



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ВАРНА,  
ФАКУЛТЕТ ПО ДЕНТАЛНА МЕДИЦИНА,  
Катедра „Пародонтология и дентална  
имплантология“**

**Ръководител: доц. д-р Борислав Чаушев, дм**

---

Доц. д-р Ася Захаријева Кръстева-Панова, дм

**ОРАЛНАТА МЕДИЦИНА  
И ДИАГНОСТИЧНИ ПАНЕЛИ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд за присъждане  
на научна степен  
„Доктор на медицинските науки“

Научна специалност

Терапевтична стоматология

Варна, 2018 г.

Дисертационният труд е написан на 337 страници, онагледен е с 79 таблици и 190 фигури. Литературната справка включва 367 заглавия.

## **ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ**

**ANTI-EBNA IgG** – Epstein Barr антитяло към ядрен антиген IgG

**ANTI-VCA IgM** – Epstein-Barr вирус антитяло към вирусна капсид антиген IgM

**ANTI-VCA IgG** – Epstein-Barr вирус антитяло към вирусна капсид антиген IgG

**CMV** – цитомегаловирус

**CRP** – С-реактивен протеин

**EBV** – Епщайн–Бар вирус

**ELFA** – ензим свързана имунофлуоресценция

**ELISA** – имуноензимен метод

**HIV** – човешки имунодефицитен вирус

**HbsAg** – повърхностен антиген за хепатит В

**HPV** – човешки папилома вирус

**HSV** – херпес симплекс вирус

**IBD** – болни с възпалителни заболявания на червата

**IgA** – имуноглобулин А

**PCR** – полимеразна верижна реакция

**sIgA** – секреторен имуноглобулин А



## СЪДЪРЖАНИЕ

|  |     |
|--|-----|
| <b>Въведение</b>   | 6   |
| <b>Цел и задачи на изследването</b>                                    | 11  |
| <b>Материал</b>  | 12  |
| <b>Методи</b>  | 13  |
| <b>Резултати</b>   | 17  |
| Дентални пациенти с орална патология                                   | 17  |
| Еритропоетичен панел   | 19  |
| Орален херпесен панел  | 46  |
| Инфекция с <i>Helicobacter pylori</i>                                  | 72  |
| Вируси в устната кухина  | 80  |
| Човешки папилома вирус   | 80  |
| Хепатит В и С инфекции в<br>денталната практика                        | 92  |
| Слюнчен белтъчен панел   | 95  |
| <b>Обобщение</b>   | 111 |
| <b>Изводи</b>  | 127 |
| <b>Приноси</b>   | 129 |
| <b>Публикации, свързани с темата на дисертационния<br/>труд</b>        | 130 |
| <b>Участия в научни проекти, свързани с темата на<br/>изследването</b> | 133 |

## ВЪВЕДЕНИЕ

Патологията в устната кухина е изключително широко разпространена и по литературни данни е възможно да засегне до  $\frac{1}{2}$  от изследвания контингент лица. Множество етиологични фактори могат да бъдат причина за разнообразни орални лезии. Възможно е да са налице едновременно няколко причини за конкретно болестно състояние.

Пациентите сами се обръщат към денталните лекари, тъй като уврежданията в устната кухина нарушават и затрудняват тяхното ежедневие – от храненето до социалната дейност. В други случаи практикуващи лекари търсят съдействието на денталния специалист за разпознаване и лечение на промените по оралните лигавици.

Разпознаването и диагностицирането на оро-фациални признаци и симптоми изискват както подробна анамнеза, така и обстоен орален преглед, специфични познания за оралната патология, етиологията и клиничните разновидности на измененията. Често промените могат да бъдат първото клинично представяне на различни болести, което алармира денталните лекари или медиците за наличието на сериозно заболяване. От полза за диагностичния процес са познаването на клиничните характеристики като цвят, повърхностна морфология, местоположение и давност на лезията.

Денталните лекари трябва да бъдат в състояние да открият и да разпознаят причините за многобройните възможни увреждания. Изграждането на модели за диагностика улеснява диагностичния процес и е в основата за добрия план за лечение.

### **Недоимъчни състояния и анемии**

Промените в устната кухина при трите дефицита – желязен, на витамин В12 и на фолиева киселина са сходни и се припокриват в значителна част от случаите. Причините за дефицитите обичайно са резултат на нарушен метаболизъм.

Желязо-дефицитната анемия е най-честото хематологично заболяване, което засяга около 30% от населението на света и по оралната мукоза са налични много признаци и симптоми за съществуването му.

3,2 % от американските възрастни над 50 години имат ниски серумни нива на витамин В12; в напреднала възраст процентът достига 12.

Изседването на основните причини за анемичните състояния, при наличие на орални изменения, съответни на дефицити на желязо, В12 и В9, е необходимост за охарактеризиране общото здравословно състояние на пациентите и е в основата на избор на коректна терапия.

### **Цитомегаловирус, Епщайн–Бар и херпес вируси**

Вирусните инфекции (цитомегаловирус, Епщайн–Бар и херпесните вируси 1 и 2) причиняват множество промени в устната кухина и лигавиците като: болезнени афтозо-подобни лезии и улцери; лимфаденопатия; лимфоидни инфилтрати в устната кухина; тонзилити, в някои случаи – и неоплазми като космата левкоплакия.

Херпес симплекс вирус тип 1 - причинява първичен херпесен гингивостоматит, рецидивиращ лабиален и/или интраорален херпес. Особено тежки са

клиничните манифестации при налични коинфекции между различни вируси.

Подборът на вирусологичен панел при подозрителни неспецифични афтозо-подобни лезии улеснява диагностичния процес и етиологично лечение на измененията.

### **Инфекция с *Helicobacter pylori***

Инфекцията с *Helicobacter pylori* е пандемия, като основната част от болестите на стомаха и дванадесетопръстника са свързани с тази бактерия. Описаните изменения, свързани с тази инфекция в устната кухина са разнообразни и нехарактерни: афтозени лезии, орален лихен планус, левкоплакия, дари и периимплантит. Счита се и за етиологичен фактор за халитоза.

Установяването на *H. pylori* в зъбната плака или в слюнката има значение за доказване на ролята, която има устната кухина в трансмисията на микроорганизма, както и за случаите на реинфекция. Изясняването на носителството на *H. pylori* приобщава денталния лекар към общото лечение на болните.

Интересът ни към *H. pylori* инфекция не стихва поради предшестващите наши наблюдения, за висока честота при халитоза и неспецифични афтозни лезии.

### **Човешки папилома вирус**

Днес са идентифицирани повече от 150 различни подтипа HPV, като повече от 40 се предават при сексуален контакт. HPV са с доказан онкогенен потенциал.

В устната кухина HPV може да има различни прояви, включително неопластични. Някои проучвания



посочват до 72% наличие на HPV при орални неоплазми.

Определянето на статуса на HPV със сигурност ще се превърне в стандартна практика за по-пълна диагностика, адекватно лечение и по-добра прогноза на орални и оро-фарингеални карциноми.

### **Хепатитни вируси**

Въз основа на литературните данни може да се твърди, че рискът за инфектиране с хепатит С и наличието на вирусни маркери в слюнката са свързани основно със степента на спонтанно и провокирано кървене, със заболяванията на гингивата и пародонта.

Инфекцията с хепатит В и С е най-значимият професионален риск за денталната практика. Тя може да бъде пренесена освен с кръв и слюнка, и от назофарингеални секрети, и от епителни клетки от оралната лигавица по-често при рисковите дентални специалисти – хирурзи, пародонтолози и ендодонтисти. Денталният лекар трябва активно да търси информация за наскоро преболедуван хепатит, тъй като 90% от болните носят вирус В от 1 до 4 месеца след началото на инфекцията, а 10% – доживотно, като в кръвта се доказва HbsAg.

Изследването за наличие на хепатитните вируси В и С е от значение за здравето не само на пациента, но и на денталния лекар и медицинския персонал. Наличието им налага адаптиране на стоматологичното лечение към основната болест.

## **Маркери на възпалението и локалния имунитет**

Биологичното съдържимо на устната кухина – слюнката – се използва за клинична оценка на хормонални смущения, за детекция на антитела срещу HIV, хепатит С, за ДНК анализ, за скрининг за алкохолен прием, за тестване за наркотици. В съвременната литература има данни, че в слюнката при системни, общи и орални заболявания се откриват повишени нива на възпалителни биомаркери, включително С-реактивен протеин, тумор некротизиращ фактор- $\alpha$ , интерлевкин-6 и интерферон- $\gamma$ .

Биологичното съдържимо на устната кухина се използва и за оценка на имунния статус на оралната лигавица, като се измерват нивата на секреторни IgA антитела.

Изследването в слюнката на имуноглобулин А и възпалителните маркери като С-реактивен протеин и калпротектин може да илюстрира промените в устната кухина при орални и общи заболявания.

### **Нерешени проблеми**

Предложихме на пациенти, посетили диагностичния кабинет към Катедра „Образна и орална диагностика“, Факултет по Дентална медицина, Медицински Университет – София, лабораторни панели за изясняване причините за измененията в устната кухина като част от съвременната орална медицина.

## **ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

### **ЦЕЛ**

Да се анализират диагностичните възможности на някои клиничко-лабораторни показатели и да бъдат изградени оптимални панели, създаващи диагностични улеснения при различни орални заболявания и при системни заболявания с прояви в устната кухина.

### **ЗАДАЧИ**

1. Да се оцени честотата на недоимъка на еритропоетични дефицити (желязо, фолиева киселина, витамин В12, витамин D) при пациенти с изменения в устната кухина.
2. Да се оценени честотата и значението на херпес вирусни инфекции (EBV, CMV, HSV1и HSV2) при пациенти с характерни прояви в устната кухина.
3. Да се установи наличието на нискорискови и високорискови HPV-типовете в слюнка у здрави лица и в биопсична тъкан на пациенти с орални и оро-фарингеални неоплазми.
4. Да се определи честотата на хепатитните вируси В и С сред дентални пациенти.
5. Да се определи носителството на *H. pylori* у дентални пациенти с оплаквания, вероятно свързани с инфекцията.
6. Да се оценят маркерите на възпалението и на оралния лигавичен имунитет в слюнката за охарактеризиране на локални и общи заболявания..

## МАТЕРИАЛ

Материалът включва 791 пациенти, анализирани са 2831 изследвания.

### ИЗСЛЕДВАНИ ПАЦИЕНТИ

Таблица 1. Изследвани пациенти

| Групи изследвани лица                    | Пациенти   | Брой проби  | Диагностична среда |
|--|------------|-------------|--------------------|
| Пациенти със специфична орална патология | 160        | 259         | серум и слюнка     |
| Вирусни инфекции и витаминни дефицити    | 208        | 1575        | серум              |
| HPV при здрави дентални пациенти         | 196 *      | 196         | слюнка             |
| HPV при неоплазми                        | 48         | 48          | биопсичен материал |
| Хроничен хепатит                         | 21         | 96          | серум и слюнка     |
| H. pylori                                | 82         | 82          | серум              |
| sIgA и CRP при орални и общи заболявания | 270        | 657         | слюнка             |
| <b>Общо</b>                              | <b>791</b> | <b>2831</b> |                    |

\* 112 болни се припокриват с други изследвания

## МЕТОДИ

Таблица 2. Използвани лабораторни методи за диагностика при орална патология

| Параметър           | Среда         | Метод  |
|---------------------|---------------|--|
| Fe umol/L           | серум         | Colorimetric with ferrozine Roche Cobas 600                              |
| Vitamin B 12 pmol/L | серум         | ECLIA *  |
| Folic acid nmol/L   | серум         | ECLIA  |
| Vitamin D ng/ml     | серум         | ECLIA  |
| CRP                 | слюнка        | Имунотурбидиметричен метод с апарат Cobas Integra-400 (Roche Diagn.      |
| Calprotectin        | слюнка        | ELISA Hycult Biotech, с ранг 1.6 - 100 ng/ml                             |
| IgA                 | слюнка        | Радиална имунодифузия, имунотест, София                                  |
| sIgA                | слюнка        | Salivary Secretory IgA Indirect Enzyme Immunoassay Kit, Salimerics, USA) |
| CMV-IgM             | серум         | ELFA **  |
| CMV-IgG             | серум         | ELFA **  |
| anti-VCA IgM U/mL   | серум         | ELISA  |
| anti-VCA IgG U/mL   | серум         | ELISA  |
| anti-EBNA IgG U/mL  | серум         | ELISA  |
| HSV1-IgM U          | серум         | ELISA  |
| HSV2-IgM U          | серум         | ELISA  |
| HBV DNA             | слюнка, серум | Real time PCR Cobas Taqman   |
| HCV RNA             | тъкан         | Real time PCR Cobas Taqman   |
| HBsAg               | серум         | ECLIA+confirmatory test Roche Cobas 600                                  |
| anti HCV            | серум         | ECLIA+ELISA  |
| HPV                 | слюнка        |  |
| HPV                 | тъкан         | PCRwith colorotetric detection; генотипизиране                           |
| Hp IgG              | серум         | ELISA  |

\*ECLIA Roche Cobas 600 diagnostic

\*\*ELFA - Enzyme-linked Immunofluorescence assay

Приложихме социологични техники – интервю, анонимен анкетен метод. Изследвахме медицинска документация;

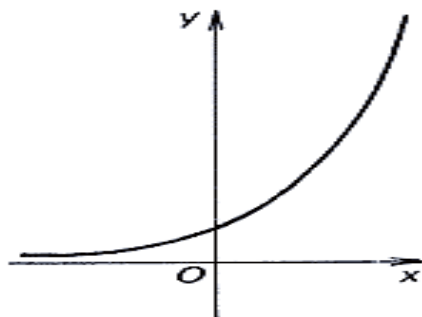
Извършено бе биопсично изследване на оралните преканцерози, плоскоклетъчни карциноми и орофарингеални карциноми;

## СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

- Вариационен анализ
- Параметрични методи: Т-тест на Student
- Непараметрични методи: Mann–Whitney и Kolmogorov–Smirnov
- Корелационен анализ
- Параметричен: коефициент на Pearson (Pearson correlation)
- Непараметричен: коефициент на Spearman's rho (spearman's rho)
- Клъстерен анализ
- Графичен анализ – графично изобразяване на статистическите данни за онагледяване и анализ

Линейната функция е математическа функция от вида ( $y = ax + b$ ), където  $a$  и  $b$  са константи. Графиката на такава функция представлява права линия. Линейна функция от вида  $y = ax$  се нарича права пропорционалност.

