

Оптимизация диагностики сахарного диабета I типа у детей по результатам цитоморфологических исследований буккального эпителия и процессов окислительного стресса в ротовой полости

Д.А. ДОМЕНЮК*, д.м.н., доцент

Б.Н. ДАВЫДОВ**, д.м.н., профессор

Ф.Н. ГИЛЬМИЯРОВА***, д.м.н., профессор

Л.Г. ИВЧЕНКО****, аспирант

*Кафедра стоматологии общей практики и детской стоматологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

**Кафедра детской стоматологии и ортодонтии с курсом детской стоматологии ФПДО
ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава РФ

***Кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой
ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

****Кафедра фундаментальной и клинической биохимии
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Краснодар

Optimization of the diagnosis of diabetes mellitus type I in children the results of cytomorphological studies of buccal epithelium and processes of oxidative stress in the oral cavity

D.A. DOMENYUK, B.N. DAVYDOV, F.N. GILMIYAROVA, L.G. IVCHENKO

9

Резюме

У 93 детей с аутоиммунным сахарным диабетом в период сменного прикуса на различных стадиях компенсации заболевания по результатам оценки цитологических параметров буккальных эпителиоцитов (степень деструкции, индекс созревания, индекс кератинизации, индекс колонизации), а также антиадгезивной активности слюны, исследована колонизационная резистентность ротовой полости. Показатели окислительного стресса изучены на модели оральных нейтрофилов. Данные сопоставлены с аналогичными параметрами 38 практически здоровых детей. Полученные результаты указывают, что при снижении компенсации эндокринной патологии со стороны цитологических параметров буккального эпителия отмечается увеличение индексов созревания, кератинизации, уровня эпителиоцитов с максимальной степенью деструкции («3 класс», «4 класс»), а также снижение индекса колонизации, антиадгезивной активности слюны, содержания эпителиоцитов с малой степенью деструкции («0 класс», «1 класс», «2 класс») при усилении тяжести оксидативного стресса.

Ключевые слова: аутоиммунный сахарный диабет, детское население, буккальные эпителиоциты, колонизационная резистентность, окислительный стресс, люминол-зависимая хемилюминесценция.

Abstract

In 93 children with autoimmune diabetes mellitus in the period of the mixed occlusion at various stages of the disease compensation, the evaluation of cytological parameters buccal epithelial cells (degree of degradation, maturation index, the index keratinization, colonization index), as well as antiadhesive activity of saliva, studied colonization resistance of the oral cavity. Indicators of oxidative

stress were studied on the model of oral neutrophils. Data were compared with similar parameters in 38 healthy children. The obtained results indicate that the decrease in compensation endocrine pathology of the cytological parameters of buccal epithelium increased indices of maturation, keratinization, epithelial cells with a maximum degree of destruction («3rd class», «class 4»), and the decline of colonization, anti-adhesive activity of saliva, the content of epithelial cells with a low degree of degradation («0 class», «1st class», «class 2») with increasing severity of oxidative stress.

Key words: *autoimmune diabetes, pediatric population, buccal epithelial cells, colonization resistance, oxidative stress, luminol-dependent chemiluminescence.*

Данные экспертной оценки комиссии Всемирной организации здравоохранения свидетельствуют, что по состоянию на 2008 год общая детская популяция в мире достигла 1,8 млрд, а сахарный диабет (СД) зафиксирован у 0,02% обследованных. Это свидетельствует, что во всем мире около 497 000 детей страдают СД и ежегодно диагностируется более 80 000 новых случаев. Рост распространенности СД в конце XX – начале XXI века приобрел характер эпидемии. По прогнозам Международной диабетической федерации (IDF), численность больных СД в мире к 2030 году превысит 380 млн человек. В России за последние 15 лет число больных СД удвоилось и в настоящее время составляет более 2 млн человек. Важно отметить, что среди детей и подростков за последние 10 лет зарегистрирован значительный рост заболеваемости СД I типа. В среднем по РФ распространенность СД I типа среди детей и подростков составляет 55-58, заболеваемость – 9-10, смертность – 0,04-0,08 случая на 100 тыс. детского населения (2013) [1, 26, 29].

Существенная распространенность при прогрессирующем росте заболеваемости эндокринной патологии, длительное течение при высокой частоте развития и тяжести осложнений, ранняя инвалидизация больных в наиболее социально активном периоде при сокращении качества и продолжительности жизни, а также клинический полиморфизм, высокая летальность, экономические затраты на дорогостоящее лечение осложнений и реабилитацию больных (инвалидов) при необходимости непрерывного совершенствования системы специализированной помощи, предопределили СД I типа у детского населения как наиболее значимую проблему здравоохранения и социальной защиты большинства мировых государств, в том числе и России. В этом аспекте приоритетными задачами педиа-

три являются ранняя диагностика СД, назначение и корректировка лечения, уточнение наличия вероятных осложнений, оценка своевременности и эффективности профилактических мероприятий, а также разработка новых форм, программ и методов медицинской помощи [6, 11, 22, 27].

Целесообразность планирования лечебно-диагностических мероприятий при эндокринной патологии у детей с позиций подхода к организму как к единому целому очевидна [7, 10, 12-15, 18, 20, 28].

Научно доказано, что адекватным отображением интенсивности метаболических, иммунологических, нейрорегуляторных и гемодинамических нарушений, происходящих в детском организме при дисфункции инсулярного аппарата, являются морфологические и функциональные изменения в системе орального гомеостаза, причем интенсивность проявлений в полости рта колеблется от практически полной компенсации до деструктивных нарушений [24].

В современной молекулярной медицине цитоморфологические исследования эпителиальных тканей, позволяющие неинвазивно определять (подтверждать) клинический диагноз, раскрывать патогенез заболевания, устанавливать эффективность проводимой терапии, занимают лидирующие позиции в диагностике патологических состояний. Ведущая роль в осуществлении защитных механизмов эпителия слизистой оболочки полости рта (СОПР) определяется его высокой ферментативной активностью, наличием большого количества гликогена, а также выраженной интенсивностью метаболических процессов при возможности к быстрой адаптации [2, 4]. Цитоморфологические исследования буккального эпителия (БЭ) имеют следующие преимущества: ранняя диагностика нарушений процессов пролиферации и дифференцировки эпителия;

оценка интенсивности воспалительных процессов; выявление ядерного полиморфизма и клеточной атипии; определение микробной контаминации и видовой принадлежности микроорганизмов; установление цитогенетических модификаций [8].

Буккальные эпителиоциты целесообразно рассматривать в качестве пограничной зоны между внутренней и внешней средой организма. Секретируя сигнальные молекулы (хемокины, цитокины, эйкозаноиды, гемопоэтические и ростовые факторы, эндотелины, оксид азота, молекулы главного комплекса гистосовместимости (HLA), пептидные медиаторы), БЭ принимают активное участие в межклеточных взаимодействиях и формировании иммунного ответа. Сигнальные молекулы, продуцируемые БЭ, определяют развитие воспалительных процессов в слизистых оболочках путем воздействия на активность клеток иммунитета. Доказана секреция БЭ следующих групп хемокинов и цитокинов: лейкотриены; простагландины (ПГ) E2; интерлейкины (ИЛ 6,8,18); γ -интерферон (ИФН γ); гранулоцитарно макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF). Установлено, что на мембране БЭ локализованы коадгезивные (CD54), антигенпрезентирующие (HLA-1, HLA-2) и костимулирующие (CD40) молекулы, причем степень экспрессии БЭ напрямую определяется функциональным состоянием клеток, а также экзо-, эндогенными воздействиями [5, 9, 16, 31]. Синтез дифензинов (антимикробных пептидов), коррелирующей с усилением продукции ПГ E2 и увеличением содержания внутриклеточного кальция при культивировании БЭ с E. Coli, лежит в основе иммуногистохимической диагностики бактериальных инфекций. Под действием интерферонов, регулирующих иммунологическую функцию БЭ, усиливается секреция GM-CSF и ИЛ-8. Интерфероны (α , β) в БЭ вызывают экспрессию гена ISG-15,

