

НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА СОСТОЯНИЯ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ: МАРКЁРЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

Мякишева Ю.В., Колсанов А.В., Власов М.Ю., Соколов А.В.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, e-mail: ymyakisheva@yandex.ru

Ротовая жидкость человека является ценной диагностической средой, поскольку содержит большое количество разнообразных биомолекул, многие из которых являются маркёрами патологических состояний организма. Поэтому исследование ротовой жидкости может внести значительный вклад в скрининг заболеваний, оценку риска, вмешательств, прогнозирование рецидивов и другие прогностические оценки результатов. В статье представлен обзор современной научной литературы (проанализировано 157 источников), касающейся биохимического (метаболического) направления диагностики ротовой жидкости. Проанализированы данные, свидетельствующие о диагностической ценности слюны при сердечно-сосудистых, онкологических, эндокринных, системных и некоторых других заболеваниях. Перспективными направлениями в данном виде диагностики являются создание портативных электронных устройств и тест-систем для экспресс-определения новых маркеров заболеваний.

Ключевые слова: ротовая жидкость, слюна, биохимические маркёры, неинвазивная диагностика.

NONINVASIVE DIAGNOSIS OF STATUS OF EXCHANGE PROCESSES IN THE ORGANISM: ROUTINE LIQUID MARKERS

Myakisheva Yu.V., Kolsanov A.V., Vlasov M.Yu., Sokolov A.V.

Samara State Medical University, Samara, e-mail: ymyakisheva@yandex.ru

Oral fluid of man is a valuable diagnostic environment, because it contains a large number of various biomolecules, many of which are markers of pathological conditions of the body. Therefore, oral fluid research can make a significant contribution to disease screening, risk assessment, interventions, relapse prediction and other prognostic assessments of outcomes. The article presents an overview of modern scientific literature (147 sources analyzed) on the biochemical (metabolic) direction of oral fluid diagnostics. The data testifying to diagnostic value of a saliva at cardiovascular, oncological, endocrine, system and some other diseases were analyzed. Prospective directions in this type of diagnostics are the creation of portable electronic devices and test systems for rapid detection of new markers of diseases.

Keywords: oral fluid, saliva, biochemical markers, noninvasive diagnostics.

Ротовая жидкость является уникальной биологической средой. Большой интерес к изучению ее показателей с диагностической целью возник еще в 80-х годах прошлого века [1-3]. По мере усовершенствования лабораторных методов и оборудования, стало доступно изучение различных компонентов ротовой жидкости. Охарактеризованы ее физико-химические и биохимические параметры, определены их референтные величины для разных возрастных групп, условия пробоподготовки для исследования [4-6]. Установлено, что в ротовой жидкости содержится широкий спектр белков и пептидов, нуклеиновых кислот, а также электролиты, ферменты, гормоны, другие регуляторы, которые поступают из локальных и системных источников [7-11]. Это делает возможным использование ее в качестве биологической среды для оценки физиологических процессов и патологических состояний не только в ротовой полости, но и в организме. По сравнению с традиционным методом исследования крови, определение показателей в ротовой жидкости имеет ряд

