральной нервной системы (ЦНС). В заключении делается вывод о том, что слюварный лактоферрин может являться «индикатором» формирования амилоидных бляшек и может рассматриваться в качестве одного из надежных биомаркеров болезни Альцгеймера. Это мнение базируется как на фундаментальных представлениях о глобальной взаимосвязи врожденного иммунитета и ЦНС, так и на клинических данных. Особое достоинство данного лабораторного теста заключается в его неинвазивности, что делает его более предпочтительным в сравнении с определением амилоида и тау-белков в ликворе и крови.

Ключевые слова: ротовая жидкость; слюна; лактоферрин; болезнь Альцгеймера.

Для цитирования: Базарный В.В., Сиденкова А.П., Соснин Д.Ю. Лактоферрин ротовой жидкости в норме и при болезни Альцгеймера: лабораторно-диагностические аспекты (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (4): 207-212. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-4-207-212>

Для корреспонденции: Соснин Дмитрий Юрьевич, д-р мед. наук, проф. каф. факультетской терапии № 2, проф. патологии и клин. лаб. диагностики; e-mail: sosnin_dm@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Финансирование осуществлено за счет средств государственного задания на научно-исследовательскую работу «Предикторы старения в полости рта и возможность их использования для персонализации стоматологического лечения» (№ госрегистрации АААА-А18-118042890061-4).

Поступила 26.11.2021

Принята к печати 25.01.2022

Опубликовано 17.04.2022

Bazarnyi V.V.¹, Sidenkova A.P.¹, Sosnin D.Yu.²

LACTOFERRIN OF ORAL FLUID IS HEALTHY AND IN ALZHEIMER'S DISEASE: LABORATORY AND DIAGNOSTIC ASPECTS (REVIEW OF LITERATURE)

¹ Ural State Medical University, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation;

² E.A. Vagner Perm State Medical University, 614990, Perm, Russian Federation

The article discusses the clinical value of determining the lactoferrin protein in oral fluid – one of the representatives of the saliva proteome. The review is based on the analysis of modern literature, including systematic reviews, the results of multicenter prospective studies, review and original articles by leading experts in this field, presented in the databases PubMed, Scopus, CyberLeninka. The problems of the preanalytical stage, methods for determining lactoferrin are highlighted and information about its content in mixed saliva according to various authors is provided. Special attention is paid to the clinical and diagnostic value of the level of salivary lactoferrin in Alzheimer's disease. According to most authors, the diagnostic sensitivity of this parameter ranges from 87 to 100%. Some mechanisms of the relationship between this protein and the central nervous system (CNS) are shown. In conclusion, it is concluded that salivary lactoferrin can be an "indicator" of the formation of amyloid plaques and can be considered as one of the reliable biomarkers of Alzheimer's disease. This opinion is based both on fundamental ideas about the global relationship between innate immunity and the central nervous system, and on clinical data. The special advantage of this laboratory test is its non-invasiveness, which makes it more preferable in comparison with the determination of amyloid and tau proteins in the cerebrospinal fluid and blood.

Key words: oral fluid; saliva; lactoferrin; Alzheimer's disease.

For citation: Bazarnyi V.V., Sidenkova A.P., Sosnin D.Yu. Lactoferrin of oral fluid is normal and in Alzheimer's disease: laboratory and diagnostic aspects (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (4): 207-212 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-4-207-212>

For correspondence: Sosnin D. Yu., Dr. Sci. Med., Professor of the Department of Faculty therapy No. 2, occupational pathology and clinical laboratory diagnostics; e-mail: sosnin_dm@mail.ru

Information about authors:

Bazarnyi V.V., <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>;
Sidenkova A.P., <https://orcid.org/0000-0001-5142-3992>;
Sosnin D.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-1232-8826>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 26.11.2021

Accepted 25.01.2022

Published 17.04.2022

Ротовая жидкость (РЖ, смешанная слюна) представляет собой смесь секретов слюнных желез, десневой жидкости, а также продуктов слизистой оболочки полости рта (СОПР) и компонентов сыворотки крови, иногда она содержит периимплантную щелевую жидкость, примесь бронхиальных и назальных секретов. В составе РЖ заметную долю составляют пептиды. Существует мнение, что они формируют уникальный профиль биомаркеров патологических процессов как в полости рта, так и системных заболеваний. К последним относятся онкопатология, сердечно-сосудистые заболевания, аутоиммунные болезни, нейродегенеративные заболевания, респираторные инфекции и многие другие [1–4].