активирующего цитотоксичность, пролиферацию NK-клеток и синтез ИФН γ , оказывающего, в свою очередь, потенцирующее действие на экспрессию молекул CD40, CD54 и HLA. Выявлено, что секреция ИФН γ в зараженных *S. Albicans* оральных эпителиоцитах, коррелирует с образованием индуктора ИФН γ – активной формы ИЛ-18. Важно отметить, что белок-предшественник ИЛ-18 и матричная рибонуклеиновая кислота конститутивно экспрессируются БЭ, но активная форма синтезируется только при их непосредственной стимуляции [3, 19]. При воспалительной патологии пародонта различной интенсивности отмечается изменение степени созревания БЭ и уменьшение содержания в мембранах буккальных эпителиальных клеток сиаловой кислоты [17, 23, 32].

Заслуживает внимания неинвазивная, высокоинформативная методика установления биологического возраста и интегральной характеристики состояния здоровья при метаболических сдвигах, в том числе и при СД, базирующаяся на измерении электрокинетических параметров клеток БЭ (электроотрицательность ядра, скорость движения, электроподвижность) с применением микроэлектрофореза ядер в условиях *in vitro*. Сравнительный анализ показателей электроотрицательности БЭ здоровых пациентов с аналогичными параметрами больных с СД I и II типов, указывает, что биологический возраст данных категорий снижен на 5-7 и 8-10 лет соответственно. Результаты исследований электрокинетических показателей ядер БЭ у больных с СД I и II типов имеют прямую корреляционную зависимость с динамикой изменения гематологических параметров (содержание гликированного гемоглобина, глюкозы, триглицеридов, общего холестерина и т.д.). Существенно завышенный (2,3-8,7 раз), в сравнении с аналогичными параметрами здоровых пациентов, уровень метаболических показателей при различных типах, степени тяжести и длительности течения СД, свидетельствует о форсированных темпах старения организма и снижения биологического возраста перед хронологическим возрастом [25, 30].

Отечественные и зарубежные исследователи установили, что в патогенезе СД I типа ведущая роль принадлежит окислительному стрессу, поэтому значимое повышение в

плазме крови содержания глюкозы через процессы аутоокисления, гликирования, а также внутриклеточной активации полиолового пути, способствующего дисбалансу соотношения NADH/NAD $^{+}$, провоцируют избыточное образование и накопление свободных радикалов. Возникающие при СД I типа метаболические нарушения (дислипидемия, гипергликемия, истощение антиоксидантного резерва, изменения секреции инсулина) способствуют не только активации функционального состояния клеточных мембран, но и определяющих процессы перекисного окисления липидов в зоне повреждения активности липидных медиаторов воспаления. Формирование активных форм кислорода является базовым условием для процессов липопероксидации, поэтому выраженность гомеостатического дисбаланса, обусловленная расходом нейтрофилами кислорода с образованием кислородозависимых систем бактерицидности для элиминации агентов, позволит адекватно оценить интенсивность окислительного стресса при эндокринопатии в ротовой полости [21].

Систематизируя опубликованные научные данные, можно констатировать, что углубленное изучение цитоморфологических особенностей буккального эпителия и антиадгезивной активности слюны, определяющие колонизационную резистентность ротовой полости, а также кислородозависимого метаболизма нейтрофилов у детей с СД I типа, позволят детализировать ранние диагностические критерии эндокринопатии, расширить научные представления о закономерностях изменений интенсивности липопероксидных процессов и дисбиотических сдвигах в системе мукозального эпителия СОПР на различных стадиях компенсации заболевания, а также повысить значимость ротовой жидкости в качестве объекта неинвазивной диагностики аутоиммунного СД. Также полученные результаты повысят информативность диагностических и прогностических критериев в педиатрической практике, подтвердив целесообразность подхода к организму как целостной системе, способствуя поиску комплексных решений в лечении и реабилитации эндокринных заболеваний.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Совершенствование диагностических критериев интенсивности эндокринных нарушений у детей с

аутоиммунным сахарным диабетом на различных стадиях компенсации заболевания по результатам определения параметров колонизационной резистентности полости рта и показателей окислительного стресса на модели оральных нейтрофилов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования с участием детей соответствовали этическим стандартам биоэтического комитета, разработанным в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964) «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 года, ст. 24 Конституции РФ, «Правилами клинической практики в РФ», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 и этическим стандартам Комитета по экспериментам, стандартам проведения клинических исследований (ГОСТ Р 52379-2005). Все клинические и лабораторно-диагностические исследования детей проводились после информированного согласия родителей (опекунов).

Исследование проводилось на базе кафедры микробиологии Ставропольского государственного медицинского университета и кафедры медицинской биохимии, клинической лабораторной диагностики и фармации Института живых систем Северо-Кавказского Федерального университета. Материалом лабораторно-диагностических и клинико-инструментальных исследований являлись результаты обследования 130 детей в возрасте от 7 до 12 лет. Данная возрастная категория, согласно периодам развития ребенка после рождения (Тур А. Ф., 1955) и формирования зубочелюстной системы, относится к III периоду функционального становления зубочелюстно-лицевой системы – сменному прикусу (V период по схеме Тура А. Ф.). Все обследованные были разделены на две группы. Группу сравнения составили 38 практически здоровых детей (I-II группа здоровья, объединенных, согласно рекомендациям Вельтищева Ю. Е. (1994), в единую группу). Диагноз «здоров» поставлен по результатам заключения врача-педиатра. Основную группу (93 человека) составили дети с диагнозом «СД I типа», проходящие лече-

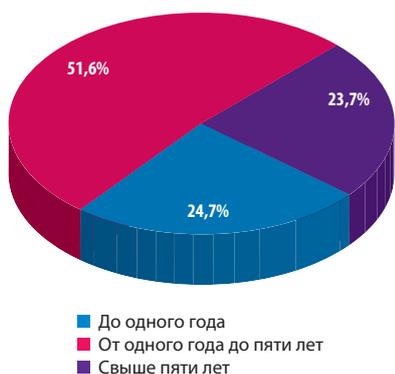


Рис. 1. Длительность заболевания СД I типа у детей основной группы

ние в эндокринологическом отделении ГБУЗ МЗ СК «Детская городская клиническая больница им. Г.К. Филиппского» г. Ставрополя в период с 2010-го по 2016 год. Пациенты основной группы, в зависимости от степени компенсации эндокринопатии, разделены на две подгруппы. Первую подгруппу составил 41 человек (44,1%) с диагнозом «СД I типа» в стадии компенсации. Вторая подгруппа включала в себя 52 человека (55,9%) с диагнозом «СД I типа» в стадии декомпенсации. Согласно данным клинической истории болезни детей с СД I типа у 23 человек (24,7%) отмечается давность заболевания до 1 года; у 48 человека (51,6%) – давность заболевания от 1 года до 5 лет; у 22 человек (23,7%) – давность заболевания свыше 5 лет (рис. 1).

В категории с давностью заболевания СД I типа до 1 года преобладают дети с декомпенсированной формой эндокринопатологии (18 человек – 78,3%), а компенсированная форма выявлена только у 5 детей (21,7%). Разделение по степени компенсации эндокринопатологии детского населения с диагнозом «СД I типа» на подгруппы базировалось на критериях компенсации углеводного обмена (Дедов И.И., 2007). Показатели уровня гли-

кемии фиксировались из клинической истории болезни ребенка (табл. 1).