преимуществ: неинвазивность, атравматичность для пациента, отсутствие стресса, характерного для венепункции; более простые условия хранения и транспортировки, благодаря жидкому состоянию (в отличие от цельной крови, которая подвержена процессам свертываемости); возможность взятия биологического материала необходимое число раз; отсутствие необходимости квалифицированного персонала и специального оборудования при взятии ротовой жидкости, что делает реальным ее использование в экспресс-лабораториях различного назначения. Несмотря на внимание к диагностической ценности ротовой жидкости, проблемы изучения ее параметров в основном заключаются в недостаточном количестве систематизированной информации о роли определения конкретных биомолекул в выявлении заболеваний в клинической практике. Сказывается также отсутствие высокочувствительных диагностических систем. Однако в настоящее время заинтересованность в изучении ротовой жидкости не угасает, и неинвазивным методам исследования посвящен ряд работ [12-15]. Принятый термин «сальвиомика» («salivaomics») подчеркивает быстрое развитие знаний о различных компонентах ротовой жидкости, составляющих ее протеом, транскриптом, метаболом и микробиом [16]. С каждым годом появляются новые наборы ведущих мировых производителей диагностических тест-систем для определения различных маркеров, в первую очередь, методом иммуноферментного анализа. Также для определения параметров метаболизма в ротовой жидкости используются традиционные спектрофотометрические, спектрофлуориметрические методы, методы электрохемилюминисценции, газовой хроматографии, иммунохроматографии, масс-спектрометрии, кристаллоскопии [17, 18]. Анализ баз данных, создаваемых с целью расширения доступа клиницистов к информации о компонентах ротовой жидкости, может содействовать поиску новых маркеров заболеваний. В данной статье приводится обзор литературы по результатам анализа 157 современных научных публикаций, приведенных в базах данных PubMed-NCBI, eLibrary.

Приоритетом в изучении маркеров заболеваний в ротовой жидкости является определение показателей *при стоматологической патологии*, чему посвящено большое количество научных работ. Диагностика соматических заболеваний основана на присутствии в ротовой жидкости метаболитов, проникающих в нее из крови через гематосаливарный барьер, который обеспечивает избирательное поступление различных классов химических соединений путем диализа, диффузии, ультрафильтрации, осмоса, сорбции [5, 19]. Таким образом, многие компоненты крови, имеющие диагностическое значение при патологии внутренних органов, обнаруживаются и в ротовой жидкости. Причем наблюдается корреляция изменений данных параметров в крови и ротовой жидкости [4, 20].

Исторически одни из первых работ, рассматривающих ротовую жидкость как объект исследования, касались в основном *диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта и органов дыхания*. Они посвящены изменениям ферментного спектра слюны, скорости саливации при остром и хроническом панкреатите [21, 22], выделению слюнными железами стероидов и их фракций у больных бронхиальной астмой [23]. По мере изучения показателей метаболизма в ротовой жидкости получен обширный блок данных, свидетельствующих о возможности ее использования для биохимических исследований при болезнях сердечно-сосудистой системы, печени, костной системы, эндокринной, нефрологической патологии, онкологических, аллергических, инфекционных заболеваниях, при определении состояния минерального обмена, обеспеченности витаминами, оценке иммунного статуса, мониторинга лекарственной терапии, уровня и последствий воздействия на организм факторов неблагоприятной окружающей среды [4, 8, 23, 24]. Анализ научных публикаций за последнее десятилетие выявил следующие перспективные направления исследования биомаркеров заболеваний внутренних органов в ротовой жидкости.

Ряд работ посвящен установлению диагностического значения показателей *при инфаркте миокарда*. Так, по данным I. Mirzaii-Dizgah и E. Riahi (2013), у пациентов с инфарктом миокарда спустя 12 и 24 часа после развития заболевания наблюдается повышение уровня тропонина I в нестимулированной слюне по сравнению со значениями в контрольной группе [25]. Выявлена высокая активность альфа-амилазы в ротовой жидкости в первые часы развития инфаркта миокарда [26].

Для выявления маркеров *артериальной гипертензии* проведено исследование содержания С-реактивного белка, лейкотриена В4, простагландина Е2, креатинина и лизоцима, активность матричной металлопротеиназы 9 в ротовой жидкости и плазме крови. Установлено, что у пациентов с различной степенью артериальной гипертензии уровень С-реактивного белка в ротовой жидкости коррелирует с уровнем его в плазме крови. При проведении многофакторного анализа наблюдалась корреляция концентрации С-реактивного белка и активности металлопротеиназы с толщиной сосудистой стенки, концентрации лейкотриена В4 и простагландина Е2 с ригидностью артериальной стенки. Исследователи полагают, что ротовая жидкость может представлять собой альтернативную биологическую среду для оценки сердечно-сосудистого риска [27].