За последние годы опубликовано несколько отличных обзоров, посвященных использованию смешанной слюны как диагностической жидкости, получившему название «саливадиагностика». В них убедительно показано, что РЖ является ценным диагностическим биоматериалом. Особую актуальность такой подход имеет благодаря его неинвазивности. Поэтому в настоящее время закономерно высок интерес к изучению слюварного протеома, учитывая значение слюварных белков для распознавания многих заболеваний [5, 6, 7, 8]. Поскольку протеомной стратегии, способной охарактеризовать весь протеом РЖ, не существует, то многие исследования одного и того же заболевания проводились с использованием разных инструментов и экспериментальных дизайнов, поэтому неудивительно, что для одной и той же патологии были предложены и исследованы разные биомаркеры. Диагностическая ценность не всех их убедительно доказана. Поэтому определение индивидуальных белков в РЖ в норме и патологии с последующим расчетом клинической ценности, сохраняет свою актуальность. Одним из таких белков является лактоферрин (ЛФ), содержащийся как в крови, так и в других биожидкостях, в частности – в ротовой. Оценке клинической ценности данного белка как лабораторного параметра, посвящен данный обзор.

Лактоферрин (ЛФ) – железосвязывающий катионный гликопротеин 80 кДа из семейства трансферринов, открытый в 1939 году. Существуют также изоформы (ЛФ-β), которые обладают рибонуклеазной активностью, но не связывают железо. Основными источниками ЛФ в РЖ являются слюнные железы, нейтрофильные гранулоциты, поступающие в полость рта, и эпителиальные клетки СОПР. На сегодняшний день детально расшифрованы структура, механизмы синтеза и биологическое значение ЛФ, чему посвящено достаточное количество научных обзоров. Данному пептиду принадлежит важная роль во всасывании, транспортировке и связывании железа. Его важнейшей особенностью является антимикробная активность. Он обладает положительным суммарным зарядом, то есть при электрофорезе в электрическом поле ведет как катион, и это свой-

ство, по-видимому, является важным фактором, который может привести к связыванию и разрушению мембран микроорганизмов. Важно и то, что ЛФ связывает железо, необходимое для роста многих бактерий. Также возможно его прямое взаимодействие с липополисахаридами бактериальной стенки. ЛФ вызывает активацию фагоцитоза и белков системы комплемента, связывание эндотоксинов. Он активен не только в отношении бактерий, грибов, паразитов и вирусов, но также способен ингибировать накопление прионов [9, 10]. Выраженный противовоспалительный эффект делает его важнейшим белком острой фазы воспаления. На клеточном уровне ЛФ модулирует миграцию, созревание и функции иммунных клеток. Он также обладает антиоксидантными свойствами. В целом, ЛФ является важной составляющей системы неспецифической антимикробной защиты, ему принадлежит важнейшая роль в формировании врожденного и адаптивного секреторного (мукозального, местного) иммунитета слизистых оболочек [11–13]. Вместе с тем известны и неиммунологические свойства этого белка – он опосредованно участвует в регуляции костеобразования, заживления ран, дифференцировки адипоцитов, в регуляции обмена глюкозы [14–17].

ЛФ принимает участие в развитии головного мозга, нейрогенезе, обладает нейропротективными свойствами, оказывает позитивное влияние на развитие когнитивных функций [18, 19].

Методы определения ЛФ в РЖ. Одним из первых для этой цели использовался метод радиальной иммунодиффузии в агаре или геле агарозы [20]. Хотя метод достаточно прост в выполнении, на его результат оказывают влияние различные факторы. В частности, ошибки могут быть связаны с тем, что обеспечить абсолютную однородность глубины и плотность агаровой пластины достаточно сложно и это приводит к некоторой гетерогенности диффузии исследуемого вещества. Также не исключены незначительные погрешности при измерении площади кольца преципитации. Кроме того, этот метод не автоматизирован, что делает его трудоемким, плохо стандартизованным и длительным в исполнении, и что важно – он имеет не очень высокую аналитическую чувствительность. Более чувствительным, точным и удобным в лабораторной практике является метод твердофазного гетерогенного ИФА (ELISA). Он имеет предел чувствительности в среднем около 3 нг/мл, а линейная зависимость прослеживается в диапазоне концентраций от 5 до 600 нг/мл [21]. Данный метод является наиболее распространенным среди тех, которые используются в большинстве исследований. Кроме того, в литературе описаны такие методы определения ЛФ в биожидкостях как спектроскопия в ультрафиолетовом спектре (220 – 280 нм), двойной электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография, ка-

пиллярный электрофорез, «микрофлюидный анализ» на бумаге, применение иммунохимических биосенсоров, поверхностный плазмонный резонанс [22, 23].