Диагноз «СД I типа» детям исследуемых групп был поставлен по результатам лабораторных исследований (общий анализ крови, анализ мочи, биохимический анализ крови с определением уровня содержания глюкозы в крови) и клинического обследования врачом-эндокринологом в условиях ГБУЗ МЗ СК «ДГКБ им. Г.К. Филиппского» г. Ставрополя.

Специальные методы исследования включали в себя изучение колонизационной резистентности ротовой полости и кислородозависимого метаболизма нейтрофилов. Исследование колонизационной резистентности ротовой полости базировалось на результатах оценки цитологических параметров буккальных эпителиоцитов (индекс созревания, индекс кератинизации, индекс колонизации), степени деструкции буккальных эпителиоцитов (0 класс – 4 класс) и колонизационной резистентности буккальных эпителиоцитов (антиадгезивной активности слюны). Показатели окислительного стресса (изучение кислородозависимого метаболизма оральных нейтрофилов) получены с использованием метода спонтанной и индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции.

Буккальные эпителиоциты получены путем соскоба с внутренней поверхности слизистой оболочки щеки утром натощак. Для этого стерильной ложечкой соскабливали и смывали БЭ физиологическим раствором (0,5-1 мл) в центрифужную пробирку. Последовательно данную операцию повторяли пять раз. Затем клетки взвешивали в 10 мл физиологического раствора и трижды отмывали при помощи центрифугирования (1000 об./мин. в течение пяти минут). Далее надосадочную жидкость удаляли, а остаток с БЭ взвешивали в растворе Хенкса без

фенолового красного, доводя до концентрации 1×10^6 кл/мл. Клетки тонким слоем наносили на предметное стекло, высушивали на воздухе, фиксировали в метилом спирте, окрашивали по методу Романовского-Гимза (1 мл готовой жидкой краски + 2 мл основного буферного раствора + 47 мл дистиллированной воды). Полученные мазки просматривали под иммерсионной системой светового монокулярного биологического микроскопа Levenhuk 320 (Китай) в проходящем свете методом светлого поля. С учетом степени дифференцировки и деструкции в каждой мазке подсчитано 200 клеток плоского эпителия. Анализ цитограмм проведен с использованием следующих индексов:

- индекс созревания – процентное соотношение поверхностных и промежуточных клеток в мазке;

- индекс кератинизации – процентное соотношение безъядерных клеток к общему количеству клеток в мазке;

- индекс колонизации – среднее количество адгезированных «оральных стрептококков» на одном БЭ (Маянский А. Н., 1987). Результаты формулировали в баллах с применением следующей градации: 0-10 «оральных стрептококков» на одном БЭ – «0 баллов»; 10-30 «оральных стрептококков» на одном БЭ – «1 балл»; 30-100 «оральных стрептококков» на одном БЭ – «2 балла»; 100-300 «оральных стрептококков» на одном БЭ – «3 балла»; более 300 «оральных стрептококков» на одном БЭ – «4 балла».

На основании полученных данных рассчитан ИЕКБЭ по формуле:

$$\text{ИЕКБЭ} = ((0 \times N_0 + 1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3 + 4 \times N_4)) / 50$$

где N – количество буккальных эпителиоцитов с различной степенью колонизации (баллы). Показатель ИЕКБЭ: «нормальный» – более 1,0; «умеренно сниженный» – 0,5-

Таблица 1. Критерии компенсации углеводного обмена при сахарном диабете I типа

Показатели		Компенсация	Субкомпенсация	Декомпенсация
HbA1c, (%)		6,0 – 7,0	7,1 – 7,5	>7,5
Самоконтроль глюкозы в капиллярной крови, ммоль/л (мг%)	Гликемия натощак	5,0 – 6,0	6,1 – 6,5	> 6,5
		(90 – 109)	(110 – 120)	(> 120)
	Постпрандиальная гликемия (2 ч после еды)	7,5 – 8,0	8,1 – 9,0	> 9,0
		(136 – 144)	(145 – 160)	(> 160)
	Гликемия перед сном	6,0 – 7,0	7,1 – 7,5	> 7,5
		(110 – 126)	(127 – 135)	(> 135)

1,0; «существенно сниженный» – менее 0,5.

Степень деструкции буккальных эпителиоцитов установлена с учетом следующих морфологических критериев:

- 0 класс – клетки с нормальной структурой ядра и цитоплазмы;
- 1-й класс – клетки с нормальной структурой ядра и частичным (не более 1/2) деструктивным повреждением цитоплазмы;
- 2-й класс – клетки с частичным деструктивным повреждением ядра и значительной (более 1/2), но не полной, деструкцией цитоплазмы;
- 3-й класс – клетки со значительным, но не полным, деструктивным повреждением ядра и полной деструкцией цитоплазмы;
- 4-й класс – клетки с полным деструктивным повреждением ядра и цитоплазмы.

Исследование колонизационной резистентности буккальных эпителиоцитов. Проведено исследование адгезивных реакций в паре «*Candida albicans* – буккальные эпителиоциты» с использованием штамма *Candida albicans* «601» (Goldman D., Goetzl E. в модификации Маянского А. Н., 1987) из базы ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ. Дрожжевая форма культур *C. albicans* получена на агаре Сабуро и затем убита 0,4% р-ром формалина. Затем культуру *C. albicans* отмывали, обрабатывали ультразвуком (22кГц – 20ма – 10 сек.) с целью разрушения клеточных конгломератов, с последующим взвешиванием в забуференном физрастворе (рН – 7,2-7,4; концентрация – 108 клеток/мл). Полученные стандартной методикой буккальные эпителиоциты смешаны в одинаковых пропорциях (0,5 мл) с взвесью *C. albicans*, инкубированы ($t = 37^{\circ}\text{C} - 60$ минут) при обязательном встряхивании через каждые 5 минут. Затем, после трехкратного отмывания (5 минут, 30 г), из осадка были приготовлены фиксированные мазки, окрашенные 0,25% водным р-ром азур А (Sigma, США). Было изучено 100 буккальных эпителиоцитов путем подсчета количества адгезированных кандид. Конечный результат был оценен по числу *C. albicans* на один буккальный эпителиоцит. Значения при адгезии 10 и менее *C. albicans* являлись нормальными; показатели при адгезии

более 10 *C. albicans* считались увеличенными.

Принцип методики определения антиадгезивной активности слюны (ААС) заключается в оценке способности слюны пациента предрасполагать адгезию микробных клеток на буккальный эпителий донора (Ofek J., Beachey E. в модификации Маянской И. В., 1987). В качестве микробных клеток использована культура *C. albicans* штамм № 4 из базы ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт». Постановка контрольной пробы: в контрольный образец к инкубационной смеси вместо слюны добавлен забуференный физиологический раствор. На основании полученных данных рассчитан показатель ААС по формуле:

$$\text{ААС} = 1 - \text{N}/\text{n}$$

где N – количество адгезированных бактерий в опыте, n – количество адгезированных бактерий в контрольном образце. Результаты рассчитаны в условных единицах (усл. ед.).