Как известно, риск развития сердечно-сосудистых заболеваний может базироваться и на ответных реакциях симпатическо-адренормедуллярной системы на *стрессовые ситуации*. В статье S. Cozma et al. (2017) приведен обзор научных публикаций за период с 2010 по 2015 год, в которых содержание кортизола (как продукта деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси) и активность альфа-амилазы (реакция симпатической нервной

системы) в ротовой жидкости использовались как стресс-биомаркеры. Показано, что определение данных показателей в качестве потенциальных диагностических инструментов для выявления стресс-индуцированных сердечных заболеваний возможно в сочетании с оценкой клинических признаков кардиометаболического риска для прогнозирования исхода болезни [28]. Данная точка зрения находит подтверждение в работе L. Capranica et al. (2012), где указывается, что по изменениям уровня кортизола и альфа-амилазы в ротовой жидкости может оцениваться реакция гипоталамо-гипофизарной и симпатической нервной систем [29]. Основываясь на данных сведениях, N. Iizuka et al. (2012) провели исследования указанных параметров для изучения реакции на различные виды стресса (социального, психологического, физиологического). Установлено, что мониторинг содержания кортизола и активности альфа-амилазы в ротовой жидкости может быть использован для анализа психофизиологического статуса и оценки эффективности коррекции стрессовых состояний у лиц различных возрастных и социальных групп [30, 31].

Значительное количество обзорных работ на сегодняшний день посвящено потенциальному использованию маркеров ротовой жидкости для диагностики *онкологических заболеваний* и их применению в персонализированном подборе методов лечения злокачественных новообразований, в основном челюстно-лицевой области [32-34]. Авторы приходят к мнению, что определение опухолевых маркеров в ротовой жидкости может иметь несомненное преимущество по сравнению с серодиагностикой ввиду широкой доступности, малой инвазивности и относительно низкой стоимости. Однако это станет возможным при дальнейшем усовершенствовании методов и повышении чувствительности тест-систем. По мнению В.Н. Николенко с соавт. (2013), определение биомаркеров в слюне является новым подходом к диагностике злокачественных новообразований полости рта, стадии развития, включая начальный процесс, распространение, рецидив и лечение [12].

В исследовании В. Vlkova et al. (2012) установлено, что у пациентов с предраковыми поражениями полости рта (лейкоплакия, плоский лишай, эритроплакия) увеличена концентрация маркеров липопероксидации и карбонильного стресса в ротовой жидкости. По мнению авторов, наблюдаемое снижение антиоксидантного статуса связано с уменьшением экспрессии антиоксидантных ферментов, что может лежать в основе этиологии или патогенеза предраковых состояний, а также перехода к злокачественному поражению слизистой оболочки полости рта [35].

Обнаружено, что уровни фактора роста фибробластов и рецепторов к нему в ротовой жидкости и сыворотке крови пациентов с опухолями слюнной железы значительно выше, чем значения данных показателей у пациентов контрольной группы. По мнению авторов публикации, фактор роста фибробластов и рецепторы к нему может быть потенциальным

биомаркером в диагностике опухолей слюнных желез [33]. Показано, что определение опухолевого маркера СА125 в слюне может служить вспомогательным диагностическим инструментом для обнаружения плоскоклеточной карциномы ротовой полости [32]. В исследовании P.S. Baldawa et al. (2016) установлено, что у курящих людей повышен уровень тиоцианатов в ротовой жидкости. Причем концентрация анализа в ротовой жидкости находится в прямой зависимости от интенсивности и продолжительности курения. Авторы статьи предлагают использовать данный тест для неинвазивной диагностики, а также в качестве начального этапа профилактики рака слюнных желез [36]. Интересными являются данные о возможности исследования биомаркеров рака молочной железы (СА15-3, с-erB2) и яичников (СА125) в ротовой жидкости [12].