Показателна функция, експоненциална функция. Функция от вида  $y = ax$  при основа  $a > 0$ ,  $a \neq 1$ . Терминът "експоненциална функция" най-често се използва в математиката интуитивно



Експоненциален растеж - растеж, в която количество се увеличава със същия процент във всяка единица време

### **Графичен анализ**

**Клъстерен (класов) анализ.** Един от възможните подходи за откриване на зависимости е визуалният, при който данните се подлагат на обработка и се визуализират по някакъв обобщен начин

Задачата за клъстеризация (класификация) има за цел разбиването на данните на интересни и смислени подгрупи (клъстери или класове). Всички членове на една подгрупа поделят общи характеристики. Алгоритмите за клъстеризация събират обектите в подгрупи (клъстери), базирайки се на принципа за максимизиране на вътреклъстерното сходство и минимизиране на междуклъстерното сходство.

Статистическата обработка на данните беше извършена от нас със статистическия пакет SPSS 16 за Windows. За графичните изображения използвахме програмата Microsoft Excel.



## РЕЗУЛТАТИ

### ДЕНТАЛНИ ПАЦИЕНТИ С ОРАЛНА ПАТОЛОГИЯ

Таблица 3. Възрастова характеристика на дентални пациенти с орална патология

| Възраст (години) | Мъже (n=45) | Жени (n=115) | Общо (n=160) |
|------------------|-------------|--------------|--------------|
| x ± sd           | 49.6 ±15.9г | 51.2±16.7    | 51 ±16.5     |

Въз основа на подробна анамнеза и клиничен преглед бяха назначени различни изследвания с диагностична цел. Диагностичните проби и резултатите са представени на табл. 4

Таблица 4. Изследвания извършени при пациенти с орална патология

| Изследване                              | Брой болни (n=) | Дял от групата | Патологични резултати                        |
|---|-----------------|----------------|--|
| За микроорганизми в слюнката            | 55              | 34 %           | 32%  |
| За херпес вируси (HSV1, HSV2, EBV, CMV) | 28              | 17.5 %         | 66% хронична инфекция;<br>15% остра инфекция |
| За Н. pylori носителство                | 46              | 29 %           | 22%  |
| За анемични състояния                   | 76              | 47.5 %         | 8–47%  |
| За общо заболяване                      | 26              | 16 %           | 27%  |

Общият брой на изследваните лица е 231, тъй като при част от пациентите сме назначили повече от едно изследване – например за анемични състояния сме обследвали 76 болни, като сме извършили 75 определяния на фолиева киселина, 61 – на витамин B12, и 11 – на серумно желязо; за херпесни вируси са обследвани 18 пациенти за хронична инфекция с HSV1 и HSV2 или EBV или CMV и 13 – за остра вирусна инфекция – около **250** теста.

При 1/3 от тези подбрани лица са били налични клинични данни за локална инфекция в устната кухина и при 1/3 от тях микробиологичният резултат е бил положителен, и то най-често за различни видове *Candida*. При почти половината от болните е подозирана клинична картина на свързани с анемичен синдром дефицити, като откриваемостта на причината се движи от 8 до почти 50% и това са случаите с фолиев дефицит.

Тези епидемиологични данни ни помагат да характеризираме най-често срещаните заболявания на устната лигавица сред българските дентални пациенти, посетили диагностичния кабинет по орална патология.

Въз основа на този анализ предложихме приложението на различни лабораторни панели за диагностика, съобразно срещаните патологични изменения в устната кухина.

## ЕРИТРОПОЕТИЧЕН ПАНЕЛ

Този панел бе предложен на дентални пациенти с оплаквания от общ характер, както и с подозирани прояви на еритропоетични дефицити в устната кухина, с цел изясняване на диагнозата. Представява изселване в серум на

- **желязо**
- **витамин В12**
- **фолиева киселина (витамин В9)**

### СЕРУМНО ЖЕЛЯЗО ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОПЛАКВАНИЯ И С ПОДОЗИРАНИ ПРОЯВИ НА ЕРИТРОПОЕТИЧНИ ДЕФИЦИТИ В УСТНАТА КУХИНА

Резултатите от различните измервания на желязото в серума са представени на следващите фигури и в таблиците.



Фигура 1. Серумни нива на желязото при дентални пациенти (вляво мъже, вдясно – жени)

Определихме средна стойност на серумно желязо за цялата група  $17 \pm 7.08$   $\mu\text{mol/L}$ . Наблюдавахме очаквано по-високи серумни нива на желязото при мъжете в тази група – около 19% (табл.5).

Таблица 5. Ниво на серумно желязо ( $\mu\text{mol/L}$ ) според пола при дентални пациенти

| Стойности на серумно желязо ( $\mu\text{mol/l}$ ) | Мъже (n=34)     | Жени (n=91)     | Общо (n=125)  |
|---|-----------------|-----------------|---------------|
| $\bar{x} \pm Sd$                                  | $19.2 \pm 6.86$ | $16.6 \pm 7.09$ | $17 \pm 7.08$ |

Таблица 6. Възрастова характеристика на изследваните за желязо лица

| Възраст (години) | Мъже (n=34)      | Жени (n=91)    | Общо (n=125)   |
|------------------|------------------|----------------|----------------|
| $\bar{x} \pm Sd$ | $48.5 \pm 13.89$ | $52 \pm 14.06$ | $52 \pm 15.69$ |

### Графичен и клъстерен анализ на серумните нива на желязото

Когато разгледаме обявените референтни стойности на серумното желязо  $6.62$ — $25.95$   $\mu\text{mol/L}$  само в 5 случая, или у 3.97% от изследваните се установяват стойности под долната референтна граница. Леко повишавайки референтния праг на  $10$   $\mu\text{mol/L}$ , наблюдаваме по-ниски стойности при 17 пациенти, или у 13.5% от случаите – трикратно повече (фиг. 2).

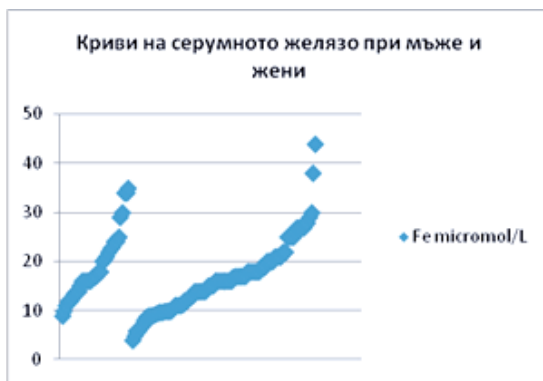


Фигура 2. Ниско серумно желязо според различни долни граници

Построихме крива от всички измерени стойности на серумното желязо (фиг. 3). Всяка следваща стойност е видимо по-голяма от предшестващата и посоката на графичната линия показва стръмна възходяща, а не плавно покачваща се тенденция. Оформи се експоненциална крива.



Фигура 3. Крива на нивата на серумното желязо при дентални пациенти



Фигура 5. Криви на нивата на серумното желязо при мъже (ляво) и жени (дясно)

### Клъстерен анализ

#### Клъстерен анализ при лица от женски пол относно серумни нива на желязо

Нашите данни очертават четири клъстера в нивата на серумното желязо при дентални пациенти от женски пол.

Експоненциалната крива може да бъде изправена от няколко линейни криви съобразно струпванията (клъстерите) на стойностите и така да се оформят няколко класа (клъстери) в нивата на серумното желязо при жените. Визуално при жените са оформят 4 клъстера – два крайни (екстремално високи от 30  $\mu\text{mol/L}$  нагоре и под 11–12  $\mu\text{mol/L}$ ) и два междинни с разграничаване около 19–20  $\mu\text{mol/L}$ .

**Първият клъстер** при жените се очертава до 10  $\mu\text{mol/L}$  включително, стойност до която тенденцията за нарастване е логаритмична. В този клас

попадат 22% от изследваните жени, 20 на брой при средна възраст  $50.3 \pm 14$  години и медиана 49 години.

**Вторият клъстер** включва най-много жени: 50 на брой, или 55%, на възраст  $66 \pm 8.9$  години при медиана 65 години. Стойностите на желязото тук са с ранг от 11 до 20  $\mu\text{g}/\text{L}$ .

**Третото струпване** на стойности достига 29  $\mu\text{g}/\text{L}$ , стойност до която тенденцията за нарастване е линейна, като линейната и експоненциалната крива се припокриват. Тук попадат 19 жени (21%) с медиана на възрастта 44.5 години, средна възраст  $48.4 \pm 15$  години.

**Четвъртият клъстер** при жените включва нива от 30  $\mu\text{g}/\text{L}$  нагоре. Има пълно припокриване на двете криви за тенденции. Тук попадат само 3 жени (3.3%) на възраст 31, 34 и 73 години.

### **Клъстерен анализ при лица от мъжки пол относно серумни нива на желязо**

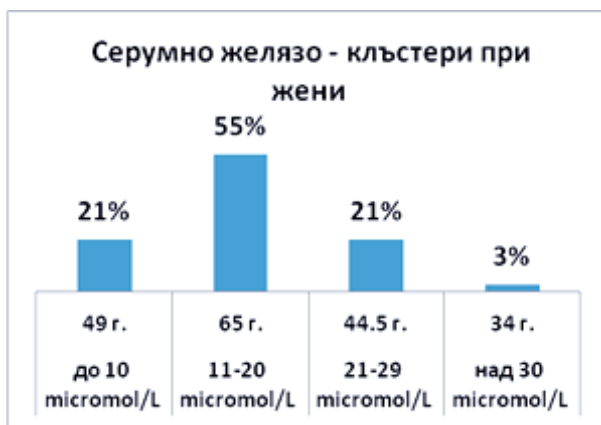
Тенденцията за нарастване на стойностите на серумното желязо при мъже е по-монотонна. Има припокриване между експоненциалната и линейната крива в обсега 13–14  $\mu\text{g}/\text{L}$  до 27–28  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Тук се оформят три групирания – първи клъстер до 14  $\mu\text{g}/\text{L}$ , втори – от 14 до 27  $\mu\text{g}/\text{L}$  и трети над 28  $\mu\text{g}/\text{L}$ .

**Първият клъстер** при мъжете се очертава до 14  $\mu\text{g}/\text{L}$ , стойност до която експоненциалната тенденция за нарастване се припокрива с линейната.

**Второто струпване** на стойности достига 27 micromol/L, стойност до която тенденцията за нарастване е линейна, като линейната и експоненциалната крива се припокриват.

**Трети клъстер** – стойности над 28 micromol/L. Отново линейната и експоненциалната крива се припокриват. В тази група попадат само пет измерени стойности.

### Клъстери на серумното желязо при жени и мъже и латентен железен дефицит



Фигура 6. Серумно желязо при жени: клъстер, медиана на възрастта и дял от извадката





Фигура 7. Серумно желязо при мъже: клъстер, медиана на възрастта и дял от извадката

Видимо от резултатите от клъстерния анализ има фразпантна разлика в серумните нива на желязото между двата пола. Основната част от изследваните жени – 55% имат стойности между 11 и 20 micromol/L. Жените със стойности на желязото под 10 micromol/L не са най-младите жени. Те действително са по-млади от жените от втората група, където има случаи с „латентен „ желязен дефицит“.

При мъжете разпределението на серумното желязо е приблизително еднакво с това на жените, но тук не се обособи клъстер с ниски серумни нива до 10 micromol/L. Естествено много високи стойности се срещат 5 пъти по-често у мъжете. Тези стойности на серумното желязо в трети клъстер също са патология и налагат консултации с други специалисти.

Според литературните данни, за мъжете долната референтна граници е 9.88  $\mu\text{mol/L}$ , а при жените – 7.16  $\mu\text{mol/L}$ . Измерването на серумното желязо не определя точно желязния дефицит и затова се препоръчва измерването на трансферин и феритин.

От изложените резултати е видно, че 21% от жените имат ниски нива на желязото в серума – до 10  $\mu\text{mol/L}$ . При мъжете такива стойности имат само 6%. Основната част от жените е във втория клъстер 55% от 10 до 20  $\mu\text{mol/L}$ .

Стойностите в първи клъстер при жените поставят два проблема – оплакванията и уврежданията в устната кухина и изясняване причина за дефицита, което не е задача на денталния лекар. Денталният лекар трябва да насочи пациента за изясняване на причината за този дефицит. В България той обикновено се дължи на хронично кървене или неопластичен или хроничен възпалителен процес. Много редки са случаите с недोхранване, и то предимно при анорексия невроза.

Няма корелационна връзка, както за цялата група, така и според пола, с възрастта, количеството витамин В12, наличието на инфекция с *H. pylori*. Единствено има връзка с нивото на фолиевата киселина ( $r = 0.422$  при  $p = 0.004$ , Spearman's rho).

## Железен дефицит – клинични илустрации



Атрофичен глосит и ангуларен хейлит



Бледа букална лигавица



Еритемна орална лигавица



Орална кандидоза и ангуларен хейлит

## ВИТАМИН В12 ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОПЛАКВАНИЯ И С ПОДОЗИРАНИ ПРОЯВИ НА ЕРИТРОПОЕТИЧНИ ДЕФИЦИТИ В УСТНАТА КУХИНА

Резултатите от различни измервания на витамин В12 в серума са представени на следващите фигури и таблици.



Фигура 8. Серумни нива на витамин В12 при дентални пациенти

Определихме средна стойност на В12 за цялата група  $272.6 \pm 126.1$  pmol/L. Наблюдавахме по-високи серумни нива на витамин В 12 при мъжете в тази група (табл.7), които са и по-млади (табл. 8).

Таблица 7. Ниво на витамин В12 (pmol/L) според пола при дентални пациенти с оплаквания

| <b>Нива на В12 (pmol/L)</b> | <b>Мъже (n=49)</b> | <b>Жени (n=134)</b> | <b>Общо (n=183)</b> |
|-----------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| x ± Sd                      | 294±145            | 264 ±117.5          | 272.6±126.1         |

Таблица 8. Възрастова характеристика на изследваните за витамин В12

| <b>Възраст (години)</b> | <b>Мъже (n=49)</b> | <b>Жени (n=134)</b> | <b>Общо (n=183)</b> |
|-------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| x ± Sd                  | 48.7±14.6          | 52 ±13.9            | 52.5 ±14.3          |

Изследвахме корелационните зависимости с други параметри и не открихме връзка между възрастта, нивото на фолиевата киселина и наличието на инфекция с *H. pylori* за цялата група.