У детей исследуемых групп для всесторонней оценки гомеостатического равновесия на модели оральных нейтрофилов изучены показатели окислительного стресса. Забор нестимулированной ротовой жидкости (НРЖ) для исследования кислородозависимого метаболизма нейтрофилов проведен в утренние часы (с 8 до 9 часов) натошак, до чистки зубов, после предварительного полоскания полости рта изотоническим (0,9%) раствором хлорида натрия в течение 5 минут. Далее смывы помещены в пробирки и центрифугированы в течение 5 минут при 1500 об./мин. Содержимое отмыто 0,9% раствором натрия хлорида. В качестве усилителя люминесценции применен люминол. Люминол-зависимая хемилюминесценция (ЛЗХЛ) фиксировала весь пул активных форм кислорода (АФК). Оценка ЛЗХЛ (спонтанной и индуцированной) проведена на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе CL3604 (Россия) в течение 90 минут по числу импульсов в минуту. Управление анализатором CL3604 и регистрация результатов осуществлялась через персональный компьютер.

Статистический анализ осуществляли методами вариационной статистики и корреляционного анализа с использованием прикладных программ Microsoft Excel 2013 и пакета прикладных программ STATISTICA 12,0 (Stat Soft Inc., США),

Med Calc (версия 9.3.5.0). Вычисляли следующие показатели: средняя арифметическая величина, ошибка средней арифметической, показатель достоверности различий по критериям Манна-Уитни для несвязанных выборок и Уилкоксона – для связанных выборок. Коэффициенты корреляции рассчитывали по Спирмену (R). Различия показателей считали значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мукозальная система (МС) обладает центральной регулирующей ролью в механизмах, координирующих различные звенья иммунитета, а также провоцирования, пролонгирования и стабилизации воспалительных реакций. В организме человека МС участвует в формировании противоинфекционных барьеров слизистых поверхностей, усиливающих его защитный потенциал. Мультисистемное действие МС заключается в последовательном (каскадном) включении следующих механизмов: экспрессии защитных генов в клетках мукозы на фоне системного патогенного изменения экспрессии генов; адаптивных и врожденных реакций мукозального иммунитета; модификации генетического профиля человека; изменении качественного (видового) и количественного состава микробиоценоза; нарушении защитных систем *in vivo*. Результатом системного ответа является генетически запрограммированный перевод МС из равновесного состояния в режим напряжения (защиты).

МС включает в себя буккальные эпителиоциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы. Согласно современным представлениям, мукозальные эпителиоциты рассматриваются в качестве базовых клеток иммунной системы слизистых оболочек. Кроме того, аргументирована координирующая роль мукозального эпителия во взаимодействии приобретенного и врожденного иммунитета, а также индикатора общих и местных гомеостатических сдвигов. Установлено, что функциональная активность БЭ напрямую коррелирует со степенью зрелости клеток мукозального эпителия. Находящиеся в базальном слое малодифференцированные предшественники обладают низкой, а располагающиеся в поверхностных слоях высокоспециализированные клетки – высокой функциональной активностью. С целью изучения локальной патоло-

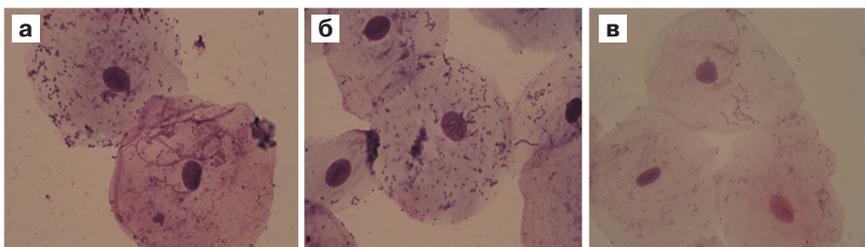


Рис. 2. Естественная колонизация буккальных эпителиоцитов у здоровых детей (а), детей с СД I в фазе компенсации (б) и детей с СД I типа в фазе декомпенсации (в). Окраска по Романовскому-Гимза (Ч1200)

гии, а также целого ряда социально значимых, в том числе и эндокринных заболеваний, используется цитодиагностика клеток буккального эпителия по мазкам из полости рта. Параметры дифференцировки и цитодиагностические индексы, рассчитанные по цитограммам буккального эпителия у детей с СД I типа, являются объективными, высокоинформативными источниками цитогенетических изменений, происходящих на различных стадиях развития эндокринопатологии.

Естественная колонизация буккального эпителия пациентов исследуемых групп представлена на рис. 2 (а-в).

Цитологические параметры буккальных эпителиоцитов у пациентов исследуемых групп представлены в таблице 2.

Результаты цитологических исследований БЭ у детей с СД I типа свидетельствуют о разнонаправленной динамике изменения индексов показателей при усилении степени тяжести эндокринопатии:

- увеличение индекса созревания БЭ: стадия компенсации – в 1,87 раза, стадии декомпенсации – в 2,75 раза по сравнению с параметрами здоровых детей;

- повышение индекса кератинизации БЭ: стадия компенсации – в 1,56 раза, стадии декомпенсации – в 4,02 раза по сравнению с показателями пациентов группы сравнения;

- снижение индекса колонизации БЭ: стадия компенсации – в 2,32 раза, стадии декомпенсации – в 4,46 раза по сравнению со значениями здоровых пациентов.

С увеличением степени тяжести эндокринной патологии прирост индексов созревания, кератинизации при снижении индекса колонизации БЭ обусловлен, с одной стороны – повышением уровня промежуточных клеточных форм, числа безъядерных клеток, с другой – уменьшением количества поверхностных клеток, а также адгезированных облигатных микроорганизмов «оральных стрептококков». Цитологические изменения, по нашему мнению, обусловлены расстройством физиологических процессов созревания и дифференцировки клеток эпителия слизистой оболочки ротовой полости. Данные сдвиги являются ответной реакцией как на бактериальную (вирусную) колонизацию поверхностных слоев мукозального эпителия, так и на микробную инвазию в более глубокие его слои.

Степень деструкции буккальных эпителиоцитов у пациентов исследуемых групп представлена на рис. 3 (а-в).

Результаты цитологических исследований БЭ здоровых детей указывают, что наибольшее количество ($67,28 \pm 1,46\%$) имеют эпителиальные клетки с «0 классом деструкции», в то время как эпителиоциты со вторым, третьим, четвертым классом

деструктивных изменений имеют незначительную численность ($5,17 \pm 0,14\%$; $4,41 \pm 0,09\%$; $5,08 \pm 0,06\%$ соответственно). При увеличении степени тяжести аутоиммунного СД у детей отмечается уменьшение содержания БЭ с малой степенью деструкции («0 класс»: стадия компенсации – $58,39 \pm 2,02\%$, стадия декомпенсации – $38,61 \pm 1,4\%$; «1-й класс»: стадия компенсации – $15,56 \pm 0,47\%$, стадия декомпенсации – $9,54 \pm 0,26\%$; «2-й класс»: стадия компенсации – $4,83 \pm 0,11\%$, стадия декомпенсации – $3,63 \pm 0,18$) и увеличение количества буккальных клеток с максимальными деструктивными изменениями («3-й класс»: стадия компенсации – $11,58 \pm 0,66\%$, стадия декомпенсации – $23,35 \pm 1,74\%$; «4-й класс»: стадия компенсации – $9,64 \pm 0,23\%$, стадия декомпенсации – $24,87 \pm 2,19\%$).

Сопротивляемость (устойчивость) к колонизации нетипичной для данного биотопа микрофлорой является одним из ключевых звеньев в механизмах гомеостатического регулирования мукозального эпителия слизистых оболочек. Колонизационная резистентность слизистых оболочек ротовой полости обусловлена значительным количеством факторов, действующих не только на поверхности (экспрессия рецепторов для агрегации микробных адгезивов), но и в составе секретов мукозального эпителия. Доказано, что видовая (качественная) и количественная оценка являются нестабильными (вариабельными) величинами, находясь в прямой зависимости от интенсивности метаболических процессов, цитологического статуса и уровня функционального напряжения мукозальных эпителиоцитов.