Достаточный блок исследований посвящен диагностической ценности ротовой жидкости *в эндокринологии*. Так, A. Ladgotra et al. (2016) проводилась оценка и сравнение уровня глюкозы, белков, кальция и фосфатов, активности амилазы в сыворотке крови и ротовой жидкости больных сахарным диабетом и здоровых людей. Показано, что значения биохимических параметров крови и ротовой жидкости существенно отличаются у пациентов контрольной и опытной групп, что позволяет рекомендовать ротовую жидкость в качестве альтернативы крови в диагностике и мониторинге лечения сахарного диабета [37]. Причем сдвиги биохимических показателей в ротовой жидкости более значительны, чем в сыворотке крови, что делает данную биологическую среду более предпочтительной для скрининговой диагностики сахарного диабета [20]. По данным P.Lakshmi et al. (2015) уровень глюкозы в ротовой жидкости детей с сахарным диабетом превышает значения в контрольной группе. Также отмечена положительная корреляция между уровнем глюкозы в крови и содержанием глюкозы в ротовой жидкости обследованных детей. Кроме того, у детей с сахарным диабетом выявлено увеличение содержания в ротовой жидкости общего белка, активности альфа-амилазы и кислой фосфатазы, а уровень мочевины существенно не отличался от значений у здоровых детей [38]. Исследование показателей метаболизма в ротовой жидкости можно использовать не только для неинвазивной оценки диабетического статуса пациента, но и с целью изучения патохимических последствий гипергликемии при сахарном диабете, определения степени дисфункции слюнных желез. Проведенные В. Malicka et al. (2016) исследования показывают, что в ротовой жидкости больных сахарным диабетом отмечается более высокая активность лактатдегидрогеназы, аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Авторы предполагают, что данные изменения связаны с аутоиммунологическим повреждением слюнных желез при данной патологии [39].

Диагностике ранних стадий поражения слюнных желез при аутоиммунных заболеваниях, в частности при ревматоидном артрите, посвящена работа A. Zalewska et al. (2013). Предложен

простой, безопасный и дешевый метод определения гликозидаз в ротовой жидкости, что подтверждает возможность использования ее в качестве диагностической среды при системных заболеваниях [40].

Обсуждается физиологическая роль ротовой жидкости, её достоинства и недостатки как биологической жидкости *для скрининга ожирения, метаболического синдрома* у детей и подростков. Показано, что содержание фосфата в ротовой жидкости может служить неинвазивным прогностическим маркером в развитии ожирения [18]. Уровень кортизола в ротовой жидкости может использоваться для мониторинга эффективности коррекции обструктивного апноэ во время сна у пациентов, страдающих избыточным весом [41].

В настоящее время весьма актуальным является разработка неинвазивных *методов в репродуктологии* для определения времени овуляции у женщин для обеспечения успешного оплодотворения и для разработки стратегий планирования семьи. Предпринята попытка идентифицировать белки в ротовой жидкости человека, которые были бы индикаторами овуляции. Методом электрофореза в полиакриламидном геле были обнаружены 11 белков, из которых десять были высокоспецифичны в овуляторной фазе. Среди этих белков с помощью иммуноблот-анализа была подтверждена интенсивная экспрессия цистатина-С. Результаты исследования подтвердили предположение, что белки ротовой жидкости могут быть использованы в качестве биомаркеров овуляции [42]. Получены результаты, свидетельствующие о том, что в день овуляции у женщин при нормальном менструальном цикле существенно повышается содержание натрия в слюне. У женщин с хронической аменореей колебания уровня натрия в слюне незначительны [43].