Поскольку исследование ЛФ в РЖ еще не стало рутинным тестом, но имеет определенные перспективы для внедрения в практику, следует обратить внимание на некоторые методические вопросы, прежде всего это относится к соблюдению всех требований преаналитического этапа [24,25]. Так, содержание ЛФ в образцах РЖ, хранившихся при 4°C, оставалось стабильным в течение 10 дней, а затем значительно снижалось. Однократное замораживание/оттаивание не влияло на концентрацию данного белка, но его концентрация резко падала после двух циклов замораживания/оттаивания. Учитывая, что значения ЛФ в пробах могут зависеть от фактора разведения, с целью получения адекватных результатов исследования, можно определять содержание общего белка в пробе с последующим пересчетом концентрации ЛФ на мг белка.

Специальных исследований, посвященных установлению референсных интервалов для слюварного ЛФ, нами не выявлено. В табл. 1 мы приводим некоторые примеры «нормальных значений» содержания ЛФ в РЖ, полученные при обследовании «контрольных» групп в различных исследованиях.

Данные, представленные в табл. 1, получены методом твердофазного гетерогенного ИФА. Они свидетельствуют о большом разбросе значений уровня слюварного ЛФ у практически здоровых добровольцев; результаты варьировали в диапазоне от 3,4 до 16,4 мкг/мл. Это диктует необходимость определения в будущем четких референсных величин.

Следует отметить, что на концентрацию слюварного ЛФ в физиологических условиях оказывают влияние различные факторы. Например, установлено зависимое от возраста снижение уровня ЛФ после 40 лет. В то же время существенных суточных колебаний и гендерных различий не отмечено [25], однако, при этом в единичной публикации приведены данные о корреляции концентрации ЛФ с продолжительностью сна [33]. Уровень слюварного ЛФ значительно повышен у курильщиков по сравнению с некурящими [34]. Показано заметное влияние физической активности на уровень ЛФ – он повышался даже после умеренной физической активности в сравнении с теми, кто ведет сидячий образ жизни, а также у спортсменов-любителей после пробежек, у спортсменов-марафонцев, в условиях гипоксических нагрузок [35–37].

Таким образом, в литературе продемонстрирована зависимость содержания ЛФ от возраста, физической активности и некоторых вредных привычек (курения).

Не меньший интерес представляют данные о значении уровня слюварного ЛФ в диагностике различных заболеваний. В частности, и нашими исследованиями, и другими авторами показано изменение уровня ЛФ (преимущественно – повышение) при хроническом пародоните, кариесе, болезнях желудочно-кишечного тракта, ревматических болезнях, ассоциированным с сахарным диабетом инфарктом миокарда, после трансплантации костного мозга и т.д. [20, 29, 31, 32, 38–41].

Особый интерес представляют данные о возможной роли слюварного ЛФ как потенциального биомаркера болезни Альцгеймера (БА). Интерес к данной патологии все возрастает в связи с высокими темпами демографического старения, характерными для нашего времени. Это, в свою очередь, взаимосвязано с увеличением распространенности возраст-ассоциированных заболеваний. Среди них одной из актуальных проблем являются нейродегенеративные заболевания, к которым относится болезнь Альцгеймера.

Болезнь Альцгеймера (БА) — это хроническое нейродегенеративное заболевание, которое является основной причиной деменции у лиц старшего возраста. Оно характеризуется, прежде всего, неуклонным прогрессирующим расстройством памяти и высших корковых функций вплоть до тотального распада интеллекта и психической деятельности в целом, а также характерным комплексом нейропатологических признаков, нарушениями поведения и функциональной активности больного в повседневной жизни. Считается, что в развитии заболевания играют роль несколько факторов риска – возраст, генетические факторы, травмы головы, сосудистые заболевания, инфекции и факторы окружающей среды [42–44].

В настоящее время рассматриваются две модели развития заболевания – холинергическая и амилоидная. Большинство исследователей следуют идее амилоидной концепции БА, так как она охватывает всю структуру мозге – на нейрхимическом, субстратном и клиническом уровнях, что позволяет соотносить нарушенную функцию мозга с объемом его морфологического поражения. В соответствии с данной моделью, патогенез БА связывают с проявлением агрегированных амилоидных бляшек, содержащих внеклеточные гидрофобные отложения амилоидных β -пептидов (A β 42) в теле нейрона, а также с фрагментами более крупного белка-предшественника амилоида (APP), который экспрессируется практически во всех тканях млекопитающих. Другим важным патогенетическим механизмом патогенеза БА являются нейрофибрилярные клубочки (NFT), образующие внутринейрональные пучки парных спиральных филаментов (PHF), состоящих из агрегатов гиперфосфорилированного и патологически свернутого тау-белка в аномально фосфорилированной форме. В результате отложения в гиппокампальных нейронах β -амилоида и формирования нейрофибрилярных клубков происходит поражение структур гиппокампа, что и определяет основные клинические проявления БА, начиная с ранних ее этапов. Степень потери нейронов в гиппокампе вследствие перераспределения внутриклеточного тау-белка, его взаимодействиями на терминалах нейронов и дендритах с β -амилоидным белком или обоими, коррелирует с выраженностью когнитивного дефицита при БА [27, 44 – 46].