Съществуващата много слаба негативна корелация с пола ( $r = - 0.101$ ) се дължи на по-ниските стойности при жени. Разликата в средните стойности на нивото на витамин В12 при двата пола е 11%. От друга страна, не съществува корелационна зависимост между стойностите на В12 и възрастта.

### **Графичен и клъстерен анализ на серумните нива на витамин В12**

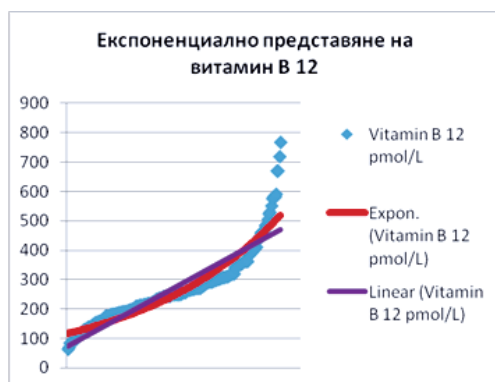
Като разгледахме обявените в това изследване референтни стойности за В12 (141–489 pmol/L), в 21 случая, или 11.4% се установяват стойности под долната референтна граница, като при жените ниските

стойности са по-чести – почти 13%, срещу 8% за мъжете (фиг. 9).



Фигура 9. Дефицит на витамин В12 при дентални пациенти

Построихме графичен израз от всички измерени стойности на витамин В12. Оформи се експоненциална крива (фиг.10)



Фигура 10. Крива на нивата на витамин В12 при дентални пациенти

Кривите на нивата на витамин В12 при двата пола са доста сходни в началната част – до стойностите около 200–300 pmol/L и в крайната си част – над 400 pmol/L.

Измерените нива на В12 оформиха четири клъстера, еднакви за двата пола: първи клъстер с нива под референтните (до 140.1 pmol/L); втори клъстер, отговарящ на ниски нормални нива (известни в литературата като low normal levels), или латентен дефицит (до 259 pmol/L); трети клъстер с нормални нива (до 399 pmol/L); и четвърти клъстер с високи нива (над 400 pmol/L). В тези клъстери експоненциалната зависимост изчезва и зависимостта между стойностите остава линейна.

### Клъстерен анализ



Фигура 11. Клъстери на серумното ниво на витамин В12 – разпределение по възраст



Фигура 12. Клъстери на серумното ниво на витамин В12 –при лица от женски пол



Фигура 13. Клъстери на серумното ниво на витамин В12 – при лица от мъжки пол



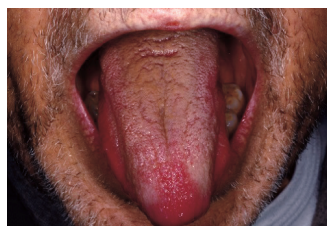


Фигура 14. Възраст на лицата с дефицит на витамин В12 (възрастов ранг от 25 до 75 г.)

### Дефицит на витамин В12 – клинични илюстрации



Възпален, парещ връх на езика, глосодиния



Аритемен и едемен връх на езика



Атрофичен глостит,  
глосодиния, промяна във  
вкусовите усещания



Стоматит, еритемни лезии по  
оралната лигавица

## **ФОЛИЕВА КИСЕЛИНА ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОПЛАКВАНЯ И С ПОДОЗИРАНИ ПРОЯВИ НА ЕРИТРОПОЕТИЧНИ ДЕФИЦИТИ В УСТНАТА КУХИНА**

При нашите пациенти средна стойност на фолиева киселина (B9) за цялата група бе  $22.7 \pm 8.7$  pmol/L, при ранг за референтни нива 10.4–42.4 pmol/L.

Не наблюдавахме разлика в средните серумни нивата на фолатите, съобразно пола на изследваните.

Наблюдавахме умерена корелационна връзка между нивата на фолиевата киселина и серимното желязо, както и антителата срещу CMV и EBV (табл.9)

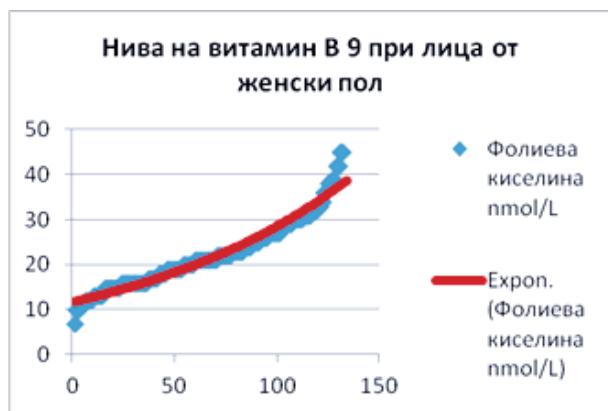
Таблица 9. Корелационни връзки на фолиева киселина (Витамин В9 ) при дентални пациенти

| <b>B9 Spearman's rho</b> | <b>Серумно желязо</b> | <b>Anti CMV IgM</b> | <b>Anti VCA IgM</b> | <b>Anti VCA IgG</b> | <b>Anti EBNA IgG</b> |
|--------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| r=                       | 0.422                 | 0.310               | 0.452               | 0.502               | 0.471                |
| p=                       | 0.000                 | 0.000               | 0.000               | 0.000               | 0.000                |

### Графичен и клъстерен анализ

Дефицит на В9 (под обявената долна граница 10.4 nmol/L) установихме само при 3 жени, а повишени стойности при 4 жени – съответно 1.6% и 2.2%. При жените този резултат съответно се представя като 2.2% и 3%.

Анализирайки линиите на тенденциите за нарастване на стойностите на В9 и при двата пола те се оказаха експоненциални (фиг. 15 и фиг. 16).



Фигура 15. Крива на нивата на фолиева киселина при лица от женски пол



Фигура 16. Крива на нивата на фолиева киселина при лица от мъжки пол

И на двете графики е видно, че може да се определят граници на клъстерите 15 pmol/L и 30 pmol/L и над тези стойности. Този анализ ни дава основание да обособим три клъстера:

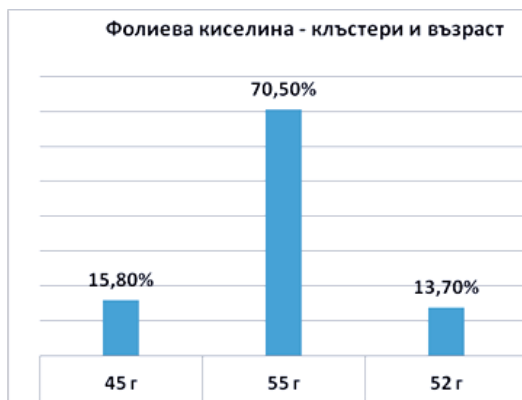
**Клъстер 1** – с нива на фолиева киселина до 15 pmol/L – 29 лица – представляващи 16%

**Клъстер 2** – фолиева киселина с нива между 16 до 30 pmol/L – 129 лица – представляващи 70%

**Клъстер 3** – фолиева киселина с нива над 30 pmol/L – 25 лица – представляващи 14%

Единични болни са с документиран фолатен дефицит. Ако обаче разгледаме ниските нормални стойности или т.нар. латентен дефицит, делът на пациентите с риск от фолатен дефицит е около 15%, като при жените той е по-голям.

Важно е да се отбележи, че в отделните клъстерни групи попадат различен брой мъже и жени.

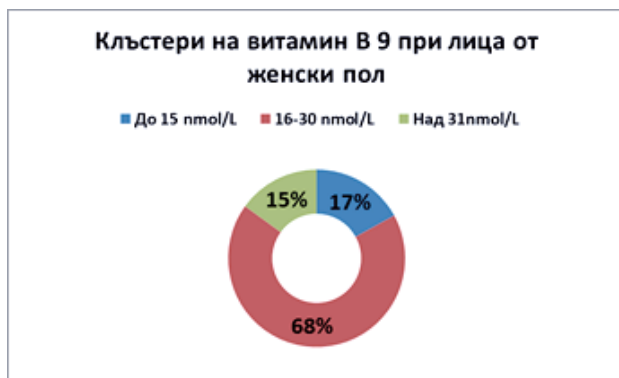


Фигура 17. Клъстери на серумното ниво на фолиева киселина – разпределение по възраст и дял

Лицата от женски пол имат по-често и повишени нива на фолиева киселина. Прави впечатление, че лицата с латентен дефицит са около 10 години по-млади.



Фигура 18. Клъстери на серумното ниво на фолиева киселина –при лица от мъжки пол



Фигура 19. Клъстери на серумното ниво на фолиева киселина – при лица от женски пол

### Дефицит на фолиева киселина – клинични илюстрации



Дифузен еритем по оралната лигавица, стоматодиния, парестезия



Еритемни лезии по букалната лигавица



Еритем по маргиналната гингива, парестезия



Пациент: Еритемни лезии по оралната лигавица

## ВИТАМИН D ПРИ ДЕНТАЛНИ ПАЦИЕНТИ

Определихме средна стойност на витамин D за цялата група изследвани лица  $24 \pm 18.8$  ng/mL, при ранг за референтни стойности (10–100 ng/mL) и следните подгрупи: липса < 10 ng/mL; недостатъчност 10–30 ng/mL; и достатъчност 30–100 ng/mL.

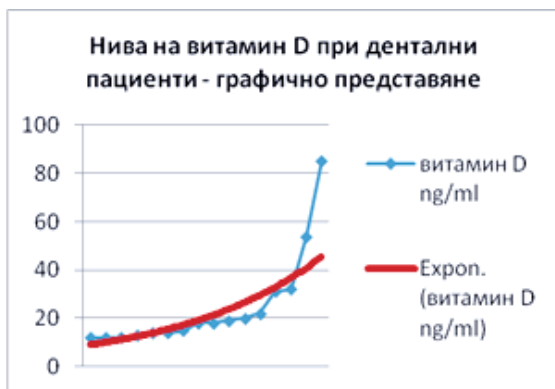


Фигура 20. Индивидуални стойности на витамин D и възраст на изследваните лица

## Графичен и клъстерен анализ на серумните нива на витамин D

Дефицит на витамин D не наблюдавахме при нито един болен (от общо 16 изследвани лица). С недостатъчност бяха 12 болни (75%), а останалите 25% имаха нормални серумни нива.

Построявайки графична крива от всички измерени стойности на витамин D, е видно, че всяка следваща стойност е видимо по-голяма от предшестващата и линията посоката показва стръмна възходяща, а не плавно покачваща се тенденция. Оформи се експоненциална крива.



Фигура 21 . Крива на нивата на витамин D при дентални пациенти

Оформящите се граници 10 ng/mL и 30 ng/mL за витамин D напълно отговарят на степените, препоръчвани от методиката.



## ЕРИТРОПОЕТИЧЕН ПАНЕЛ – ОБОБЩЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Дефицит и латентен дефицит

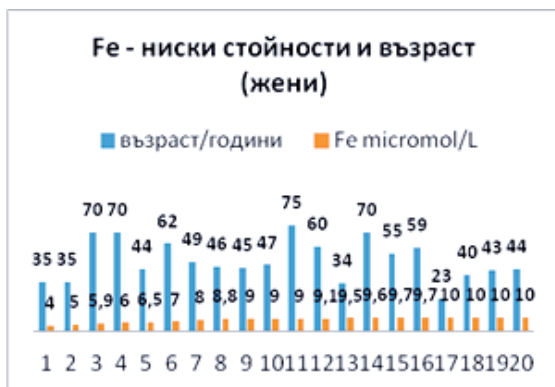
Таблица 10. Честота на класическите дефицити на желязо, витамин В12 и фолиева киселина

| <b>Класически дефицит</b> | <b>Общо за групата</b> | <b>Мъже</b> | <b>Жени</b> |
|---------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| Желязо                    | 3.97%                  | 0%          | 7.2%        |
| Витамин В12               | 11.4%                  | 8 %         | 13 %        |
| Фолиева киселина          | 1.6%                   | 0%          | 2.2%        |

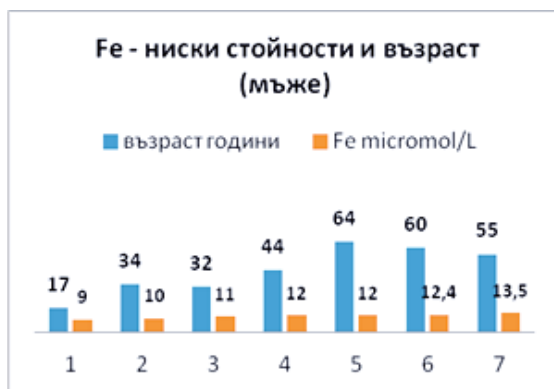
Таблица 11. Честота на латентните дефицити на желязо и витамини

| <b>Латентен дефицит</b> | <b>Общо за групата</b> | <b>Мъже</b> | <b>Жени</b> |
|-------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| Желязо                  | 21.5%                  | 20.5%       | 22%         |
| Витамин В12             | 43.7%                  | 46.9%       | 42.5%       |
| Фолиева киселина        | 16%                    | 12 %        | 17%         |
| Витамин D               | 75%                    |             |             |

Класическите дефицити на компонентите на еритропоетичния панел нямат връзка с възрастта, според корелационните анализи.



Фигура 22. Индивидуални ниски стойности на желязото при лица от женски пол



Фигура 23. Индивидуални ниски стойности на желязото при лица от мъжки пол

От анализа на данните на еритропоеичния панел се оформят две клъстерни зони на критични стойности – дефицити и много високи нива.

При пациентите, попадащи в тези две групи, са необходими допълнителни действия: консултация с

друг специалист за изясняване на общото лечение и лечение от стоматолог. Денталният лекар понякога е първият медицински специалист, към когото се обръща пациентът, той би подпомогнал поставянето на диагноза както за латентните и класическите дефицити, така и за състоянията, характеризиращи се с много високи стойности.