Перспективным является поиск в ротовой жидкости биомаркеров *нарушения метаболизма костной ткани*, причем как при стоматологических, так и соматических заболеваниях. Показано, что концентрация кальция в ротовой жидкости представляет собой полезный инструмент для скрининга остеопороза у женщин в постменопаузе [44]. R. Terracciano et al. (2013) установлено, что низкая степень минерализации костной ткани встречается у женщин в постменопаузе с высоким содержанием α -дефензина – пептида, выделяемого нейтрофилами и обнаруживаемого в ротовой жидкости. Авторы высказывают мнение, что α -дефензин может стать новым биомаркером диагностики остеопороза [45].

В работе J. Heaney et al. (2016) обсуждается диагностическая ценность определения антител в ротовой жидкости, которые могут использоваться как показатели *системного иммунитета*, позволяющие оценивать эффективность вакцинации и защиту от бактериальных инфекций. После проведения парного корреляционного анализа титров антител ротовой жидкости и сыворотки крови здоровых людей показано, что специфические антипневмококковые иммуноглобулины в ротовой жидкости могут быть неинвазивными

маркерами статуса данных антител в сыворотке крови [46]. Для оценки локального иммунного ответа предлагается определять содержание эпидермального фактора роста, фактора роста эндотелия сосудов, интерлейкина-8 в ротовой жидкости пациентов с дескваматозным глосситом. У всех пациентов с глосситом наблюдался значительно более высокий уровень IL-8, чем в контрольной группе. Интересно отметить, что у пациентов с глосситом, которые также страдали гипертонией, были выявлены высокие уровни интерлейкина и фактора роста эндотелия [47].

Последние достижения науки позволяют использовать ротовую жидкость не только для диагностики состояния ротовой полости, но и проводить оценку обменных процессов в организме. Данное направление имеет широкие перспективы в выявлении заболеваний, прогнозировании результатов и контроле эффективности их терапии. Использование ротовой жидкости в качестве носителя диагностических маркеров, без сомнения, обладает большим клиническим и коммерческим потенциалом, поскольку обеспечивает быстрые, простые, недорогие и точные результаты. По мнению F. Wei и D.T. Wong (2012), для внедрения определения биомаркеров в ротовой жидкости в клиническую практику необходимо интегрированное приложение на основе единой информационно-технологической платформы, которое включает в себя обработку образцов, обнаружение, удобный интерфейс и медицинские информационные технологии. В обзорной публикации представлены требования к подобным устройствам и описаны возможности их применения для мониторинга состояния здоровья с использованием слюны [48]. В работе J. Kim et al. (2013) обсуждаются возможности и перспективы применения портативных электрохимических устройств для определения показателей в ротовой жидкости, которые могут предоставлять в реальном времени точные данные для оценки заболеваний пародонта, как в домашних условиях, так и в стоматологическом кабинете. Описан пример биосенсора, основанный на интеграции печатного ферментативного электрода в полость рта. Данный биосенсор встроен в каппу. Ферментативный принцип определения заключается в детекции пероксидного продукта с последующей регистрацией его потенциала. Предлагаемый биосенсор проявляет высокую чувствительность, селективность и стабильность [49].

A. Carrio et al. (2015) представлен аксессуар на основе смартфона для быстрого считывания результатов иммунного хроматографического анализа ротовой жидкости с целью выявления наркозависимости [50]. Разработанная автоматическая система позволяет систематизировать сбор и анализ данных, а также централизованно обрабатывать их. Особенно полезен прибор в экстренных случаях, то есть может применяться сотрудниками полиции и службой скорой помощи в местах, где нет квалифицированного персонала.

Перспективной технологией является выявление циркулирующих опухолевых клеток и фрагментов опухолевой ДНК в ротовой жидкости, что позволяет неинвазивно обнаруживать различные виды онкологических заболеваний на ранних стадиях [34].

Заключение. Анализ данных показывает, что в ротовой жидкости содержится огромное количество биомолекул, но в достаточно низких концентрациях, поэтому существует потребность в разработке чувствительных аналитических методов и необходимости сосредоточиться на многомаркерном подходе. Необходима также разработка стандартных методов взятия данной биологической среды, так как на ее состав может влиять медикаментозное лечение, поражения ротовой полости, пероральные микроорганизмы, физические упражнения и циркадные ритмы. Главным преимуществом диагностики ротовой жидкости является неинвазивность и возможность проведения экспресс-анализа.