Таблица 1

Содержание лактоферрина в смешанной слюне практически здоровых лиц

Контингент обследуемых и временной период (страна, годы)	Нормальное значение лактоферрина в группе здоровых	Авторы, ссылка
Испания, 2020	7,7 \pm 2,3 мкг/мл 6,2 \pm 2,9 мкг/мл	[26, 27]
Узбекистан, 2015	10,9 + 0,87 мкг/мл	[28]
Россия, 2015	7,3 \pm 1,1 мкг/мл	[29]
США, 2021	16,4 \pm 6,6 мкг/мл	[30]
Польша, 2020	3,4 \pm 0,8 мкг/мл	[31]
Швейцария, 2021	9,3 + 1,9 мкг/мл	[32]

Диагноз БА формируется на основе анализа клинических данных, нейропсихологического тестирования и других. Однако, в научной литературе отчетливо виден интерес к выявлению биомаркеров БА. ЛФ рассматривается как один из возможных кандидатов на эту роль.

Впервые связь ЛФ и БА была отмечена, вероятно, в публикации А.Р. Osmand и соавт. [47], где отмечалось, что ЛФ был выявлен в амилоидных бляшках, а также нейронах пациентов, чего не было у здоровых людей. Позднее это было подтверждено и другими авторами [19, 48]. На выявленную взаимосвязь описанного белка с патологией ЦНС указывают описанные выше факты, а также наличие рецепторов к ЛФ в ткани мозга, изменения его концентрации в биологических жидкостях и тканях организма при заболеваниях нервной системы [30, 49].

Для оценки клинической ценности определения ЛФ в ротовой жидкости при БА нами был проведен анализ 12 статей за 2017-2021 гг., размещенных на сайте PubMed, [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov], а также Scopus, CyberLeninka. Из них 2 статьи были систематическими обзорами, 1 статья содержала результаты проспективного многоцентрового исследования, остальные были обзорами литературы и оригинальными полнотекстовыми статьями.

Одним из убедительных следует признать исследование E.Саго и соавт. [50], включающее 274 человек, наблюдавшихся в неврологической клинике (Испания). Пациенты были распределены на 4 группы в соответствии с их когнитивным статусом: умеренные когнитивные нарушения (УКГ, МСИ), когнитивные нарушения на фоне болезни Альцгеймера (БА), болезни Паркинсона (БП) и контрольная группа без нарушений когнитивных функций. На первом этапе обнаружили, что ЛФ был существенно снижен в первых двух группах (МСИ и БА). Его уровень, также как и Аβ, сильно коррелировал с диагнозом БА. На втором этапе подтвердили эффективность слюварного ЛФ в качестве биомаркера БА в двух слепых и независимых группах. В анализе данных был использован ROC-анализ, который позволил отличать группу пациентов с БА и умеренными когнитивными нарушениями от контрольной группы с ДЧ и ДЧС 100% при cut-off 7,43 мкг/мл ЛФ. Была также выявлена выраженная достоверная корреляция уровня слюварного ЛФ с содержанием амилоида и тау белка в ликворе. У пациентов с БП уровень ЛФ в РЖ был выше, чем в контрольной группе и при БА.

В одном из систематических обзоров Н.С. Gleerup и соавт. [51] проанализированы результаты 15-ти исследований. В десяти из них была показана высокая клиническая значимость белка Аβ42 и тау-белка для диагностики БА. Наряду с этим был оценен ряд других биомаркеров. В частности, в одном исследовании был обнаружен сниженный уровень ЛФ в слюне у пациентов с БА и МСИ по сравнению со здоровыми. На этом основании авторы предположили, что наряду с известными биомаркерами БА – Аβ42 и тау-белка, уровень слюварного ЛФ облада-

ет определенным диагностическим потенциалом и может быть экономичным и эффективным лабораторным маркером данного заболевания, что безусловно требовало новых исследований. Однако двумя годами позже, эти же авторы опубликовали данные о том, что не показано существенной диагностической ценности слюварного ЛФ при БА [30]. Но это не перечеркнуло все полученные ранее убедительные данные и не остановило дальнейших исследований.