Искусственная колонизация с использованием штамма *Candida albicans* «601» у пациентов исследуемых групп представлена на рис. 4 (а-в).

Таблица 2. Цитологические параметры буккальных эпителиоцитов у пациентов исследуемых групп ($M \pm m$), (балл), ($p \leq 0,05$)

Параметры	Группа сравнения (здоровые дети)	Дети с СД I типа	
		Стадия компенсации	Стадия декомпенсации
Индекс созревания	$15,27 \pm 2,49$	$28,64 \pm 5,08$	$41,96 \pm 7,63$
Индекс кератинизации	$2,38 \pm 0,45$	$3,71 \pm 0,93$	$9,57 \pm 1,04$
Индекс колонизации	$1,83 \pm 0,31$	$0,79 \pm 0,14$	$0,41 \pm 0,03$

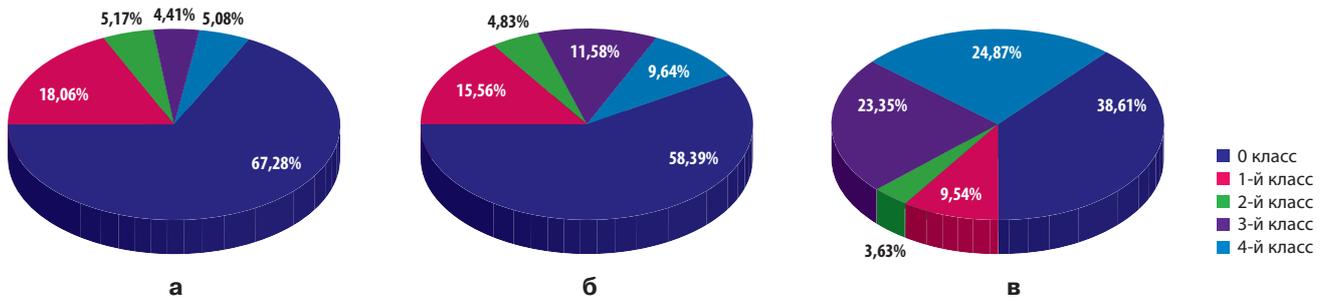


Рис. 3. Степень деструкции буккальных эпителиоцитов у здоровых детей (а), детей с СД I в фазе компенсации (б) и детей с СД I в фазе декомпенсации (в)

Из 38 обследованных детей группы сравнения (здоровые дети) у 34 пациентов (89,5%) показатели адгезии *S. albicans* составили менее 10 дрожжевых клеток в пересчете на один БЭ; из 93 пациентов основной группы (дети с СД I типа) у 59 детей (63,4%) показатели адгезии *S. albicans* составили менее 10 дрожжевых клеток в пересчете на один БЭ. Структура показателей адгезии дрожжевых клеток *S. albicans* в пересчете на один БЭ у пациентов группы сравнения: 2 пациента (5,3%) – 0,0-2,0; 5 пациентов (13,2%) – 2,0-4,0; 6 пациентов (15,8%) – 4,0-6,0; 14 пациентов (36,8%) – 6,0-8,0; 7 пациентов (18,4%) – 8,0-10,0; 4 пациента (10,5%) – более 10,0; усредненная величина – $7,6 \pm 0,6$ (рис. 5а). Структура показателей адгезии дрожжевых клеток *S. albicans* в пересчете на один БЭ у детей с СД I типа в фазе компенсации: 1 пациент (2,4%) – 0,0-2,0; 2 пациента (4,8%) – 2,0-4,0; 4 пациента (9,7%) – 4,0-6,0; 11 пациентов (26,8%) – 6,0-8,0; 13 пациентов (31,9%) – 8,0-10,0; 10 пациентов (24,4%) – более 10,0; усредненная величина – $8,9 \pm 1,3$ (рис. 5б). Структура показателей адгезии дрожжевых клеток *S. albicans* в пересчете на один БЭ у детей с СД I типа в фазе декомпенсации: 2 пациента (3,8%) – 0,0-2,0; 1 пациент (1,9%) – 2,0-4,0; 2 пациента (3,8%) – 4,0-6,0; 9 пациентов (17,3%) – 6,0-8,0; 14 пациентов (27,0%) – 8,0-10,0; 24 пациента

(46,2%) – более 10,0; усредненная величина – $9,8 \pm 1,6$ (рис. 5в).

Результаты оценки антиадгезивной активности слюны указывают, что у здоровых детей (группа сравнения) усредненная величина составила $0,71 \pm 0,07$ усл. ед. при вариабельности параметров от 0,53 до 0,89 усл. ед. Условной нижней границей нормы ААС нами принят показатель 0,64 усл. ед., так как у 31 пациента группы сравнения (81,6%) данная расчетная величина была минимальной. У детей с СД I типа в фазе компенсации колебания индивидуальных величин ААС составляют 0,23-0,67 усл. ед. при усредненном показателе $0,45 \pm 0,04$ усл. ед., причем только у 4 пациентов (9,8%) параметры отвечали нормативным. Данные, полученные у детей с аутоиммунным СД в декомпенсаторной фазе заболевания, свидетельствуют, что вариабельность индивидуальных показателей ААС находится в пределах 0,07-0,49 усл. ед., а

среднее значение – $0,28 \pm 0,03$ усл. ед. Важно отметить, что среди пациентов основной группы 2-й подгруппы нормальных ($\geq 0,64$) значений ААС ни у одного ребенка отмечено не было.

Системный анализ ААС, являющийся одним из основных компонентов колонизационной резистентности ротовой полости, позволяет утверждать о наличии обратной корреляционной связи между степенью тяжести эндокринопатии и антиадгезивной слюварной активностью. Важно отметить, что дети с СД I типа, особенно в стадии декомпенсации заболевания, имеют сбой (расстройство) в мукозальной системе защиты, который проявляется, в том числе и в ослаблении (истощении) антиадгезивных слюварных факторов. Наличие дефектов в противомикробных барьерах ротовой полости делает детей с аутоиммунным СД чрезвычайно незащищенными в отношении бактериальной (вирус-

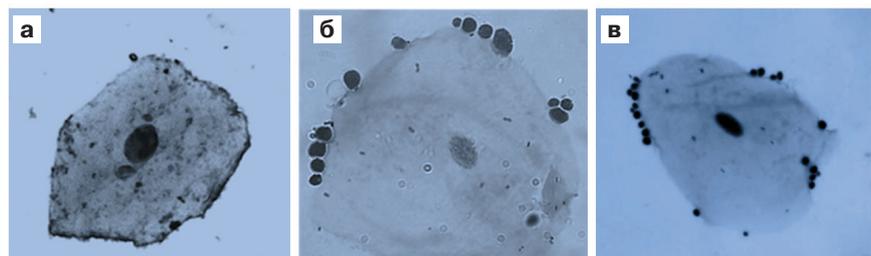


Рис. 4. Искусственная колонизация буккальных эпителиоцитов с использованием штамма *Candida albicans* «601» у здоровых детей (а), детей с СД I типа в фазе компенсации (б) и детей с СД I типа в фазе декомпенсации (в). Окраска азуром А. (x1500)

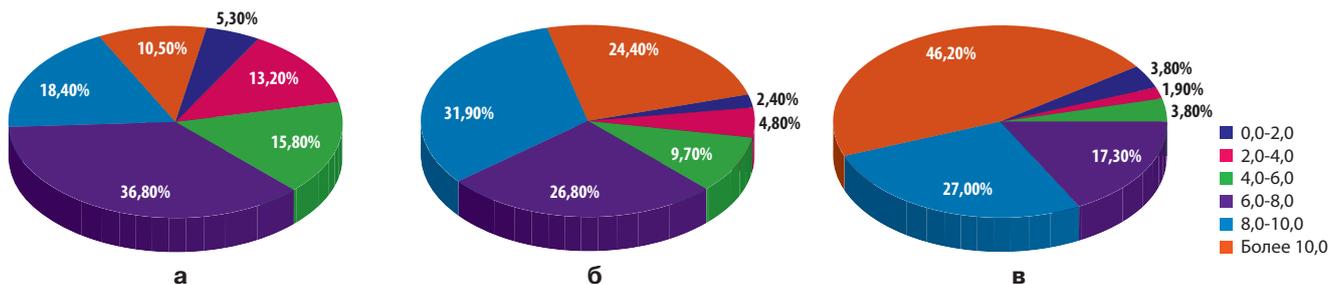


Рис. 5. Структура показателей адгезии дрожжевых клеток *S. albicans* в пересчете на один БЭ у здоровых детей (а), детей с СД I типа в фазе компенсации (б) и детей с СД I типа в фазе декомпенсации (в)

ной) инвазии, повышая вероятность возникновения хронических воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта.