Список литературы

1. Вавилова Т.П. Ингибиторы трипсиноподобных протеиназ смешанной слюны человека / Т.П. Вавилова, Н.И. Ларионова, Ю.А. Петрович // *Вопр. мед. хим.* – 1988. – № 3. – С. 74-78.
2. Grundbacher F.J. Variation in levels of immunoglobulins A, G and E in human saliva // *Arch. Oral. Biol.* – 1988. – Vol. 33 (2). – P. 121-126.
3. Mandel I.D. The function of saliva // *J. dent. Res.* – 1987. – Vol. 66, Febr. – P. 623-627.
4. Гильмиярова Ф.Н. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости / Ф.Н. Гильмиярова, В.М. Радомская, Н.И. Гергель [и др.]. – М.: Известия, 2006. – 312 с.
5. Денисов А.Б. Слюнные железы. Слюна / А.Б. Денисов. – М.: Изд-во РАМН, 2003. – 136 с.
6. Pramanik R., Thompson H., Kistler J.O. et al. Effects of the UK Biobank collection protocol on potential biomarkers in saliva // *Int. J. Epidemiol.* – 2012. – Vol. 41(6). – P. 1786-1797.
7. Боровский Е.В. Биология полости рта / Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев. – М.: Медицинская книга, 2001. – 304 с.
8. Каминская Л.А. Перспективы изучения биохимических показателей ротовой жидкости в лабораторной диагностике // *Российская стоматология.* – 2010. – Т. 3. – С. 36-42.
9. Кочурова Е.В. Биомаркеры ротовой жидкости / Е.В. Кочурова, С.В. Козлов, В.Н. Николенко // *Материалы конференции «АНИИ XXI века».* – 2013. – № 3. – С. 56-59.
10. Шемонаев В.И. Циркадная организация физико-химических свойств ротовой жидкости практически здоровых людей / В.И. Шемонаев, А.А. Малолеткова, Д.М. Фролов [и др.] // *Научные ведомости БелГУ.* – 2012. – № 4(123). – С. 243-249.
11. Rosa N., Correia M.J., Arrais J.P. et al. From the salivary proteome to the OralOme: comprehensive molecular oral biology // *Arch. Oral Biol.* – 2012. – Vol. 57(7). – P. 853-864.