Особого внимания заслуживают результаты двух проспективных, перекрестных, многоцентровых исследований, проведенных в Испании, в которые были включены 250 пациентов с БА с 2014 по 2018 гг. [26]. В них было установлено, что более высокие уровни слюварного ЛФ были связаны с более высокими показателями шкалы MMSE ($r=0,69$; $p<0,01$) и более низкими показателями шкалы CDR ($r=-0,59$; $p<0,01$) у пациентов. Обе шкалы позволяют оценить когнитивное здоровье. При этом не было обнаружено корреляций между ЛФ и длительностью заболевания. Особый интерес представляют данные, полученные в указанном исследовании, о клинической ценности уровня ЛФ в слюне у пациентов с БА и умеренными когнитивными нарушениями (МСИ). Пациенты были подразделены на 2 группы – с выявленным при позитронно-эмиссионной томографии амилоидом (ПЭТ+) и с его отсутствием (ПЭТ-). Уровень ЛФ был существенно ниже при БА и при умеренных когнитивных нарушениях в группах пациентов ПЭТ+, в сравнении с контролем и лобно-височной деменцией. Построение характеристической кривой (ROC) позволило определить диагностическую чувствительность (ДЧ) теста определения слюварного ЛФ, его специфичность (ДС), а также площадь под ROC-кривой (AUC – характеристика диагностической ценности) (табл. 2). С помощью индекса Юдена была определена величина cut-off – 5,63 мкг/мл ЛФ, которая отличалась от указанной в другой, приведенной выше работе [50].

Более низкая ДС может быть объяснена тем, что пациенты с умеренными когнитивными нарушениями и отрицательным амилоидным ПЭТ, представляют собой слишком гетерогенную группу. Тем не менее, полученные результаты показали, что слюварный ЛФ при установленной величине cut-off способен с высокой точностью верифицировать пациентов с умеренными когнитивными нарушениями/БА, а также позитивных в ПЭТ тесте на амилоид. Показанное авторами снижение уровня ЛФ в РЖ скорее всего специфично для БА, поскольку оно не встречалось у здоровых пожилых людей или при лобно-височной деменции.

Еще в одном исследовании L. Reseto и соавт. [27] показали, что слюварный ЛФ при старении имеет отрицательную корреляцию с «нагрузкой» амилоидным белком Аβ42, особенно в париетально-височных областях левого полушария и с ухудшением памяти. Эти результаты также подтверждают значение ЛФ как биомаркера повреждения головного мозга при нормальном старении, и спо-

Таблица 2

Диагностические характеристики уровня слюварного лактоферрина

Группы пациентов	БА/МСИ-ПЭТ+ в сравнении с контролем	МСИ-ПЭТ+ в сравнении с контролем	БА/МСИ-ПЭТ+ в сравнении с ПЭТ-
AUC	0,95	0,93	0,88
ДЧ	87	87	82
ДС	92	93	83

способствуют расширению нашего понимания его роли при БА. Представленные авторами данные соответствуют ранее предложенной гипотезе о том, снижение ЛФ в РЖ, наблюдаемое на продромальной и клинической стадиях БА, может указывать на ранние иммунологические нарушения, которые, в конечном итоге, повышают риск БА.

Обсуждая полученные данные, можно полагать, что низкий уровень ЛФ в ротовой полости способствует дисбиозу, который, в свою очередь, вызывает длительные инфекции и провоспалительную реакцию, которая ослабляет гематоэнцефалический барьер, способствуя колонизации ткани мозга бактериями пародонта, приводящую к иммунной дисфункции и ускоряя нейровоспаление, развитие БА. Другими словами, снижение уровня ЛФ в РЖ может быть триггером орального дисбиоза, вызывающего хронический воспалительный процесс, способствующий, в свою очередь, развитию БА. На этом основании можно полагать, что ЛФ выполняет функцию индикатора амилоидных бляшек [18, 52 – 54].