Ниските нормални стойности или дефицитите изискват внимателно отношение, обсъждане на причините, като за разлика от развиващите се държави, малко вероятно е при денталните пациенти в България да са резултат на недохранване.

Препоръчително е да има умерен прием на витамини, особено ако е налице клинична симптоматика. В някои страни към хранителните продукти се прибавят витамини. Дефицит на витамин D не наблюдавахме при нито един болен. С недостатъчност бяха 75%, което налага включването на този витамин в панела за изследване на **подозирани недоимък**.

В рутинната дентална практика се установява, че 3% от жените и около 15% от мъжете имат повишени стойности на серумно желязо, което както дефицитите също налага изясняване на причината. 5–10% от денталните пациенти имат много висок витамин B12 – трябва да се изключи карцином или профилактична злоупотреба. Между 8% и 15% имат повишена значително фолиева киселина, което също е нежелателен факт и изисква доизясняване на причината.

## КЛИНИЧНИ СЛУЧАИ НА ДЕФИЦИТ НА ЕРИТРОПОЕТИЧНИ ВЕЩЕСТВА – ДЕНТАЛЕН ЕРИТРОПОЕТИЧЕН ПАНЕЛ

**Пациент:** Жена на 64 години и 10 месеца.

|             |      |        |
|-------------|------|--------|
| Желязо (Fe) | 9.87 | µmol/L |
|-------------|------|--------|

### Витамин В12

Серум / Електро-хемилуминесценция

|      |       |        |
|------|-------|--------|
| В 12 | 180.4 | pmol/L |
|------|-------|--------|

### Фолиева киселина

Серум / Електро-хемилуминесценция

|  |       |        |
|--|-------|--------|
|  | 17.78 | nmol/L |
|--|-------|--------|

|                                  |                |
|----------------------------------|----------------|
| Клъстери –<br>лица от женски пол | Fe<br>(µmol/L) |
| 1                                | <b>&lt;10</b>  |

|          |                         |
|----------|-------------------------|
| Клъстери | Витамин В12<br>(pmol/L) |
| 2        | <b>141–258</b>          |

### Коментар:

Възрастна жена с орални белези за анемичен синдром и два дефицита – дефицит на серумно желязо (клъстер 1) и латентен дефицит на витамин В12 (клъстер 2).

**Пациент:** Мъж на 47 години и 1 месец.

Ндр (хемоглобин)

123

гг

**Витамин В12**

Серум / Електро-хемилуминесценция

В 12

43.54

pmol/L

**Фолиева киселина**

Серум / Електро-хемилуминесценция

22.77

nmol/L

| Клъстери | Витамин В12<br>(pmol/L) |
|----------|-------------------------|
| 1        | <141                    |

**Коментар:**

Мъж на средна възраст с орални белези за анемичен синдром, без анемия (с нормален хемоглобин) и с дефицит на витамин В12.

## ОРАЛЕН ХЕРПЕСЕН ПАНЕЛ

Този панел бе предложен на дентални пациенти с неспецифични афтозо-подобни лезии и с херпесподобни изменения по устната лигавица.

Представява определяне в серум на:

- **HSV1**
- **HSV2**
- **EBV**
- **CMV**

### CMV ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОПЛАКВАНИЯ И НЕСПЕЦИФИЧНИ ОРАЛНИ ЛЕЗИИ

Представяме резултатите от серумните нива на CMV (U/mL) при 144 последователни дентални пациенти с оплаквания – 43 лица от мъжки пол и 101 лица от женски пол.

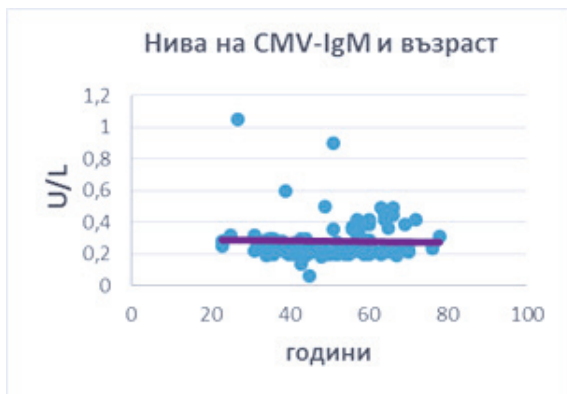
Таблица 12. Възраст на дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии

| <b>Възраст</b> | <b>Мъже<br/>(n=43)</b> | <b>Жени<br/>(n=101)</b> | <b>Общо<br/>(n=144)</b> |
|----------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| x±Sd           | 44.8±14.3              | 51±12.7                 | 49.7±13.7               |



Фигура 23. Серумни нива на CMV IgM при дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии

Не установихме корелационна връзка между възрастта на изследваните и нивата на CMV IgM.



Фигура 24. Нива на CMV IgM и възраст



Фигура 25. Серумни нива на CMV IgM при дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии – експоненциална тенденция

Патологичните стойности на острите антитела към цитомегаловирус (над 0.8 U/mL) рязко се отличават от измерените други индивидуални стойности. Само трима пациенти на възраст 27, 51 и 61 години имаха стойности над 0.8 U/mL, т.е. остра CMV инфекция открихме при 2% от изследваните.

Проблемът CMV в денталната медицина далече не е изяснен. Има единични съобщения за неспецифични орални лезии, подуване на слюнчените жлези и други неспецифични симптоми. Повече статии в медицинската литература описват прояви в устната кухина при имунокомпрометирани лица.

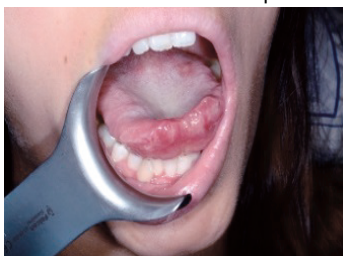
Тъй като честотата на CMV и EBV инфекциите в популациите е сходна и важно е да се извърши сравнение за носителството на двата вируса.



## CMV инфекция – клинични илюстрации



Остра CMV инфекция



Остра CMV инфекция



Остра CMV инфекция

Пациентите са с неспецифични орални лезии – афтозо подобни лезии по върха на езика и дорзалната и вентралните повърхности.

## **EBV ПРИ ДЕНТАЛНИ ПАЦИЕНТИ С ОПЛАКВАНИЯ И НЕСПЕЦИФИЧНИ ОРАЛНИ ЛЕЗИИ**

### **Anti-VCA IgM**

За остра EBV инфекция са проверени 153 лица със средна възраст 42.5 г., а за хронична инфекция са изследвани 133 болни със средна възраст 51 г. Изследванията за остра инфекция включват тези 133 последователни болни посетили диагностичния кабинет по Орална диагностика, с оплаквания от неспецифични орални лезии и допълнително 20 лица.

Таблица 13. Възраст на изследваните пациенти за остра EBV инфекция

| <b>anti-VCA<br/>IgM<br/>възраст<br/>(години)</b> | <b>Мъже<br/>(n=47)</b> | <b>Жени<br/>(n=106)</b> | <b>Общо<br/>(n=153)</b> |
|--|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| $x \pm Sd$                                       | 48 $\pm$ 14.9          | 50.7 $\pm$ 12.9         | 49.9 $\pm$ 13.5         |

Повишени нива на anti-VCA IgM установихме при 4 мъже (8.5%) и 7 жени (6.6%) или общо при 11 пациента – представляващи 7,2% за цялата изследвана група. 7,2% от всички изследвани дентални пациенти с неспецифични орални лезии са с остра EBV инфекция.



Фигура 26. Индивидуални стойности на anti-VCA IgM U/mL при лица от мъжки пол



Фигура 27. Индивидуални стойности на anti-VCA IgM U/mL при лица от женски пол

## EBV инфекция – клинични илюстрации



Остра EBV инфекция



Остра EBV инфекция



Остра EBV инфекция

Неспецифични орални лезии –  
везикули и лимфоидни  
инфилтрати по оралната  
лигавица.

Едновременно при голяма част от тези болни са определени антитела от клас IgG като белег за предшествващ контакт с вируса – anti-VCA IgG и anti-EBNA IgG.

Таблица 14. Възраст на пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии изследвани за хронична EBV инфекция

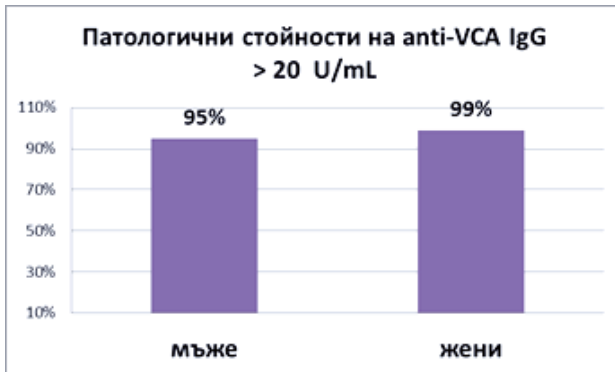
| <b>anti-VCA IgG и anti-EBNA IgG<br/>възраст<br/>(години)</b> | <b>Мъже<br/>(n=42)</b> | <b>Жени<br/>(n=91)</b> | <b>Общо<br/>(n=133)</b> |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------|
| X ± Sd   | 48±15.4                | 51±12.4                | 50.6±13.2               |

Средните стойности за двата показателя (anti-VCA IgG и anti-EBNA IgG) при мъже и жени са доста сходни (Таблица. 15).

Таблица 15. Средни стойности на anti-VCA IgG и anti-EBNA IgG

| <b>x ± sd</b>         | <b>Мъже<br/>(n=42)</b> | <b>Жени<br/>(n=91)</b> |
|-----------------------|------------------------|------------------------|
| anti-VCA IgG<br>U/mL  | 380 ± 299              | 405 ± 273              |
| anti-EBNA IgG<br>U/mL | 380 ± 299              | 352± 220               |

## ANTI-VCA IgG

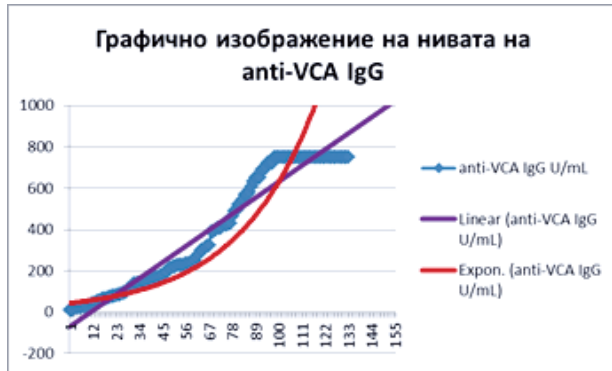


Фигура 28. Патологични стойности на anti-VCA IgG

Нашите резултати на стойностите anti-VCA IgG показват, че между 95% и 99% от лицата са имали предшестваща инфекция с вируса и могат да реактивират EBV.

### Графичен и клъстерен анализ на серумните нива на anti-VCA IgG

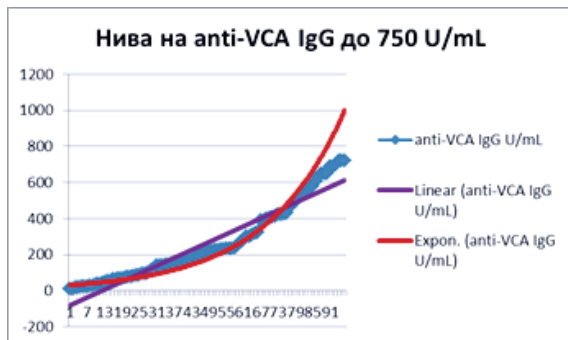
Построихме възходяща крива от всички измерени стойности на anti-VCA IgG (Фигура 29). Оформи се е експоненциална крива.



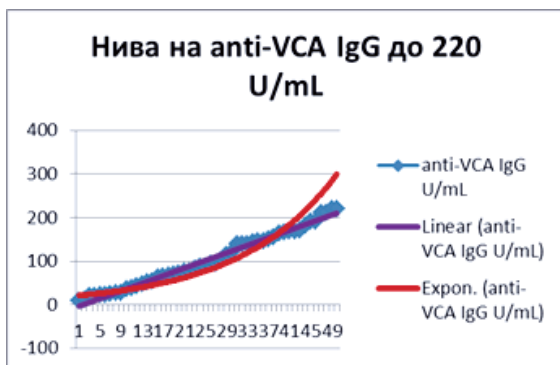
Фигура 29. Anti-VCA IgG при дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии

Графичните кривите на нивата на anti-VCA IgG при двата пола са сходни.

Експоненциалните криви могат да бъдат изправени с две междинни точки 220 и 750 anti-VCA IgG U/mL (фиг. 30,31,32), което позволява оформяне на клъстерни групи



Фигура 30. Anti-VCA IgG с максимум 750 U/mL



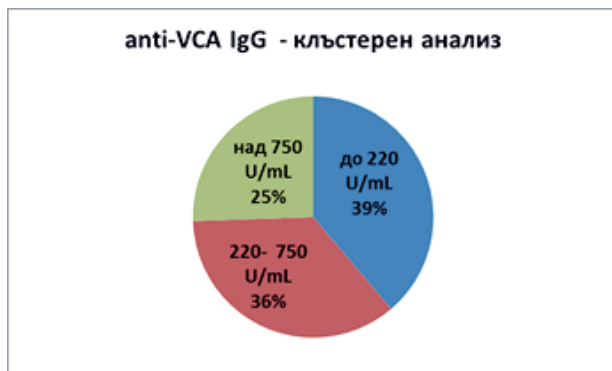
Фигура 31. Anti-VCA IgG с максимум стойности 220 U/mL



Фигура 32. Anti-VCA IgG в интервала на стойностите 220 -750 U/mL



Оформиха се три клъстера – на ниски нива, на средни нива и високи нива на anti-VCA IgG.