12. Николенко В.Н. Диагностическая значимость исследования ротовой жидкости в онкологии / В.Н. Николенко, С.В. Козлов, Е.В. Кочурова // Опухоли головы и шеи. – 2013. – № 1. – С. 39-42.
13. Mal M. Noninvasive metabolic profiling for painless diagnosis of human diseases and disorders // *Future Sci. OA.* – 2016. – Vol. 2(2):FSO106.
14. Malon R.S., Sadir S., Balakrishnan M., Córcoles E.P. Saliva-based biosensors: noninvasive monitoring tool for clinical diagnostics // *Biomed Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – ID 962903.
15. Wong D.T. Salivaomics // *J. Am. Dent. Assoc.* – 2012. – Vol. 143(10). – P. 19S-24S.
16. Kaczor-Urbanowicz K.E., Martin Carreras-Presas C., K. Aro et al. Saliva diagnostics - current views and directions // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* – 2017. – Vol. 242(5). – P. 459-472.
17. Шабалин В.Н. Композиция химических элементов в ротовой жидкости / В.Н. Шабалин, С.Н. Разумова, Д.С. Уварова, В.С. Булгаков // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2015. – № 2. – С. 54-57.
18. Hartman M.L., Groppo F., Ohnishi M. et al. Can salivary phosphate levels be an early biomarker to monitor the evolvement of obesity? // *Contrib. Nephrol.* – 2013. – Vol. 180. – P. 138-148.
19. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П. Физиология гисто-гематических барьеров / Ю.А. Петрович. – М.: Медицина, 1977. – С. 353-360, 564-566.
20. Фотина И.А. Сравнительный анализ биохимических показателей сыворотки крови и слюны у здоровых и больных сахарным диабетом 2 типа: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Нижний Новгород, 2012. – 27 с.
21. Дударь Л.Л. Изменение ферментного спектра слюны при остром и хроническом панкреатите / Л.Л. Дударь, М.М. Гусак // *Врач. дело.* – 1981. – № 12. – С. 32.
22. Capitaine Y., Loizeau E. Effect of chronic pancreatitis on salivary secretion // *Gastroenterol. Clin. Biol.* – 1987. – Vol. 11, no. 12. – P. 874-879.
23. Серговская А.Т. Выделение слюнными железами стероидов и их функций у больных бронхиальной астмой // *Врач. дело.* – 1975. – № 5. – С. 25-27.
24. Радомская В.М. Информативность показателей ротовой жидкости в оценке иммунного ответа организма / В.М. Радомская, И.А. Зубова, С.А. Буракшаев [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2010. – № 9. – С. 11-12.
25. Mirzaii-Dizgah I., Riahi E. Salivary troponin I as an indicator of myocardial infarction // *Indian J. Med. Res.* – 2013. – Vol. 138(6). – P. 861-865.
26. Shen Y.S., Chen W.L., Chan H.Y. et al. Diagnostic performance of initial salivary alpha-amylase activity for acute myocardial infarction in patients with acute chest pain // *J. Emerg. Med.* – 2012. – Vol. 43(4). – P. 553-560.

27. Labat C., Temmar M., Nagy E. et al. Inflammatory mediators in saliva associated with arterial stiffness and subclinical atherosclerosis // *J. Hypertens.* – 2013. – Vol. 31(11). – P. 2251-2258.
28. Cozma S., Dima-Cozma L.C., Ghiciuc C.M. et al. Salivary cortisol and α -amylase: subclinical indicators of stress as cardiometabolic risk / *J. Med. Biol. Res.* – 2017. – Vol. 50(2). – e5577.
29. Capranica L., Lupo C., Cortis C. et al. Salivary cortisol and alpha-amylase reactivity to taekwondo competition in children // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2012. – Vol. 112(2). – P. 647-652.
30. Иванов Д.Г. Влияние эмоционального стресса на показатели метаболизма коллагена и минерального обмена у людей с различной нервно-психической устойчивостью / Д.Г. Иванов, В.Г. Подковкин // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* – 2011. – № 2. – С. 94-100.
31. Iizuka N., Awano S., Ansai T. Salivary alpha-amylase activity and stress in Japan air self-defense force cargo pilots involved in Iraq reconstruction // *Am. J. Hum. Biol.* – 2012. – Vol. 24(4). – P. 468-472.
32. Balan J.J., Rao R.S., Premalatha B.R., Patil S. Analysis of tumor marker CA 125 in saliva of normal and oral squamous cell carcinoma patients: a comparative study // *J. Contemp. Dent. Pract.* – 2012. – Vol. 13(5). P – 671-675.
33. Huang Y.Q., Li Y.D., Li G.K. et al. The evaluation of basic fibroblast growth factor and fibroblastic growth factor receptor 1 levels in saliva and serum of patients with salivary gland tumor // *DNA Cell Biol.* – 2012. – Vol. 31(4). – P. 520-523.
34. Kaczor-Urbanowicz K.E., Martín Carreras-Presas C., Kaczor T. et al. Emerging technologies for salivaomics in cancer detection // *J. Cell Mol. Med.* – 2017. – Vol. 21(4). – P. 640-647.
35. Vlková B., Stanko P., Minárik G. et al. Salivary markers of oxidative stress in patients with oral premalignant lesions // *Arch. Oral. Biol.* – 2012. – Vol. 57(12). – P. 1651-1656.
36. Baldawa P.S., Kulkarni V.V., Koshy A.V. et al. Levels of salivary thiocyanate and its relation with occurrence of micronuclei using exfoliative cytology in smokers and nonsmokers // *Indian J. Dent. Res.* – 2016. – Vol. 27(6). – P. 568-573.
37. Ladgotra A., Verma P., Raj S.S. Estimation of Salivary and Serum Biomarkers in Diabetic and Non-Diabetic Patients – A Comparative Study // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2016. – Vol. 10(6). ZC56-61.
38. Lakshmi P.V., Sridevi E., Sai Sankar A.J. et al. Diagnostic perspective of saliva in insulin dependent diabetes mellitus children: An in vivo study // *Contemp. Clin. Dent.* – 2015. – Vol. 6(4). – P. 443-447.
39. Malicka B., Skoskiewicz-Malinowska K., Kaczmarek U. Salivary lactate dehydrogenase and aminotransferases in diabetic patients // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95(47). – e5211.