Проведенные исследования дают основание считать, что определение биомаркеров в слюне остается актуальной и практически важной задачей, а определение ЛФ ротовой жидкости выходит на первую линию среди информативных и неинвазивных показателей лабораторной диагностики БА. Используемые в настоящее время доклинические биомаркеры, такие, как бета-амилоид (A β 42) и уровни тау белка в спинномозговой жидкости и нейровизуализация, не обладают высокой достоверностью прогнозирования в клинике, являются дорогостоящими и инвазивными. Поэтому многие авторы считают, что ЛФ ротовой жидкости может стать многообещающим маркером нейродегенеративных заболеваний, определение которого в РЖ является неинвазивным, экономичным и достаточно точным тестом в диагностике БА. Это мнение базируется как на фундаментальных представлениях о глобальной взаимосвязи врожденного иммунитета (и, в частности, слюварного ЛФ) и ЦНС, так и на клинических данных, обработанных с помощью статистических методов (ROC-анализ и другие), делающих эти выводы обоснованными [19, 55]. Особое преимущество определения любых белков РЖ состоит в неинвазивности, что, по оригинальному выражению К.Е. Касзор-Урбанович и соавт. [56], «представляет собой Святой Грааль для раннего выявления заболеваний», делая этим саливадиагностику клинической реальностью.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2 – 23, 25 – 27, 30 – 37, 39 – 56 см. REFERENCES)

1. Базарный В.В., Сиденкова А.П., Резайкин А.В., Мякотных В.С., Боровкова Т.А., Селькина Е.О. и др. Возможность использования результатов исследования ротовой жидкости и буккального эпителия в диагностике болезни Альцгеймера. *Успехи геронтологии*. 2021; 34(4): 550-7.
24. Базарный В.В., Полушина Л.Г., Максимова А.Ю. Лабораторное исследование буккального эпителия и ротовой жидкости. Екатеринбург: УГМУ; 2020.
28. Шодиева Ш.Ш., Алимов А.С., Хаджиметов А.А. Характер изменений белка острой фазы – лактоферрина в слюне при пародонтите различной степени тяжести. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 8: 694-6.
29. Базарный В.В., Журавлев В.П., Мандра Ю.В., Николаева А.А., Ваневская Е.А., Полушина Л.Г. Лактоферрин в ротовой жидкости пациентов с герпесвирусной инфекцией. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2014; 1(47): 48-9.

38. Базарный В.В., Береснева Н.С., Ломова О.Л., Санникова Н.Е. Клинико-диагностическое значение определения лактоферрина в ротовой жидкости. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 10: 36.

REFERENCES

1. Bazarnyi V.V., Sidenkova A.P., Rezaikin A.V., Myakotnykh V.S., Borovkova T.A., Sel'kina E.O. et al. The possibility of using the results of the study of oral fluid and buccal epithelium in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Uspekhi gerontologii*. 2021; 34(4): 550-7. (in Russian)
2. Melguizo-Rodríguez L., Costela-Ruiz V.J., Manzano-Moreno F.J., Ruiz C., Illescas-Montes R. Salivary Biomarkers and Their Application in the Diagnosis and Monitoring of the Most Common Oral Pathologies. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(14): 5173.
3. Castagnola M., Scarano E., Passali G.C., Messana I., Cabras T., Iavarone F. et al. Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* 2017; 37(2): 94-101.
4. Chojnowska S., Baran T., Wilińska I., Sienicka P., Cabaj-Wiater I., Knaś M. Human saliva as a diagnostic material. *Adv. Med. Sci.* 2018; 63(1): 185-91.
5. Khurshid Z., Warsi I., Moin S.F., Slowey P.D., Latif M., Zohaib S. et al. Biochemical analysis of oral fluids for disease detection. *Adv. Clin. Chem.* 2021; 100: 205-53.
6. Zhang C.Z., Cheng X.Q., Li J.Y., Zhang P., Yi P., Xu X. et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int. J. Oral. Sci.* 2016; 8(3): 133-7.
7. Yoshizawa J.M., Schafer C.A., Schafer J.J., Farrell J.J., Paster B.J., Wong D.T. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(4): 781-91.
8. Ligtenberg A.J.M. Saliva diagnostics: a summary of the expanded possibilities. *Ned. Tijdschr Tandheelkd.* 2020; 127(10): 561-6.
9. García-Montoya I.A., Cendón T.S., Arévalo-Gallegos S., Rascón-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012; 1820(3): 226-36.
10. Legrand D. Lactoferrin, a key molecule in immune and inflammatory processes. *Biochem. Cell Biol.* 2012; 90(3): 252-68.
11. Wang B., Timilsena Y.P., Blanch E., Adhikari B. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019; 59(4): 580-96.
12. Fábán T.K., Hermann P., Beck A., Fejérdy P., Fábán G. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13(4): 4295-4320.
13. Kell D.B., Heyden E.L., Pretorius E. The Biology of Lactoferrin, an Iron-Binding Protein That Can Help Defend Against Viruses and Bacteria. *Front Immunol.* 2020; 11: 1221.
14. Hao L., Shan Q., Wei J., Ma F., Sun P. Lactoferrin: Major Physiological Functions and Applications. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2019; 20(2): 139-44.
15. Icriverzi M., Dinca V., Moisei M., Evans R.W., Trif M., Roseanu A. Lactoferrin in Bone Tissue Regeneration. *Curr. Med. Chem.* 2020; 27(6): 838-53.
16. Mayeur S., Spahis S., Pouliot Y., Levy E. Lactoferrin, a Pleiotropic Protein in Health and Disease. *Antioxid Redox Signal.* 2016; 24(14): 813-36.
17. Takayama Y., Aoki R. Roles of lactoferrin on skin wound healing. *Biochem. Cell Biol.* 2012; 90(3): 497-503.
18. Bermejo-Pareja F., Del Ser T., Valentí M., de la Fuente M., Bartolome F., Carro E. Salivary lactoferrin as biomarker for Alzheimer's disease: Brain-immunity interactions. *Alzheimers Dement.* 2020; 16(8): 1196-1204.
19. Li Y.Q., Guo C. A Review on Lactoferrin and Central Nervous System Diseases. *Cells.* 2021; 10(7): 1810.
20. Janssen P.T., van Bijsterveld O.P. A simple test for lacrimal gland function: A tear lactoferrin assay by radial immunodiffusion. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1983; 220: 171-4.
21. Liu L., Kong D., Xing C., Zhang X., Kuang H., Xu C. Sandwich immunoassay for lactoferrin detection in milk powder. *Anal. Methods.* 2014; 6: 4742-5.
22. Mikula E. Recent Advancements in Electrochemical Biosensors for Alzheimer's Disease Biomarkers Detection. *Curr. Med. Chem.* 2021; 28(20): 4049-73.