Фигура 33. Степени на повишение на anti-VCA IgG при дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии

Таблица 16. Средна възраст ( $x \pm sd$ ) според стойностите на anti-VCA IgG в трите клъстерни групи

| Възраст/години | Мъже            | Жени            |
|----------------|-----------------|-----------------|
| Клъстер 1      | 46.1 $\pm$ 16.6 | 52 $\pm$ 12.5   |
| Клъстер 2      | 47.5 $\pm$ 12.7 | 48 $\pm$ 12.8   |
| Клъстер 3      | 53.4 $\pm$ 15.5 | 54.8 $\pm$ 11.0 |

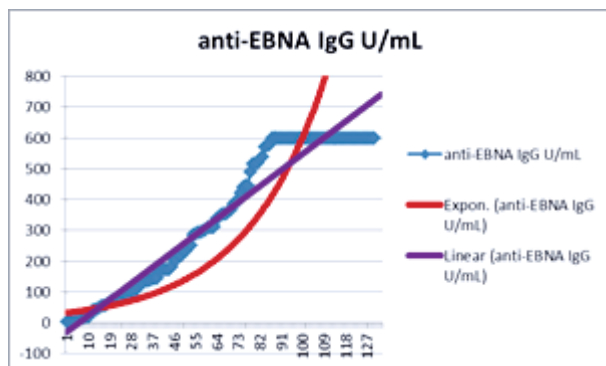
Не се намира никаква разлика в процентното отношение на лицата, попаднали в трите клъстера при двата пола. Очертава се тенденция – лицата с най-висок титър на anti-VCA IgG да са най-възрастни (клъстер 3).

## ANTI-EBNA IgG



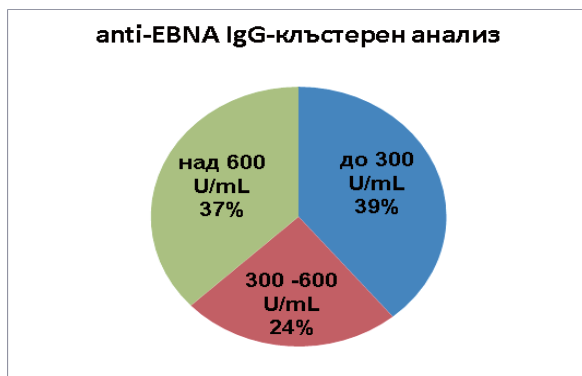
Фигура 34. Патологични стойности на anti-EBNA IgG

От изследваните от нас лица 7 жени и 3 мъже имат ниски титри на anti-EBNA IgG, при високи такива на anti-VGA IgG, което може да предполага все още остра или реактивирана инфекция с EBV – или 7,7% допълнително може би имат остра инфекция, което заедно с високите титри на EBV IgM прави общо 14.9% от изследваните са с активна EBV инфекция.



Фигура 35. Anti-EBNA IgG при дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии

Експоненциалните криви за нивата на anti-EBNA IgG могат да бъдат изправени с две междинни точки 300 и 600 U/mL anti-EBNA IgG .



Фигура 36. Степени на повишение на anti-EBNA IgG при дентални пациенти с оплаквания и неспецифични орални лезии

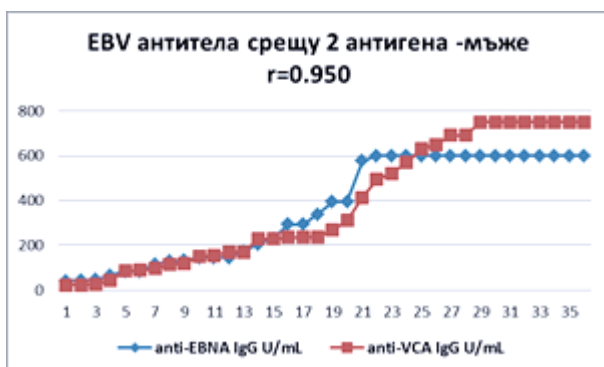
Таблица 17. Средна възраст ( $\pm$  sd) според стойностите на anti-EBNA IgG в трите кълъстера

| Възраст (години) | Мъже            | Жени            |
|------------------|-----------------|-----------------|
| Кълъстер 1       | 52.6 $\pm$ 17   | 47 $\pm$ 11.3   |
| Кълъстер 2       | 41 (Медиана)    | 52.4 $\pm$ 13.0 |
| Кълъстер 3       | 46.9 $\pm$ 12.6 | 55.9 $\pm$ 11.0 |

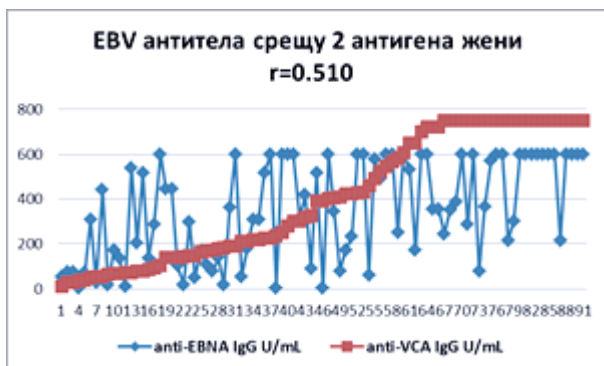
Процентното съотношение на лицата в трите кълъстера е различно , както между половете, така и вътреполово. При мъжете са по-чести стойностите, които попадат в първи и трети кълъстер.

И като медиана и като средна стойност се очертава една тенденция при лицата от женски пол за по-високи титри на anti-EBNA IgG в по-напреднала възраст.

Има видима полова разлика спрямо титрите на anti-EBNA IgG – изключително висока корелация при мъжете и силна корелация при жените.



Фигура 37 . Anti-VCA IgG и anti-EBNA IgG при лица от мъжки пол



Фигура 38. Anti-VCA IgG и anti-EBNA IgG при лица от женски пол

## Хронична EBV инфекция – клинични илюстрации



Хронична EBV инфекция.  
Левкоплакични лезии по  
страничната повърхност на  
езика



EBV инфекция  
Лимфоидни инфилтрати по  
орофарингеалната стена

## ХЕРПЕСНА ИНФЕКЦИЯ ПРИ ДЕНТАЛНИ ПАЦИЕНТИ С ОПЛАКВАНИЯ И ПОДОЗИРАНИ ХЕРПЕТИЧНИ ЛЕЗИИ

### HSV1 IgM



Фигура 39. Серумни нива на HSV1 IgM при дентални пациенти с подозирани херпетични лезии (в ляво лица от мъжки пол, в дясно лица от женски пол)

Таблица 18. Възраст на пациентите с подозирани херпетични лезии

| <b>Възраст<br/>(години)</b> | <b>Мъже<br/>(n=35)</b> | <b>Жени<br/>(n=90)</b> | <b>Общо<br/>(n=125)</b> |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| $x \pm Sd$                  | $46.7 \pm 12.8$        | $51 \pm 13.1$          | $50.3 \pm 13.1$         |

Таблица 19. Стойности на HSV1 IgM при лица с  
подозирани херпетични лезии

| HSV1 IgM | мъже<br>(n=35) | Жени<br>(n=90) | Общо<br>(n=125) |
|----------|----------------|----------------|-----------------|
| x±Sd     | 0.61±1.07      | 0.61 ±1.41     | 0.61±1.3        |

Повишени нива на HSV1 IgM отчетохме в 18% от изследваните лица (22 пациенти), представени от 6 мъже (20%) и 16 жени (17%).



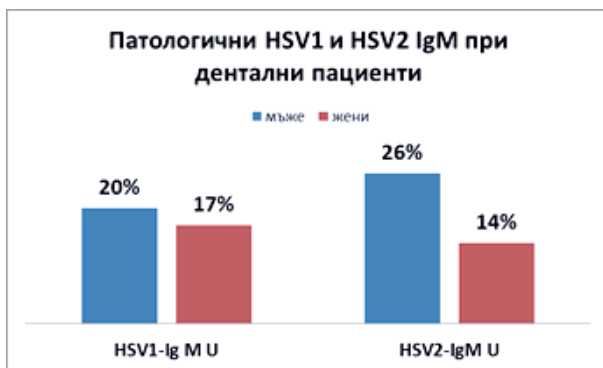
Фигура 40. Остра HSV1 инфекция при  
пациенти с подозирани херпетични лезии

## HSV2-IgM



Фигура 41. Серумни нива на HSV2 IgM при пациенти с подозирани херпетични лезии

При 22 лица диагностирахме активна херпесна инфекция HSV2 (18%), характеризираща се с повишени нива на HSV2 IgM, като 9 от болните са мъже (26 %) и 13 са жени (14%).



Фигура 42. Честота на острата херпесна инфекция (HSV1 IgM и HSV2 IgM) при пациенти с подозирани херпетични лезии



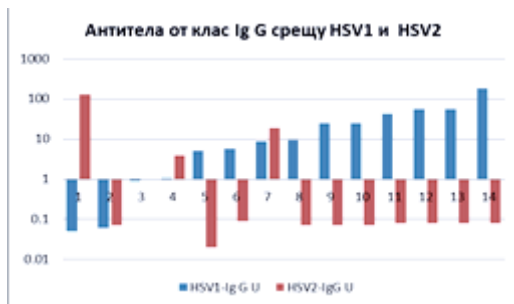


Фигура 43. Антитела срещу HSV1 IgM и HSV2 IgM – остра херпесна инфекция ( $r=+0.696$   $p=0.000$ )

Едновременно активна инфекция с двата херпесни вируса имат 13.6% за цялата група. А припокриване на двете херпес инфекции наблюдавахме в изключително висок процент от случаите – 77%.

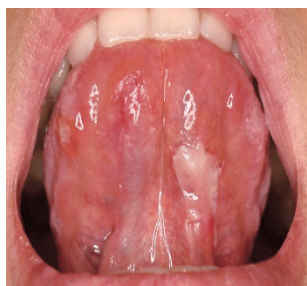
## ХРОНИЧНА ХЕРПЕСНА ИНФЕКЦИЯ

Повишени стойности на HSV2 IgG са имали 21% , а 78 % са се срещали с HSV1 IgG, т.е. 3, 5 пъти по-често.



Фигура 44. Честота на хронична херпесна инфекция денталните пациенти с херпесподобни лезии

## Херпес симплекс – клинични илюстрации



Хронична HSV1 инфекция



Хронична HSV2 инфекция



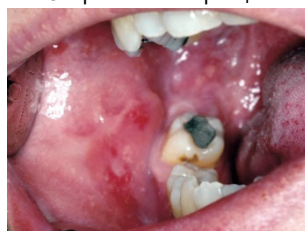
Остра HSV1 инфекция



Остра HSV1 инфекция



Остра HSV1 инфекция



Хронична HSV1 инфекция

## ЧЕСТОТА НА ВИРУСНИТЕ ИНФЕКЦИИ В ДЕНТАЛНА ПРАКТИКА

При 154 лица (47 мъже и 107 жени) са извършени поне две определяния за остра вирусна инфекция – CMV IgM, EBV IgM, и за двата херпес вируса (HSV1 IgM и HSV2 IgM).

При 36 лица (23%) от тях е установена поне 1 вирусна инфекция, при 18 от тях една остра вирусна (50%), при 17 от тях – 2 остри вирусни инфекции (47%), и при 1 пациент установихме 3 остри вирусни инфекции (3%). От пациентите с две остри вирусни инфекции – най-голям бе делът на двата херпес вируса.



Фигура 45. Разпределение на острите вирусни инфекции при денталните пациентите според броя им

Средната възраст на извадката от 154 лица е  $50 \pm 13,4$  г, а на заразените пациенти  $48 \pm 13,4$  г. Изследваните дентални пациенти за вирусни инфекции ни очертаха картина на остри инфекции в 23% от случаите. Най-рядка е цитомегаловирусната инфекция. Разделяйки пациентите по полова принадлежност почеста е острата вирусна инфекция при мъжете – 28%, срещу 21.5% при жените.

## ХЕРПЕС ВИРУС ДЕНТАЛЕН ПАНЕЛ. КЛИНИЧНИ ПРИМЕРИ

Пациент: жена на 63 години и 6 месеца.

### Резултати:

#### Helicobacter pylori IgG (качествен)

Серум / Имунохроматография

|             |
|-------------|
| положителен |
|-------------|

#### Витамин В12

Серум / Електро-хемилюминесценция

|      |       |        |
|------|-------|--------|
| В 12 | 244.6 | pmol/L |
|------|-------|--------|

#### Фолиева киселина

Серум / Електро-хемилюминесценция

|  |       |        |
|--|-------|--------|
|  | 18.79 | nmol/L |
|--|-------|--------|

#### Cytomegalovirus - IgM

Серум / Електро-хемилюминесценция

|  |      |       |
|--|------|-------|
|  | 0.21 | Index |
|--|------|-------|

#### Epstein Barr Virus (VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG)

Серум / ELISA

АНТИ-VCA IgG

|      |      |
|------|------|
| 77.4 | E/mL |
|------|------|

АНТИ-VCA IgM

|       |      |
|-------|------|
| > 160 | E/mL |
|-------|------|

АНТИ-EBNA IgG

|       |      |
|-------|------|
| > 600 | E/mL |
|-------|------|

#### Virus herpes simplex тип 1 (HSV1) - IgM

Серум / ELISA

0.071

#### Virus herpes simplex тип 2 (HSV2) - IgM

Серум / ELISA

0.196

|          |                     |
|----------|---------------------|
| Клъстери | Витамин В 12 pmol/L |
| 2        | 141-258             |

Коментар : остра EBV-инфекция у възрастна жена и латентен дефицит на витамин В12 (възрастово очакван) и инфекция с

H. pylori. Възможно е да е налице реактивация на EBV-инфекция. Отрицателни са данните за остър херпес и цитомегаловирус.

Пациент: мъж на 65 години и 4 месеца.

Резултати:

**Витамин В12**

Серум / Електро-хемилуминесценция

В 12 155.72 pmol/L

**Фолиева киселина**

Серум / Електро-хемилуминесценция

15.02 nmol/L

|          |                        |
|----------|------------------------|
| Клъстери | Витамин В 12<br>pmol/L |
| 2        | <b>141-258</b>         |

|          |                            |
|----------|----------------------------|
| Клъстери | фолиева<br>киселина nmol/L |
| 1        | <b>&lt; 15</b>             |

**Herpes simplex тип 1 (HSV1) - IgM**

Серум / ELISA

1.667 U

**Herpes simplex тип 2 (HSV2) - IgM**

Серум / ELISA

1.131 U

Коментар: остра херпесна инфекция с двата вируса у възрастен мъж и два дефицита – на витамин В12 и фолиева киселина.

Пациент: жена на 60 години и 6 месеца.