Биолюминесценция – ультра-слабое по своей интенсивности свечение биологических объектов (субстратов, жидкостей, внутриклеточных структур, клеток, тканей, органов и т.д.) в видимой области спектра (360-800 нм), регистрируемое при помощи фотоэлектронных умножителей (высокочувствительных детекторов). Данный эффект получил название спонтанного метаболического свечения, которое, в отличие от митогенетического свечения, не оказывает воздействие на процессы клеточного деления. Уровень спонтанного метаболического свечения увеличивается прямо пропорционально подъему температуры, парциального давления кислорода, а также интенсивности обменных процессов. Согласно современным представлениям, свечение биологических структур сверхслабой интенсивности возникает в результате окислительных неферментативных и ферментативных реакций, которые протекают с формированием и рекомбинацией свободных радикалов различного генеза и сопровождаются хемилюминесценцией. Изучение интенсивности спонтанного излучения, пропорционального скорости рекомбинации свободных радикалов, не дает объективной оценки о причинах изменения скорости свободнорадикального окисления. С этой позиции заслуживает внимания метод искусственного инициирования свободнорадикальных реакций с использованием люминола при последующем анализе индуцированной хемилюминесценции. В присутствии активных форм кислорода происходит окисление люминола с образованием электронвозбужденных карбонильных хромофоров. Установленные функциональные группы, имеющие высокий квантовый выход, существенно повышают интенсив-

ность свечения за счет образования активных форм кислорода. Данное явление успешно применяется с целью исследования функционального уровня фагоцитарного звена иммунитета. Механизм процесса: антиген, контактирующий с мембраной фагоцитирующей клеткой, инициирует запуск каскада метаболических и физиологических реакций. В течение 20-30 минут (пик активности 5-6 минут) образуются активные формы кислорода, что сопровождается свечением, которое в присутствии люминола увеличивает свою интенсивность. Недостаточная генерация активных форм кислорода, направленная на инактивацию антигенов, характеризует сниженную скорость активации кислородозависимого метаболизма фагоцитов, а также незавершенность фагоцитоза.

Научно аргументировано, что механизмы «неспецифического иммунитета» являются начальными этапами при контакте антигенов (чужеродных агентов) с организмом. Так называемый «дыхательный взрыв», обусловленный резким подъемом использования кислорода за счет его преобразования фагоцитами в активные формы, потенцирует запуск защитных систем организма. Способность оральных нейтрофилов (нейтрофильных гранулоцитов) образовывать достаточное количество активных форм кислорода является прогностическим признаком характера (типа) протекания воспалительных процессов, а ответная реакция на раздражение позволяет объективно оценить активность защитных сил организма. Исследование механизмов окислительного стресса на модели оральных нейтрофилов, обладающих высокой диагностической значимостью, позволили существенно расширить информативность оценки состояния орального гомеостаза у детей с аутоиммунным СД в различные фазы заболевания. Показатели люминол-зависимой хемилюминесценции

(ЛЗХЛ) у пациентов исследуемых групп представлены в таблице 3.

Результаты изучения параметров хемилюминесценции у пациентов основной группы свидетельствуют, что у детей с СД I типа в стадии компенсации отмечается существенное (в 13,1 раза) увеличение параметров спонтанной ЛЗХЛ в сравнении с аналогичными показателями здоровых детей. Данный прирост указывает на адекватную генерацию активных форм кислорода и процессов кислородозависимого метаболизма клеток крови в ответ на ранние фазы селективного органоспецифического разрушения инсулинпродуцирующих β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Уменьшение величины индуцированной ЛЗХЛ в 1,2 раза у детей данной подгруппы, в сравнении с показателями пациентов группы сравнения, подтверждает, что развитие начальной стадии деструкции в островковых клетках коррелирует со снижением резервных сил противомикробной защиты оральных нейтрофилов.

При увеличении степени тяжести эндокринопатии у детей с аутоиммунным СД в декомпенсаторной фазе заболевания фиксируется понижение в 1,5 раза величин спонтанной ЛЗХЛ и в 1,6 раза – индуцированной ЛЗХЛ в сравнении с показателями детей 1-й подгруппы основной группы. Значимое снижение бактерицидной активности оральных нейтрофилов у детей с декомпенсированной формой СД I типа, протекающее на фоне увеличения площади поражения (деструкции инсулинпродуцирующих β -клеток) поджелудочной железы, указывает на сокращение продукции активных форм кислорода, уменьшение скорости активации процессов кислородозависимого метаболизма фагоцитов при незавершенности механизмов фагоцитоза. С нашей точки зрения, данное состояние свидетельствует не только о наличии выраженных дефектов в системе мукозальной защиты, но и истощении защитно-компенсаторных механизмов, направленных на нормализацию гомеостаза ротовой полости.

Выводы

1. Результаты исследования цитоморфологического состояния (степень деструкции, индекс созревания, индекс кератинизации, индекс колонизации), а также колонизационной резистентности буккальных эпителиоцитов у детей с диагнозом «сахарный диабет I типа» свидетель-

Таблица 3. Показатели люминол-зависимой хемилюминесценции у пациентов исследуемых групп ($M \pm m$), (имп./мин), ($p \leq 0,05$)

Параметры	Группа сравнения (здоровые дети)	Дети с СД I типа	
		Стадия компенсации	Стадия декомпенсации
Хемилюминесценция спонтанная	11,3 \pm 1,4	147,6 \pm 5,2	96,1 \pm 2,9
Хемилюминесценция индуцированная	163,7 \pm 4,8	136,4 \pm 3,4	84,2 \pm 2,1

ствуют о выраженном нарушении физиологического течения процессов созревания и дифференцировки эпителия слизистой оболочки ротовой полости.

2. Параметры дифференцировки и цитодиагностические индексы, рассчитанные по цитограммам буккального эпителия у детей с СД I типа, являются объективными, высокоинформативными источниками цитогенетических изменений, происходящих на различных стадиях развития эндокринопатологии.

3. Продолжительное действие повреждающих факторов, происходящее у детей с аутоиммунным СД на фоне деструкции инсулинпродуцирующих β -клеток поджелудочной железы, приводит к следующим морфофункциональным изменениям слизистой оболочки ротовой полости: нарушение стадий (фаз) клеточного обновления (цикла); замещение здоровых буккальных эпителиоцитов функционально неполноценными; аккумуляция аутохтонной (облигатной, транзиторной) микрофлоры за счёт снижения способности мукозального эпителия к адгезивным взаимодействиям. Результатом усиления деструктивных механизмов при подавлении регенеративных процессов является нарушение барьерных и защитных функций эпителия слизистой оболочки полости рта.