BIOCHEMISTRY

23. Zhang Y., Lu C., Zhang J. Lactoferrin and Its Detection Methods: A Review. *Nutrients*. 2021; 13(8): 2492.
24. Bazarnyi V.V., Polushina L.G., Maksimova A.Yu. Laboratory examination of buccal epithelium and oral fluid. Ekaterinburg:Ural'skiy gosmeduniversitet; 2020. (in Russian)
25. Bartolome F., Orive G., Carro E. Standardizing salivary lactoferrin measurement to obtain a robust diagnostic biomarker for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2021; 13(1): e12173.
26. González-Sánchez M., Bartolome F., Antequera D., Puertas-Martín V., González P., Gómez-Grande A. et al. Decreased salivary lactoferrin levels are specific to Alzheimer's disease. *EBioMedicine*. 2020; 57: 102834.
27. Reseco L., Atienza M., Fernandez-Alvarez M., Carro E., Cantero J.L. Salivary lactoferrin is associated with cortical amyloid-beta load, cortical integrity, and memory in aging. *Alzheimers Res. Ther.* 2021; 13(1): 150.
28. Shodieva Sh.Sh., Alimov A.S., Khadzhimetov A.A. The nature of changes in the acute phase protein – lactoferrin in saliva with periodontitis of varying severity. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2015; 8: 694-6. (in Russian)
29. Bazarnyi V.V., Zhuravlev V.P., Mandra Yu.V., Nikolaeva A.A., Vanevskaya E.A., Polushina L.G. Lactoferrin in the oral fluid of patients with herpesvirus infection. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2014; 1(47): 48-9. (in Russian)
30. Gleerup H.S., Jensen C.S., Høgh P., Hasselbalch S.G., Simonsen A.H. Lactoferrin in cerebrospinal fluid and saliva is not a diagnostic biomarker for Alzheimer's disease in a mixed memory clinic population. *EBioMedicine*. 2021; 67: 103361.
31. Hildebrandt T., Zawilska A., Trzcionka A., Tanasiewicz M., Mazurek H., Świętochowska E. Estimation of Proinflammatory Factors in the Saliva of Adult Patients with Cystic Fibrosis and Dental Caries. *Medicina (Kaunas)*. 2020; 56(11): 612.
32. Ramenzoni L.L., Lehner M.P., Kaufmann M.E., Wiedemeier D., Attin T., Schmidlin P.R. Oral Diagnostic Methods for the Detection of Periodontal Disease. *Diagnostics (Basel)*. 2021; 11(3): 571.
33. Ide M., Saruta J., To M., Yamamoto Y., Sugimoto M., Fuchida S. et al. Relationship between salivary immunoglobulin a, lactoferrin and lysozyme flow rates and lifestyle factors in Japanese children: a cross-sectional study. *Acta Odontol. Scand*. 2016; 74(7): 576-83.
34. Nishida N., Yamamoto Y., Tanaka M., Kataoka K., Kuboniwa M., Nakayama K. et al. Association between involuntary smoking and salivary markers related to periodontitis: a 2-year longitudinal study. *J. Periodontol*. 2008; 79(12): 2233-40.
35. Gillum T., Kuennen M., McKenna Z., Castillo M., Jordan-Patterson A., Bohnert C. Exercise increases lactoferrin, but decreases lysozyme in salivary granulocytes. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2017; 117(5): 1047-51.
36. Svendsen I.E., Hem E., Gleeson M. Effect of acute exercise and hypoxia on markers of systemic and mucosal immunity. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2016; 116: 1219-29.
37. Santos J.M.B.D., Foster R., Jonckheere A.C., Rossi M., Luna J.L.A., Katekaru C.M. et al. Outdoor Endurance Training with Air Pollutant Exposure Versus Sedentary Lifestyle: A Comparison of Airway Immune Responses. *Int. J. Environ Res. Public Health*. 2019; 16(22): 4418.