Резултати:

**Cytomegalovirus - IgM**

Серум / Електро-хемилюминесценция

0.988

Index

**Epstein Barr Virus (VCA IgG, VCA IgM, EBNA IgG)**

Серум / ELISA

Анти-VCA IgG

95.1

E/mL

Анти-VCA IgM

< 10

E/mL

Анти-EBNA IgG

5.3

E/mL

**Virus herpes simplex тип 1 (HSV1) - IgG**

Серум / Електро-хемилюминесценция

0.05

Index

*gg M - 0,061.*

**Virus herpes simplex тип 2 (HSV2) - IgG**

Серум / Електро-хемилюминесценция

126.7

Index

*gg M - 115.*

Коментар: възрастна жена – остра CMV и EBV инфекция, данни за хронична херпесна инфекция генотип 2.

## **ИНФЕКЦИЯ С H. PYLORI И ОТНОШЕНИЕ ИНФЕКЦИЯ – ИМУНИТЕТ**

Изследването на H pylori IgG бе предложено на дентални пациенти, подозрителни за инфекция с хеликобактер и с оплаквания от халитоза и неспецифични афтозо-подобни лезии.

Представява определяне на

- **IgG към H. pylori в серум**

### **ИНФЕКЦИЯ С H. PYLORI ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОБЩИ ОПЛАКВАНИЯ И С ХАЛИТОЗА**

За наличие на антитела клас IgG срещу H. pylori бяха изследвани също 88 болни със средна възраст  $52.4 \pm 13.3$  години и възрастов ранг между 26-78 години. Лицата от мъжки пол са 24 на брой (с характеристика на възрастта от 26-76г.), лицата от женски пол са 64 (с характеристика на възрастта от 27-78г.).

Положителни за H. pylori IgG са 49 болни (55.7%). Позитивните за H. pylori IgG са 13 са мъже и представляват 54.2% от лицата от мъжки пол. Позитивните лица от женски пол са 36 и отговарят на 56.3% от изследваните жени.

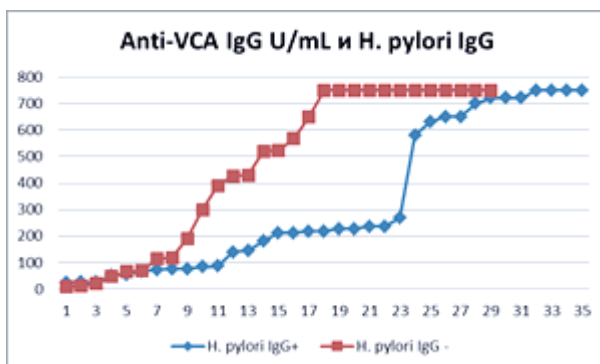


Таблица 20. Възраст на пациенти, изследвани за *H. pylori*

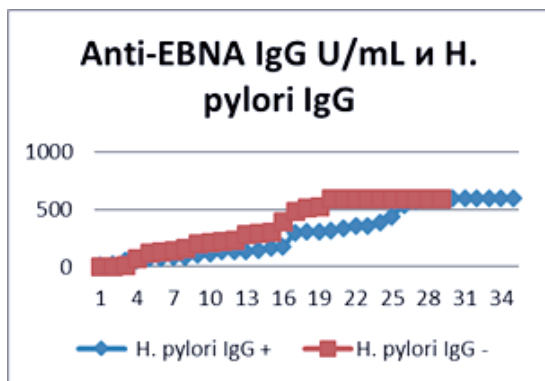
| <b>Helicobacter pylori IgG</b> | <b>Положителни (n=49) – представляващи 55.7%</b> | <b>Отрицателни (n=39) – представляващи 44.3%</b> |
|--------------------------------|--|--|
| x±Sd                           | 52.8 ±12.04                                      | 51.9 ± 14.7                                      |



Фигура 46. Честота на *H. pylori* при пациенти с оплаквания, характерни за инфекцията и халитоза



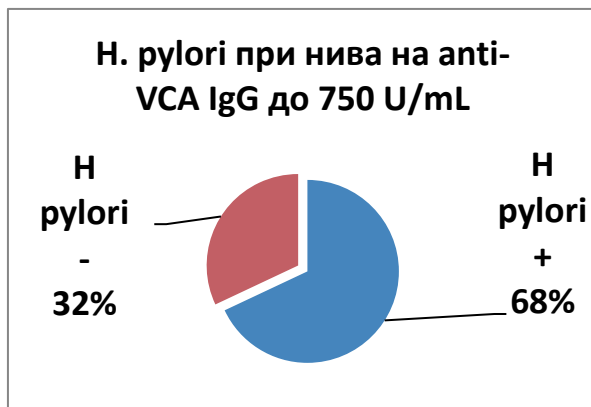
Фигура 47. Стойности на Anti-VCA IgG при положителни и отрицателни за *H. pylori* лица



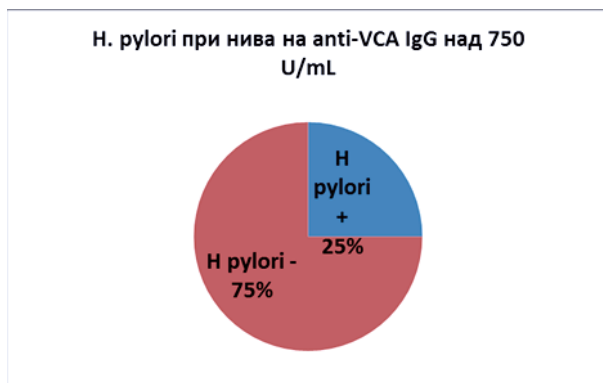
Фигура 48. Стойности на Anti-EBNA IgG при положителни и отрицателни за H pylori лица

Таблица 21. Стойност на Anti-VCA IgG и Anti-EBNA IgG при дентални пациенти изследвани за H. pylori

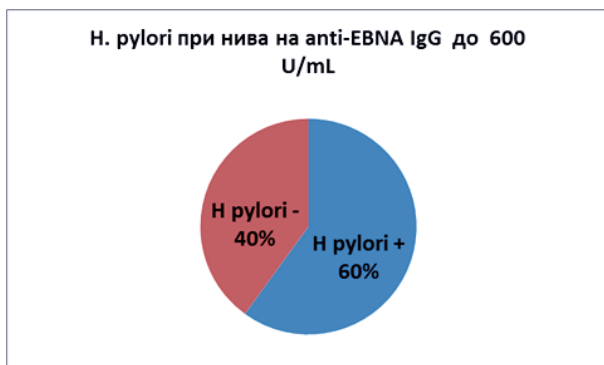
| H. pylori IgG        | Положителни | Отрицателни |
|----------------------|-------------|-------------|
| Anti-VCA IgG (U/mL)  | 330±275     | 464±287     |
| Anti-EBNA IgG (U/mL) | 302±209     | 357±218     |



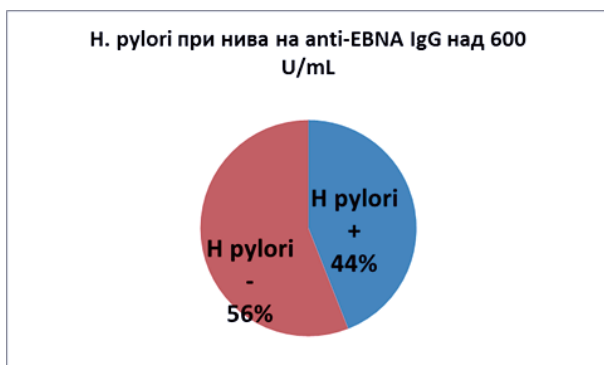
Фигура 49. Честота на H. Pylori при ниски титри Anti-VCA IgG



Фигура 50. Честота на H. Pylori при високи титри Anti-VCA IgG



Фигура 51. Честота на H. Pylori при ниски титри Anti-EBNA IgG



Фигура 52. Честота на H. Pylori при високи титри Anti- EBNA IgG

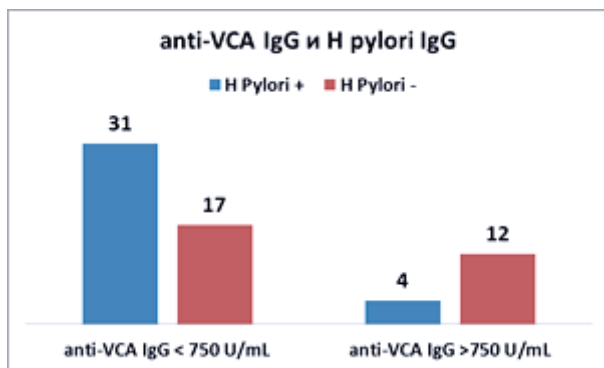
## ОТНОШЕНИЕ ИНФЕКЦИЯ – ИМУНИТЕТ

### EBV И H.PYLORI

Над 90 % от изследваните от нас лица в дентална практика са боледували от EBV, като от тях много висок титър на антитела имат 27% (от всички изследвани 133 лица в тази група). При успоредното изследване за H. pylori 16 пациента от 64 т.е. 25% са боледували от EBV.

В групата от 64 лица изследвани успоредно за EBV и H. pylori положителни за H. pylori са 55%, съответно на честотата за цялата извадка.

Тези пациенти, които имат висок имунитет (Anti-VCA IgG над 750 U/mL) срещу EBV по-рядко имат хронична инфекция с хеликобактер – 25% срещу 55 % за цялата група и 65% за лицата без високите нива на антитела срещу вируса EBV.



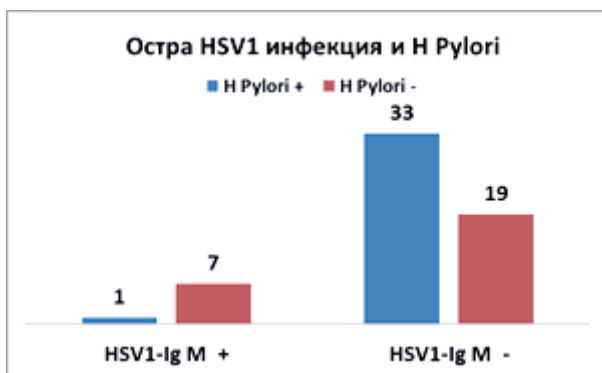
Фигура 53. Честота на инфекцията с H. pylori отнесена към титъра Anti-VCA IgG ( $p=0.0087$ , Fisher's).

## ОСТРА ХЕРПЕСНА ИНФЕКЦИЯ И H. PYLORI

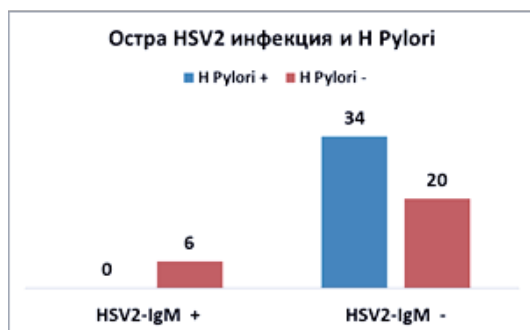
В групата изследвани за хеликобактер 88 лица, 56% са положителни за H. pylori, без разлика по пол и възраст – средна възраст 52-53 г. със стандартно отклонение (sd)  $\pm 12-14$  г.

Остра инфекция с херпес се установи при 18% от изследваните 126 лица.

При половината от цялата група (60 лица) успоредно са изследвани HSV антитела и антитела за хронична инфекция с хеликобактер. У изследваните за успоредност на двете инфекции честота на херпесната инфекция е 13% и на хеликобактер 57%. В групата без остра херпесна инфекция честота на H. pylori инфекцията е 63% срещу 12.5% при наличен H. pylori или 1 от 8 лица (ако е редно 8 да се престава като процент).



Фигура 54. Брой болни с H. pylori инфекция отнесени към титъра HSV1 IgM ( $p=0.0164$ , Fisher's)



Фигура 55. Брой болни с *H. pylori* инфекция отнесени към титъра HSV2 IgM ( $p = 0.0046$ , Fisher's)

Острата инфекция е регистрирана по-често у отрицателните за хеликобактер лица. Наличната инфекция с хеликобактер поставя въпроса дали е с протективна роля срещу други инфекции?

### **Различия между едновременното и последователно заразяване.**

Едновременното заразяване с различни агенти е възможно поради сходен път на инфектиране и утежнява болестта, която и да е тя.

Консекутивното заразяване намира макроорганизма подготвен и имунокомпетентен в някои случаи. EBV като атакува цялата имунна система изгражда стабилен и силен имунитет в някои случаи, обратно на HIV и може да стане протектор срещу следващи други инфекции. Протектор е и наличната инфекция с Хеликобактер, който не е елиминиран и може би пречи на херпесната инфекция да се изяви.

Открит е въпроса, дали *H.pylori* може да предпазва от други инфекции.

## ВИРУСИ В УСТНАТА КУХИНА

### ЧОВЕШКИ ПАПИЛОМА ВИРУС

Установяване вероятното носителство на HPV бе предложено на

1. последователни пациенти посетили денталния кабинет

Представява определяне

**в слюнка на високо рискови и ниско рискови типове HPV**

2. пациенти с орални и орофарингеални неоплазми с цел по-точна диагноза и по-адекватно лечение.

Представява определяне

**в биопсична тъкан на високо рискови и ниско рискови типове HPV**

Потърсихме в слюнката наличието на различни генотипове на човешкия папиломен вирус (HPV) при 196 последователни пациента от рутинната дентална практика – 130 жени и 66 мъже, без данни за орални прояви на неоплазми и неоплазми в лицево-челюстната област.

Възрастовия интервал е 11-78 години. Средната възраст на лицата от мъжки пол е  $45 \pm 13.8$  г. с медиана 42.5 г., а на жените  $50 \pm 13.6$  г., при медиана 51.5 г.



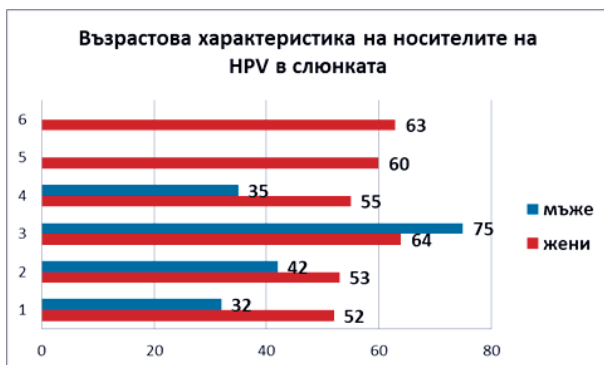
Положителните резултати за HPV в слюнката представяме в табличен вид.