4. Буккальный эпителий, являющийся составной частью мукозальной системы и обладающий чувствительностью к различным экзогенным и эндогенным раздражающим факторам, поддерживает активный функциональный статус. Это позволяет использовать его для расширения фундаментальных научных знаний о физиологии и реактивности слизистых оболочек в общей системе гуморально-клеточной кооперации, а также в качестве индикатора местных и общих гомеостатических нарушений.

5. Существенная вариабельность адгезивной способности буккальных клеток по отношению к бактериям и кандидам при аутоиммунном СД у детей в стадии компенсации свидетельствуют о гибкости (податливости, пластичности) буккальных эпителиоцитов, адекватно отражая их включение в сферу гомеостатических сдвигов на уровне местной и общей реактивности организма.

6. Функциональный статус буккальных эпителиоцитов у здоровых детей, а также у детей с СД I типа, определяется степенью морфофункциональной дифференцировки (зре-

лости): в базальном слое располагаются малодифференцированные предшественники, обеспечивающие регенерацию эпителия; в поверхностных слоях – высокоспециализированные клетки с признаками кератинизации, подвергающиеся десквамации.

7. Степень снижения колонизационной резистентности мукозального эпителия слизистой оболочки полости рта, а также цитологический и функциональный статус буккального эпителия у детей с аутоиммунным сахарным диабетом на различных фазах компенсации эндокринной патологии, является индикатором нарушений орального (саливарного) гомеостаза, а также объективно отражает выраженность дестабилизационных процессов на системном и локальном (местном) уровне.

8. Индекс естественной колонизации буккального эпителия, обладающий высокой информативностью, клинико-диагностической и прогностической значимостью в оценке состояния орального гомеостаза, является универсальным неспецифическим индикатором здоровья в педиатрии и может быть использован в качестве скринингового обследования на амбулаторно-поликлиническом этапе. Достоверное изменение индексных показателей позволяет применять эти данные в качестве дополнительных неинвазивных критериев интенсивности воспалительно-деструктивных процессов при СД I типа у детей, а также для эффективности проводимых лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий.

9. Метод спонтанной и индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции при исследовании показателей окислительного стресса на модели оральных нейтрофилов у детей с аутоиммунным сахарным диабетом является объективным, экономически целесообразным, высокочувствительным экспресс способом оценки функционального состояния фагоцитарного звена иммунитета, позволяющим, при этом регистрировать и кинетическую составляющую процесса фагоцитоза.

10. У детей с СД I типа изменения колонизационной резистентности полости рта, антиадгезивной активности слюны и процессов окислительного стресса соответствуют синдрому системного воспалительного ответа. Снижение компенсации заболевания со стороны цитологических параметров буккального эпителия отмечается увеличением ин-

дексов созревания, кератинизации, уровня эпителиоцитов с максимальной степенью деструкции («3 класс», «4 класс») при снижении индекса колонизационной резистентности и содержания эпителиоцитов с малой степенью деструкции («0 класс», «1 класс», «2 класс»).

11. Согласованная генерация активных форм кислорода и процессов кислородозависимого метаболизма клеток крови, сочетающаяся с незначительным уменьшением бактерицидной активности оральных нейтрофилов у детей с аутоиммунным сахарным диабетом в фазе компенсации, указывает на развитие второй стадии (резистентности) окислительного стресса. Сокращение продукции активных форм кислорода, снижение скорости активации кислородозависимого метаболизма фагоцитов, незавершённость механизмов фагоцитоза, коррелирующее с выраженным снижением резервов антимикробной защиты оральных нейтрофилов при увеличении площади поражения (деструкции инсулинпродуцирующих β -клеток) поджелудочной железы у детей в декомпенсаторной фазе эндокринопатии, свидетельствует о наступлении третьей стадии (истощения) окислительного стресса.

12. Дети с СД I типа, особенно в стадии декомпенсации заболевания, имеют выраженные расстройства в мукозальной системе защиты, которые проявляются, в том числе и в ослаблении (истощении) антиадгезивных саливарных факторов. Наличие дефектов в противоинфекционных барьерах ротовой полости делает детей с аутоиммунным СД чрезвычайно незащищенными в отношении бактериальной (вирусной) инвазии. Это повышает вероятность возникновения, развития и прогрессирования хронических воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта, которые, в большинстве случаев, протекают тяжело и приводят к образованию рецидивов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: руководство. – М.: Медицина, 2002. – 752 с.
2. Balabolkin M. I., Klebanova E. M., Kreminskaya V. M. *Differentsialnaya diagnostika i lecheniye endokrinnykh zabolovany: rukovodstvo.* – М.: Meditsina, 2002. – 752 s.
3. Буккальные эпителиоциты как инструмент клинико-лабораторных исследований /

М.А. Абаджиди и др. // Нижегородский медицинский журнал. 2003. №3-4. С. 105-110.

Bukkalnye epitelotsity kak instrument kliniko-laboratornykh issledovaniy / M.A. Abadzidi i dr. // Nizhegorodsky meditsinsky zhurnal. 2003. №3-4. С. 105-110.

3. Быков В. Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // Стоматология. 1997. Т. 76. №3. С. 12-17.

Bykov V. L. Funktsionalnaya morfologiya epitelialnogo baryera slizistoy obolochki polosti rta // Stomatologiya. 1997. Т. 76. №3. С. 12-17.

4. Быкова И. А., Агаджанян А. А., Банченко Г. В. Цитологическая характеристика отпечатков слизистой оболочки полости рта с применением индекса дифференцировки клеток // Лабораторное дело. 1987. №1. С. 33-35.

Bykova I. A., Agadzhanyan A. A., Banchenko G. V. Tsitologicheskaya kharakteristika otpechatkov slizistoy obolochki polosti rta s primeneniym indeksa differentsirovki kletok // Laboratornoye delo. 1987. №1. С. 33-35.

5. Григорьян А. С., Грудянов А. И. Ключевые звенья патогенеза заболеваний пародонта в свете данных цитоморфометрического метода исследований // Стоматология. 2001. №1. С. 5-8.

Grigoryan A. S., Grudyanov A. I. Klyuchevye zvenya patogeneza zabolevaniy parodonta v svete dannykh tsitomorfometricheskogo metoda issledovaniy // Stomatologiya. 2001. №1. С. 5-8.

6. Дедов И. И., Кураев Т. К., Петеркова В. А. Сахарный диабет у детей и подростков: руководство. 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 272 с.

Dedov I. I., Kurayev T. K., Peterkova V. A. Sakharnyy diabet u detey i podrostkov: rukovodstvo. 2-e izd. – M.: GEOTAR-Media, 2013. – 272 s.

7. Доменюк Д. А., Ведешина Э. Г., Дмитриенко С. В. и др. Влияние зубочелюстных аномалий на элементный состав и уровень резистентности смешанной слюны у детей и подростков // Стоматология детского возраста и профилактика. 2015. Т. XIV. №2 (53). С. 19-25.

Domenyuk D. A., Vedeshina E. G., Dmitriyenko S. V. i dr. Vliyaniye zubochelyustnykh anomaly na elementny sostav i uroven rezistentnosti smeshannoy slyuny u detey i podrostkov // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2015. Т. XIV. №2 (53). С. 19-25.

8. Доменюк Д. А., Карслиева А. Г., Зеленский В. А. и др. Использование метода полимеразно-цепной реакции для идентификации маркерных пародонтопатогенов при оценке выраженности зубочелюстных аномалий у детского населения // Стоматология детского возраста и профилактика. 2014. Т. XIII. №3 (50). С. 26-33.