38. Bazarnyi V.V., Beresneva N.S., Lomova O.L., Sannikova N.E. Clinical and diagnostic significance of the determination of lactoferrin in oral fluid. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2011; 10: 36. (in Russian)
39. Janšáková K., Escudier M., Tóthová L., Proctor G. Salivary changes in oxidative stress related to inflammation in oral and gastrointestinal diseases. *Oral. Dis*. 2021; 27(2): 280-9.
40. Li C., Liu Z. Bioinformatic Analysis for Potential Biomarkers and Therapeutic Targets of T2DM-related MI. *Int. J. Gen. Med*. 2021; 14: 4337-47.
41. van Leeuwen S., Potting C., Huysmans M.-C., Blijlevens N. Salivary Changes before and after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review *Biol Blood Marrow. Transplant*. 2019; 25(6): 1055-61.
42. Breijyeh Z., Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020; 25(24): 5789.
43. Calabrò M., Rinaldi C., Santoro G., Crisafulli C. The biological pathways of Alzheimer disease: a review. *AIMS Neurosci*. 2020; 8(1): 86-132.
44. Kumar A., Sidhu J., Goyal A., Tsao J.W. Alzheimer Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
45. Ashrafian H., Zadeh E.H., Khan R.H. Review on Alzheimer's disease: Inhibition of amyloid beta and tau tangle formation. *Int. J. Biol. Macromol*. 2021; 167: 382-94.
46. Ittner L.M., Gotz J. Amyloid-Beta and tau – A toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci*. 2011; 12: 65–72.
47. Osmand A.P., Switzer R.C. Differential distribution of lactoferrin and Alz-50 immunoreactivities in neuritic plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. 1990, 11: 284.
48. Kawamata T., Tooyama I., Yamada T., Walker D.G., McGeer P.L. Lactotransferrin immunocytochemistry in Alzheimer and normal human brain. *Am. J. Pathol*. 1993; 142(5): 1574-85.
49. Huang R.Q., Ke W.L., Qu Y.H., Zhu J.H., Pei Y.Y., Jiang C. Characterization of lactoferrin receptor in brain endothelial capillary cells and mouse brain. *J. Biomed. Sci*. 2007; 14(1): 121-8.
50. Carro E., Bartolomé F., Bermejo-Pareja F., Villarejo-Galende A, Molina J.A., Ortiz P. et al. Early diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease based on salivary lactoferrin. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2017; 8: 131-8.
51. Gleerup H.S., Hasselbalch S.G., Simonsen A.H. Biomarkers for Alzheimer's Disease in Saliva: A Systematic Review. *Dis. Markers*. 2019; 2019: 4761054.
52. Kamer A.R., Dasanayake A.P., Craig R.G., Glodzik-Sobanska L., Bry M., de Leon M J. Alzheimer's disease and peripheral infections: the possible contribution from periodontal infections, model and hypothesis. *J. Alzheimers Dis*. 2008; 13(4): 437–49.
53. Olsen I., Singhrao S.K. Low levels of salivary lactoferrin may affect oral dysbiosis and contribute to Alzheimer's disease: A hypothesis. *Med. Hypotheses*. 2021; 146: 110393.
54. Sweeney M.D., Zhao Z., Montagne A., Nelson A.R., Zlokovic B.V. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back. *Physiol. Rev*. 2019; 99(1): 21–78.
55. Farah R., Haraty H., Salame Z., Fares Y., Ojcius D.M., Said Sadier N. Salivary biomarkers for the diagnosis and monitoring of neurological diseases. *Biomed. J*. 2018; 41(2): 63-87.
56. Kaczor-Urbanowicz K.E., Martín Carreras-Presas C., Aro K., Tu M., Garcia-Godoy F., Wong D.T. Saliva diagnostics – Current views and directions. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2017; 242(5): 459-72.