Таблица 22. Случаи с наличие в слюнката на HPV вирусна инфекция

| <b>Възраст (години)</b> | <b>мъж (1)<br/>жена (2)</b> | <b>HPV<br/>генотип</b> | <b>HPV<br/>генотип</b> | <b>HPV<br/>генотип</b> |
|-------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 32                      | 1                           | <b>42</b>              |                        |                        |
| 35                      | 1                           | <b>16</b>              |                        |                        |
| 42                      | 1                           | <b>16</b>              | <b>52</b>              | <b>66</b>              |
| 52                      | 2                           | <b>16</b>              |                        |                        |
| 53                      | 2                           | <b>16</b>              |                        |                        |
| 55                      | 2                           | <b>16</b>              | <b>66</b>              |                        |
| 60                      | 2                           | <b>16</b>              |                        |                        |
| 63                      | 2                           | <b>16</b>              |                        |                        |
| 64                      | 2                           | <b>16</b>              | <b>52</b>              |                        |
| 75                      | 1                           | <b>16</b>              | <b>66</b>              |                        |

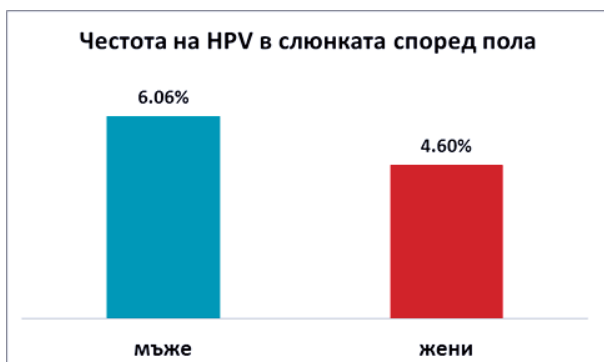
Положителната човешки папилома вирус в обща нестимулирана слюнка са 4 мъже (6.06%) като при 3-ма е доказан високорисковия генотип 16 (при един пациент – генотип 42). Двама пациента от мъжки пол са с повече от 1 генотип (при единия пациент – са налични генотипове 16 и 66, при другия пациент – са установени 3 генотипа в слюнката – 16, 52, 66).

Положителни за HPV бяха и 6 жени (4.6%) като при две от тях са открити по 2 генотипа (тип 16 и тип 52 и тип 16 и тип 66).

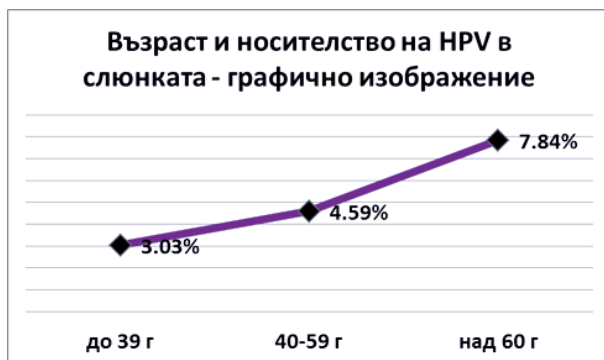


Фигура 56. Възраст на носителите на HPV в слюнката

HPV се установява в слюнката при 5.1% от пациентите от рутинната дентална практика, по-често при мъжете (фигура 57). Не регистрирахме HPV в слюнката при нито един пациент под 30 години, които представляват 9% от изследваните. В 9 от случаите в слюнката се откри генотип 16. При 4 от болните - т.е. 40% имаха по 2 генотипа едновременно, а в единия от случаите бе с три генотипа HPV.



Фигура 57 . Носителство на HPV в слюнката на дентални пациенти



Фигура 58. Възраст и носителство на HPV в слюнката на дентални пациенти

Предполагаме, че наличието на HPV в слюнката отразява наличието на вируса в другите биологични течности. Диагностицираните пациенти с HPV бяха насочени за консултация с вирусолог.

## **ИЗСЛЕДВАНЕ НА ВИРУСИ В ТЪКАН ЧОВЕШКИ ПАПИЛОМЕН ВИРУС В БИОПСИЧЕН МАТЕРИАЛ**

Потърсихме в туморна маса от орални и орофалингеални карциноми наличието на различни генотипове на човешкия папиломен вирус (HPV) при 48 неопластично болни – 16 лица от женски пол и 32 лица от мъжки пол.

Възрастовия интервал е 35-76 години, при мъжете е 38-89 години, с подобна характеристика при жените 35-76 години. Средната възраст на лицата от

мъжки пол е  $56 \pm 11.7$  години с медиана 56.5г., а на лицата от женски пол  $55 \pm 10.6$  г, при медиана 54.5 г.

При 35 пациента с тумори по оралната, ларингеаната и фарингеалната лигавица бе определена TNM системата, стадирането на туморите по системата G и хистологичния отговор от биопсичните проби.



Фигура 59. Размер на първичния тумор при изследваните пациенти за HPV

При 11 % първичния тумор бе до 2 см в най-големия си диаметър.

При 22 % първичният тумор бе по-голям от 4 см. Най-голям бе процентът на пациентите с T4 – отговарящ на тумор, прорастващ в съседни тъкани.



Фигура 60. Регионални шийни лимфни метастази при изследваните пациенти за HPV

При 7,4 % от пациентите отговаряха на стадий **N2** – метастази в един или няколко лимфни възли от страната на поражението до 6 cm в най-големия си диаметър или двустранни такива.



Фигура 61. Патохистологични резултати от биопсичните проби на неоплазмите

При 50 % се установи умерено диференциран плоскоклетъчни карцином. При 10% бе наличен вторичен рецидивиращ карцином.



Фигура 62. Стадиране на изследваните неоплазми по G – класификацията

Установихме корелационна зависимост между размера на тумора и засягането на регионалните лимфни възли ( $r=0,376$  при  $p = 0,006$  – Pearson). Проведохме анкетно запитване при изследваните пациенти с въпроси, касаещи разпространението на HPV.



Фигура 63. Анкетно запитване относно сексуалната ориентация на пациентите



Фигура 64. Анкетно запитване относно броя на половите партньори

Повече от 5 сексуални партньора съобщават  $\frac{1}{4}$  от анкетираните, като процентът на отговорилите позитивно за платени сексуални услуги е 5% от всички анкетирани.



Фигура 65. Анкетно запитване относно клиничните случаи в семейството на неоплазми в лицево-челюстната област

Висок бе процентът на отговорилите за наличие неоплазма в лицево-челюстната област у друг член от семейството – 10,5%.

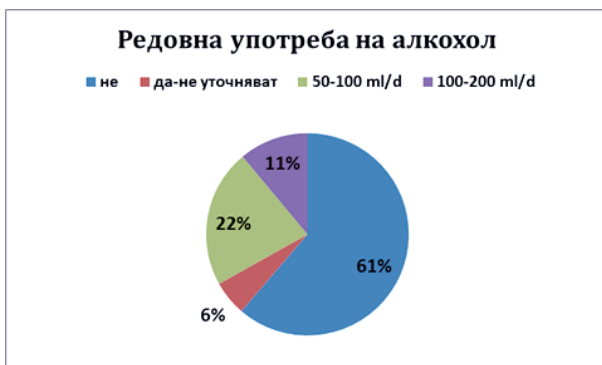
Относно въпросите касаещи основните рискови фактори за развитие на карциноми в лицево-челюстната област – употребата на алкохол и злоупотребата с никотин:

Огромен е процентът на лицата пушещи между 5 и 10 цигари дневно. 22,2% от анкетираните отбелязват , че пушат между 10-20 цигари дневно. 5,6% са отбелязали отговор да – без да уточняват количеството на изпушените цигари дневно.



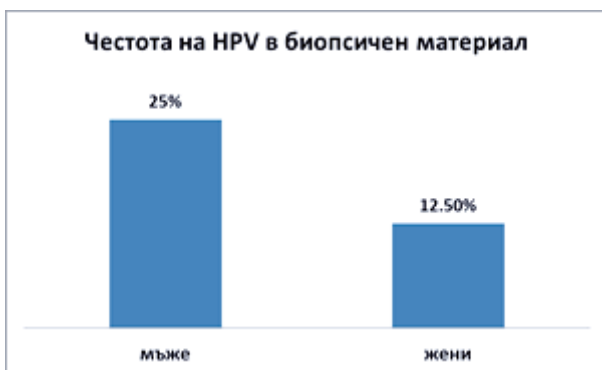
Фигура 66. Анкетно запитване относно употребата на НИКОТИН





Фигура 67. Анкетно запитване относно консумацията на алкохол

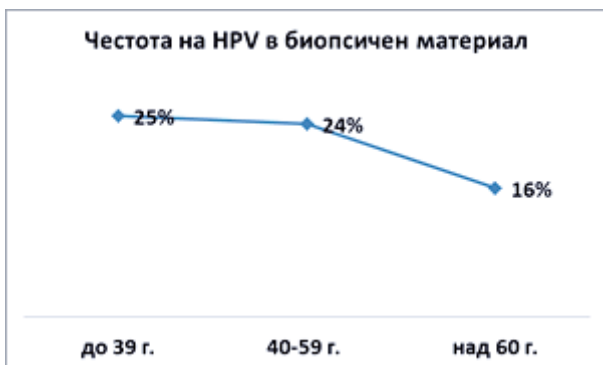
Положителни за HPV в тъкан са 11 болни – 23%: 2 жени (12.5 %) и 9 мъже – 25 %. Положителните са генотип 16 – двама, генотип 11 – 3 ма и генотип 6 – 6 лица, с медиана на възрастта 57 години.



Фигура 68. Наличие на HPV в биопсичен материал



Фигура 69. Възраст на носителите на HPV в биопсията



Фигура 70. Възраст и наличие на HPV в биопсичен материал

От статистическия анализ са установили, че наличието на HPV в биопсичен материал е два пъти по-често при мъжете и не нараства с възрастта.

## ЧОВЕШКИ ПАПИЛОМЕН ВИРУС В СЛЮНКА И БИОПСИЧЕН МАТЕРИАЛ

В тъканта на неоплазмите честотата на вируса е около 5 пъти по-голяма – по-често при мъже. С възрастта нараства честота в слюнката, но не и в неоплазмите. Изключително интерес е факта, че слюнката съдържа т.нар. онкогенни типове, а в тъканта преобладават „ниско рискови“ генотипове.

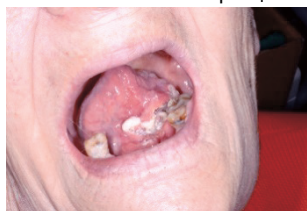
### HPV ПРИ ОРАЛНИ И ОРОФАРИНГЕАЛНИ ПРЕНЕОПЛАЗМИ И НЕОПЛАЗМИ – КЛИНИЧНИ ИЛЮСТРАЦИИ



Позитивна HPV инфекция



Позитивна HPV инфекция



Негативна HPV инфекция



Негативна HPV инфекция



Негативна HPV инфекция



Негативна HPV инфекция

## ХЕПАТИТ В И С ИНФЕКЦИИ В ДЕНТАЛНАТА ПРАКТИКА

Предложен като скринингов панел при дентални пациенти

Представява определяне в серум на

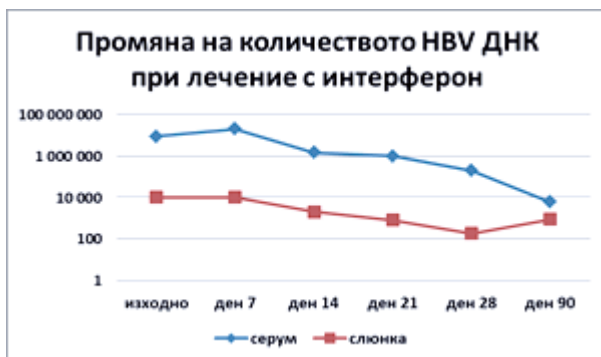
- Хепатит В вирус
- Хепатит С вирус

### ХЕПАТИТ В ВИРУС В СЛЮНКАТА

Потърсихме вирусна ДНК в слюнката на 16 пациента с хронична хепатит В инфекция (HBV DNA).



Фигура 71. Връзка между количеството вирус В в кръв и слюнка ( $r=0.998$ )



Фигура 72. Динамика на на HBV ДНК в серум и в слюнка в хода на лечение с Peg IFN a2a

Наличието на вируса на хепатит В в слюнката потвърждава възможността за орална трансмисия на инфекцията, при лица с ниска и с висока вирусемия.

## ХРОНИЧНИ ВИРУСНИ ХЕПАТИТИ

За хронично носителство на хепатит В и С бяха изследвани 88 болни – 19 мъже и 69 жени на възраст  $50 \pm 12.9$  години, Лицата от мъжки пол са със средна възраст  $55 \pm 13.8$  години, с възрастов ранг 26-76 години. Лицата от женски пол са по-млади – средна възраст  $50 \pm 12.6$  години и възрастов ранг 25-78 години. Носителство на HBsAg установихме само при 1 жена на възраст 44 години. Не се установи нито едно носителство на антитяло срещу хепатит С при всички изследвани лица.



Фигура 73. Честота на носителството на HBsAg при пациенти в денталния кабинет

## **СЛЮНЧЕН БЕЛТЪЧЕН ПАНЕЛ**

Този панел бе предложен на пациенти с орални пренеоплазми и неоплазми и на болни с общи заболявания, с цел характеризиране на възпалението и оралната лигавична имунна система.

Представява определяне в обща нестимулирана слюнка на:

- **C-реактивен протеин**
- **IgA**

### **C-реактивен протеин (CRP) в обща нестимулирана слюнка**

#### **Референтни стойности**

Определихме референтни стойности при група, включваща 20 здрави деца на възраст  $9.7 \pm 3.9$  години и 31 здрави възрастни  $42 \pm 17.85$  години, съответни на възрастовата характеристика на изследваните групи болни.

Определихме ранг за CRP в слюнката – при деца до 0.210 mg/l, за възрастни до 0.216 mg/l. Видно е почти пълното съвпадение на стойностите при контролните групи за деца и възрастни. Определените от нас референтни стойности на CRP ни ориентират за патологични стойности над 0.220 mg/l.