Domenyuk D. A., Karsliyeva A. G., Zelensky V. A. i dr. Ispolzovaniye metoda polimerazno-tsepnoy reaktzii dlya identifikatsii markernykh parodontopatogenov pri otsenke vyrazhennosti zubochelyustnykh anomaly u detskogo naseleeniya // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2014. Т. XIII. №3 (50). С. 26-33.

9. Доменюк Д. А., Гильмиярова Ф. Н., Ведешина Э. Г. и др. Использование низкоинтенсивной лазерной терапии в комплексном лечении генерализованного катарального гингивита у женщин // Пародонтология. 2017. Т. XXII. №1 (82). С. 45-51.

Domenyuk D. A., Gilmiyarova F. N., Vedeshina E. G. i dr. Ispolzovaniye nizkointensivnoy laz-

ernoy terapii v kompleksnom lechenii generalizovannogo kataralnogo gingivita u zhenshchin // Parodontologiya. 2017. Т. XXII. №1 (82). С. 45-51.

10. Доменюк Д. А., Давыдов Б. Н., Ведешина Э. Г. и др. Корреляционный анализ микроэлементного состава и уровня иммуноглобулина Е в смешанной слюне у детей при использовании съемной ортодонтической аппаратуры // Стоматология детского возраста и профилактика. 2016. Т. XV. №2 (57). С. 45-53.

Domenyuk D. A., Davydov B. N., Vedeshina E. G. i dr. Korrelyatsionnyy analiz mikroelementnogo sostava i urovnya immunoglobulina E v smeshannoy slyune u detey pri ispolzovanii syemnoy ortodonticheskoy apparatury // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2016. Т. XV. №2 (57). С. 45-53.

11. Доменюк Д. А., Давыдов Б. Н., Гильмиярова Ф. Н. и др. Особенности цитокинового профиля ротовой жидкости у детей с сахарным диабетом I типа на различных стадиях компенсации заболевания // Стоматология детского возраста и профилактика. 2017. Т. XVI. №1 (60). С. 68-76.

Domenyuk D. A., Davydov B. N., Gilmiyarova F. N. i dr. Osobennosti tsitokinovogo profilya rotovoy zhidkosti u detey s sakharnym diabetom I tipa na razlichnykh stadiyakh kompensatsii zabolevaniya // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2017. Т. XVI. №1 (60). С. 68-76.

12. Доменюк Д. А., Зеленский В. А., Ташуева Л. В. и др. Оценка адаптационных механизмов при использовании съемной ортодонтической аппаратуры у детей // Стоматология детского возраста и профилактика. 2013. Т. XII. №1 (44). С. 50-57.

Domenyuk D. A., Zelensky V. A., Tashuyeva L. V. i dr. Otsenka adaptatsionnykh mekhanizmov pri ispolzovanii syemnoy ortodonticheskoy apparatury u detey // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2013. Т. XII. №1 (44). С. 50-57.

13. Доменюк Д. А., Зеленский В. А., Ташуева Л. В. и др. Оценка адаптационных механизмов при использовании съемной ортодонтической аппаратуры у детей (антиоксидантные аспекты) // Стоматология детского возраста и профилактика. 2013. Т. XII. №4 (47). С. 10-14.

Domenyuk D. A., Zelensky V. A., Tashuyeva L. V. i dr. Otsenka adaptatsionnykh mekhanizmov pri ispolzovanii syemnoy ortodonticheskoy apparatury u detey (antioksidantnye aspekty) // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2013. Т. XII. №4 (47). С. 10-14.

14. Доменюк Д. А., Карслиева А. Г., Зеленский В. А. и др. Системный анализ факторов риска возникновения и развития кариеса у детей с аномалиями зубочелюстной системы (часть I) // Стоматология детского возраста и профилактика. 2014. Т. XIII. №3 (50). С. 40-47.

Domenyuk D. A. Sistemnyy analiz faktorov riska vozniknoveniya i razvitiya kariyesa u detey s anomalyami zubochelyustnoy sistemy (chast I) / D.A. Domenyuk, A.G. Karsliyeva, V.A. Zelensky [i dr.] // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. – 2014. – Том XIII. – № 3 (50). – С. 40-47.

15. Доменюк Д. А., Давыдов Б. Н., Гильмиярова Ф. Н. и др. Системный анализ факторов риска возникновения и развития кариеса у детей с аномалиями зубочелюстной системы (часть II) // Стоматология детского возраста и профилактика. 2014. Т. XIII. №4 (51). С. 51-60.

Domenyuk D. A., Davydov B. N., Gilmiyarova F. N. i dr. Sistemnyy analiz faktorov riska vozniknoveniya i razvitiya kariyesa u detey s anomalyami zubochelyustnoy sistemy (chast II) // Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2014. Т. XIII. №4 (51). С. 51-60.

16. Ильин Д. А. Многоядерные макрофаги. – Новосибирск: Наука, 2011. – 56 с.

Ilyin D. A. Mnogoyadernye makrofagi. – Novosibirsk: Nauka, 2011. – 56 s.

17. Метаболические и микробиологические особенности биотопов полости рта у детей с зубочелюстной патологией: монография / Д.А. Доменюк, Ф.Н. Гильмиярова, Н.И. Быкова и др. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2017. – 312 с.

Metabolicheskiye i mikrobiologicheskiye osobennosti biotopov polosti rta u detey s zubochelyustnoy patologiyey: monografiya / D.A. Domenyuk, F.N. Gilmiyarova, N.I. Bykova i dr. – Stavropol: Izd-vo StGMU, 2017. – 312 s.

18. Микробиология полости рта детей с врожденным несращением нёба: монография / Д.А. Доменюк, И.А. Базиков, М.Г. Гевандова и др. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2016. – 160 с.

Mikroekologiya polosti rta detey s vrozhdennym nesrashcheniyem nyoba: monografiya / D.A. Domenyuk, I.A. Bazikov, M.G. Gevandova i dr. – Stavropol: Izd-vo StGMU, 2016. – 160 s.

19. Морфофункциональное состояние буккальных эпителиоцитов у больных раком легкого / О.П. Бочкарева и др. // Сибирский онкологический журнал. 2013. №3. С. 57-60.

Morfofunktsionalnoye sostoyaniye bukkalnykh epitelotsitov u bolnykh rakom legkogo / O.P. Bochkareva i dr. // Sibirsky onkologicheskyy zhurnal. 2013. №3. С. 57-60.

20. Особенности морфогенеза челюстно-лицевой области в сменном прикусе: монография / Д.А. Доменюк, А.А. Коробкеев, Э.Г. Ведешина и др. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2016. – 124 с.

Osobennosti morfogeneza chelyustno-litsevoy oblasti v smennom prikuse: monografiya / D.A. Domenyuk, A.A. Korobkeyev, E.G. Vedeshina i dr. – Stavropol: Izd-vo StGMU, 2016. – 124 s.

21. Оценка генотоксичности окружающей среды в городах республики Молдова по результатам микроядерного теста в буккальном эпителии детей / В.Н. Калаев, А.К. Буторина, М.В. Левински и др. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2008. Т. 7. №1. С. 196-200.

Otsenka genotoksichnosti okruzhayushchey sredy v gorodakh respubliky Moldova po rezul'tatam mikroyadernogo testa v bukkalnom epiteliy detey / V.N. Kalayev, A.K. Butorina, M.V. Levinski i dr. // Sistemnyy analiz i upravleniye v biomeditsinskikh sistemakh. 2008. Т. 7. №1. С. 196-200.

Полный список литературы находится в редакции

Поступила 06.06.2017

**Координаты для связи с авторами:
355017, г. Ставрополь, ул. Мира,
д. 310**