40. Zalewska A., Szulimowska J., Waszkiewicz N. et al. Salivary exoglycosidases in the detection of early onset of salivary gland involvement in rheumatoid arthritis // *Postepy Hig. Med. Dosw.* (Online). – 2013. – Dec. – Vol. 67. – P. 1182-1188.
41. Ghiciuc C.M., Dima Cozma L.C., Bercea R.M., Lupusoru C.E., Mihaescu T. Restoring the salivary cortisol awakening response through nasal continuous positive airway pressure therapy in obstructive sleep apnea // *Chronobiol. Int.* – 2013. – Vol. 30(8). – P. 1024-1031.
42. Saibaba G., Rajesh D., Muthukumar S. et al. Proteomic analysis of human saliva: An approach to find the marker protein for ovulation // *Reprod. Biol.* – 2016. – Vol. 16(4). – P. 287-294.
43. Писарева Е.В. Концентрация натрия в ротовой жидкости женщин с нарушениями овариально-менструального цикла / Е.В. Писарева, М.Ю. Власов // *Вестник Самарского университета. Естественнонаучная серия.* – 2006. – №7(47). – С. 154-159.
44. Rabiei M., Masooleh I.S., Leyli E.K., Nikoukar L.R. Salivary calcium concentration as a screening tool for postmenopausal osteoporosis // *Int. J. Rheum Dis.* – 2013. – Vol. 16(2). – P. 198-202.
45. Terracciano R., Migliaccio V., Savino R. et al. Association between low bone mineral density and increased α -defensin in salivary fluid among postmenopausal women // *Menopause.* – 2013. – Vol. 20(12). – P. 1275-1279.
46. Heaney J.L., Phillips A.C., Carroll D., Drayson M.T. The utility of saliva for the assessment of anti-pneumococcal antibodies: investigation of saliva as a marker of antibody status in serum // *Biomarkers.* – 2016. – Vol.12. – P. 1-8.
47. Dafar A., Bankvall M., Garsjö V., Jontell M., Çevik-Aras H. Salivary levels of interleukin-8 and growth factors are modulated in patients with geographic tongue / // *Oral. Dis.* – 2017. doi 10.1111/odi.12654.
48. Wei F., Wong D.T. Point-of-care platforms for salivary diagnostics // *Chin. J. Dent. Res.* – 2012. – Vol. 15(1). – P. 7-15.
49. Kim J., Valdés-Ramírez G., Bandodkar A.J. et al. Non-invasive mouthguard biosensor for continuous salivary monitoring of metabolites // *Analyst.* – 2014. – Vol. 139(7). – P. 1632-1636.
50. Carrio A., Sampedro C., Sanchez-Lopez J.L. et al. Automated Low-Cost Smartphone-Based Lateral Flow Saliva Test Reader for Drugs-of-Abuse Detection // *Sensors (Basel).* – 2015. – Vol. 15(11). – P. 29569-29593.