Фигура 74. CRP в обща нестимулирана слюнка на контролни здрави лица

### Клъстерен анализ

На базата на графичното изображение са видими критични точки, позволяващи анализ на степента на повишение и обособяване на отделни класове (кълъстери).

Анализирайки всички стойности на С-реактивния протеин при контролите и при болните приложихме клъстерния анализ. Ако първият клъстер отговоря на горната референтна граница от 0.220 mg/l, то ново групиране се оформя при пресичането на експоненциалната с линейната крива на ниво 0.300 mg/l за CRP. Оформят се три клъстера – **референтни** нива (до 0.220 mg/l), **умерено повишени** (над 0.220mg/l до 0.300mg/l) и **рязко повишени** – над 0.300 mg/l.





Фигура 75. CRP в обща нестимулирана слюнка при болните лица според стойностите

Представяме стойностите на С-реактивния протеин в слюнка при изследвани от нас отделни болести състояния (фиг.75). Видно е, че половината от изследваните болни нямат повишени нива на С-реактивния протеин в слюнката (нива под 0.220 mg/l). Анализирайки детайлно данните, установихме, че в третия клъстер на рязко повишени нива попадат предимно нелекуваните алергично болните с астма и бронхит.

Болните с болест на Крон са 8, 24-ма са с улцерозен колит – общо 32-ма са пациентите с възпалителни заболявания на червата. При групата демографската характеристика е от 20 до 66 години: 17 лица от мъжки пол и 15 лица от женски пол. Стойностите на CRP в слюнката при болестта на Крон достигат 0.720 mg/l, а при улцерозен колит – до 1,240 mg/l. Повишените нива са наблюдават само при 16%, и то предимно във втори клъстер – под 300 mg/l. Голяма е честотата на повишения С-реактивен протеин в

слюнката при туморите в лицево-челюстната област, като повишението е умерено (фигура 76).



Фигура 76. CRP в обща нестимулирана слюнката при пренеоплазии и тумори в лицево-челюстната област

Най-често и в най-голяма степен е повишен този възпалителен белтък при нелекуваните алергични белодробни заболявания (фигура 77).



Фигура 77. Графично представяне тип „радар“ на повишените нива на CRP в обща нестимулирана слюнка

## **Имуноглобулин А (IgA) в обща нестимулирана слюнка**

### Референтни стойности

Определихме референтни стойности за IgA при група включваща 20 здрави деца на възраст  $9.7\pm 3.9$  години и 31 здрави възрастни  $42\pm 17.85$  г, с подобна възрастова характеристика на изследваните болни. Определихме ранг за IgA в обща нестимулирана слюнка при здрави деца до 104 mg/l, за здрави възрастни до 125 mg/l и общо за контролните здрави лица до 116 mg/l. От тези данни може да се приеме че стойност за IgA в слюнката над 120 mg/l е патологично повишена.

Двете тенденции за нарастване на индивидуалните стойности – линейна и експоненциална се пресичат при стойност под 120 mg/l за IgA (фигура 78), което отговаря и на пресметнатия с вариационен анализ ранг и оформя първият клъстер в нивата на IgA в слюнката. Повишени са стойностите на IgA при 38 случая или 27 % от всички изследвани (фигура 79).



Фигура 78. IgA в обща нестимулирана слюнка на лица с орални и общи заболявания – линейна тенденция за нарастване



Фигура 79. Нормални и повишени IgA в обща нестимулирана слюнка

Нашите данни посочват, че слюнченият IgA е повишен най-често при оралните неоплазми и пренеоплазми и имунните заболявания на червата. При болестта на Крон стойностите достигат 305 mg/l I, а при улцерозен колит до 177 mg/l (фигура 80).



Фигура 80. Графично представяне, тип „радар“ на повишените нива на IgA в слюнката

### **Секреторен IgA (sIgA) в обща нестимулирана слюнка**

Броят на болните с изследван в слюнката sIgA е по-малък, спрямо лицата изследвани за общ IgA, но при 44 изследвани за секреторен и за общ IgA корелационната връзка между двата беткъка е = +0.563 (фигура 81). Трябва да се има предвид, че различни методики са използвани за определянето на секреторния и на общия IgA.



Фигура 81. Индивидуални стойности на двата имуноглобулини А в обща нестимулирана слюнка

При белодробните болести sIgA в обща нестимулирана слюнка е повишен в 19%, което е значително повече от общия IgA при тези пациенти. Повишен е и при 25% от заболяванията на червата (улцерозен колит и болест на Крон).

На следващите две фигури илюстрираме промяната на sIgA и хармонизиране на неговите нива (при първоначално ниски и при първоначално високи) при приемане на 9 табл. Актифлор (*Lb.bulgaricus* и *Str.thermophilus*) дневно в продължение на 10 дена при пациенти без сериозни здравословни и дентални проблеми. 5 дни след прекъсване на терапията, стойностите на sIgA в слюнката се възвръщат към първоначалните.



Фигура 82. Изходни ниски sIgA в обща нестимулирана слюнка и промяната им след лечение



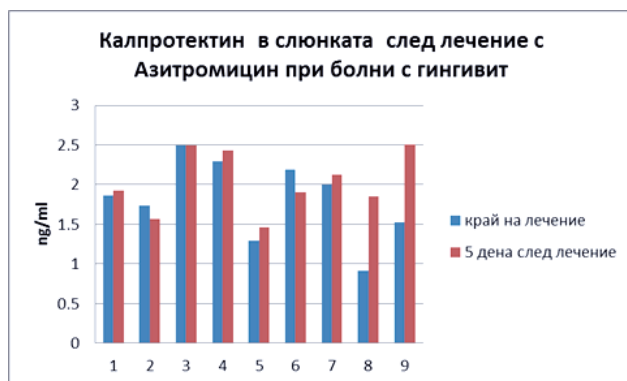
Фигура 83. Изходни високи sIgA в обща нестимулирана слюнка и промяната им след лечение

## КАЛПРОТЕКТИН В СЛЮНКТА

При девет пациента (1 мъж и 8 жени) с плак индуциран гингивит приложихме Азитромицин 500 мг в еднократна дневна доза за 5 дена и проследихме нивата на калпротектин в обща нестимулирана слюнка. Наблюдавахме рязко снижаване на стойностите на този белтък в край на терапията.



Фигура 84. Нива на калпротектин в обща нестимулирана слюнка при лечение с Азитромицин



Фигура 85. Калпротектин в обща нестимулирана слюнката след лечение с Азитромицин



Двете фигури илюстрират отчетливо намаление на калпротектина в обща нестимулирана слюнка при приложението на Азитромицин. В последните два пациента нивото се възвръща към изходните стойности, което е показател за липсата на ефективност на терапията при тези двама пациенти.

**ВЪЗМОЖНОСТИ НА УСПОРЕДНОТО  
ИЗСЛЕДВАНЕ НА CRP И IgA В ОБЩА  
НЕСТИМУЛИРАНА СЛЮНКА КАТО  
ПОКАЗАТЕЛИ НА ВЪЗПАЛЕНИЕ И ЛОКАЛНИЯ  
ИМУНИТЕТ ПРИ ОРАЛНИ И ОБЩИ  
ЗАБОЛЯВАНИЯ**

Таблица 23. Дял на повишени нива на CRP и IgA в обща нестимулирана слюнка при отделните изследвани групи

| Изследвани групи                            | Брой (n=) | Повишен IgA | Повишен CRP |
|---|-----------|-------------|-------------|
| Ортодонтски пациенти                        | 13        | 39%         | -           |
| Доброкачествени тумори на паротидната жлеза | 16        | 17%         | 37%         |
| Орален лихен и левкоплакия                  | 10        | 50%         | 10%         |
| Нелекувани неоплазми                        | 35        | 26%         | 35%         |
| Лекувани плоскоклетъчни карциноми           | 15        | 60%         | 15%         |
| Псориазис                                   | 19        | 16%         | 16%         |
| Възпалителни заболявания на червата         | 32        | 44%         | 16%         |
| Нелекувани бронхит и астма                  | 30        | 3%          | 63%         |
| Лекувани астма и бронхит                    | 30        | 7%          | 83%         |

На следващите фигури съпоставяме патологичните стойности при съответни заболявания.



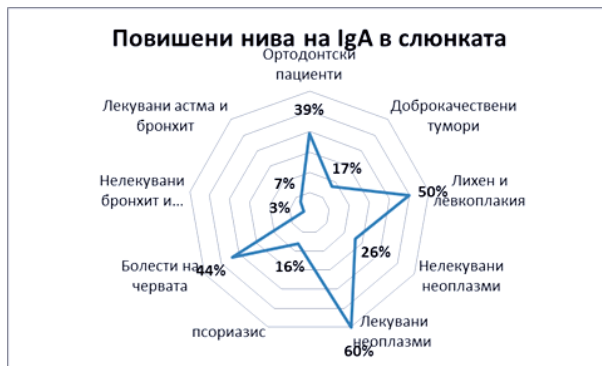
Фигура 86. Комбинирано представяне на повишени IgA и/или CRP

Използването на „радарни“ фигури откроява разликата между отделните болести. Най-изразен е възпалителният процес (най-често повишени слюнчени нива на CRP) при децата с астма или бронхит, независимо дали са лекувани или не. На второ място със сходна честота са две групи на орални заболявания – преканцерозите в устната кухина и нелекуваните плоскоклетъчни карциноми. CRP при лекуваните орални неоплазми е два пъти по-рядко повишен.

IgA в слюнката ни дава друга картина – голяма честота на повишени стойности при локалните неоплазми (лекуваните) и преканцерози, както и при имунните заболявания на червата – улцерозен колит и болест на Крон. За отбелязване е повишение в 40% от пациентите с ортодонтски подвижни апарати.



Фигура 87. Повишени слюнчени нива на С-реактивен протеин



Фигура 88. Повишени нива на IgA в обща нестимулирана слюнка

Съчетаното определяне на тези два показателя (CRP и IgA) в обща нестимулирана слюнка е много полезно за характеризиране на болестта при конкретния пациент и проследяването ѝ, което е обичайна практика за определяне на С-реактивния протеин в серум при редица заболявания.

## Клинични случаи – слюнчен белтъчен панел (CRP и IgA в слюнката)

| Пол  | Възраст (години) | CRP до 0.220 mg/l | IgA до 120 mg/l | Клинична диагноза                              |
|------|------------------|-------------------|-----------------|--|
| Жена | 64               | 0.310             | 95              | Тумор на паротидната жлеза (плеоморфен аденом) |
| Мъж  | 31               | 0.270             | 240             | Тумор на паротидната жлеза (плеоморфен аденом) |
| Жена | 73               | 0.240             | 105             | Тумор на паротидната жлеза (плеоморфен аденом) |
| Мъж  | 26               | 0.260             | 176             | Псориазис                                      |
| Мъж  | 34               | 0.220             | 156             | Псориазис                                      |
| Мъж  | 69               | 0.250             | 68              | Псориазис                                      |
| Мъж  | 67               | 0.140             | 188             | Орален плоскоклетъчен карцином                 |
| Мъж  | 54               | 0.260             | 49              | Орален плоскоклетъчен карцином                 |
| Мъж  | 66               | 0.180             | 188             | Орален плоскоклетъчен карцином                 |
| Мъж  | 52               | 0.230             | 142             | Улцерозен колит                                |
| Мъж  | 26               | 0.140             | 170             | Улцерозен колит                                |
| Жена | 21               | 0.010             | 150             | Болест на Крон                                 |
| Мъж  | 10               | 0.300             | 150             | Бронхиална астма                               |
| Жена | 8                | 0.330             | 79              | Бронхиална астма                               |
| Жена | 16               | 0.290             | 82              | Бронхиална астма                               |

**Клинични илюстрации на различните  
орални заболявания при които е  
изследван слюнчения белтъчен панел**



Нелекуван болен с  
плоскоклетъчен карцином



Нелекуван болен с  
плоскоклетъчен карцином



Нелекуван болен с  
плоскоклетъчен карцином



Нелекуван болен с  
плоскоклетъчен карцином

## ОБОБЩЕНИЕ

### ДЕНТАЛНИ ПАЦИЕНТИ СЪС СПЕЦИФИЧНА ОРАЛНА ПАТОЛОГИЯ

Едно проучване за наличие на изменения по устната лигавица при възрастни в САЩ, установява орални лезии в 28% от населението, средно по 1,25 лезии на болен (Shulman, 2004) . Скорошни епидемиологични проучвания документират широка вариабилност в честотата на оралните лигавични лезии при деца в различни региони - от 4.1 до 52.6% (Rioboo-Crespo, 2005). Повтарящите се афтозни ерозии са най-честото заболяване на устната лигавица и засягат 1-2 до 70% от населението на света (Mirowski, 2016).

Изследваните от нас пациенти със специфична орална патология (160 лица) са със средна възраст около 50 години и обхващат възрастовия интервал между 12-85 години. Най-чести бяха пациентите с оплаквания, подозрителни за дефицити на еритропоетичните фактори. Следват гъбичните и бактериалните инфекции в устната кухина и то предимно кандидоза. В под 20% пациентите са имали белези за херпесни инфекции. Малък е дялът на пациентите с общи заболявания – около 15% и откриваемостта на патологията от лабораторните изследвания е 27% при тази група лица.

Тези наши резултати ни дадоха основание за проучим по-подробно причините за обичайните и неспецифичните повърхностни изменения по устната лигавица, отговарящи клинически най-често на анемични състояния и афтозо-подобни лезии. Предложихме лабораторни диагностични панели на

последователни пациенти поради установената от нас голямата честота на лабораторните отклонения 47 до 66% при пациентите със специфична орална патология.

## **ЕРИТРОПОЕТИЧЕН ПАНЕЛ**

Този панел бе предложен на дентални пациенти с подозирани прояви на еритропоетични дефицити в устната кухина.

Представява изследване в серум на

- желязо
- витамин В12
- фолиева киселина

## **ЖЕЛЯЗО**

Данните за серумните нива на желязото при мъжете в тази група бяха по-високи с около 19%. Под 10  $\mu\text{mol/L}$  серумното желязо установихме в 13.5% от случаите.

Построихме крива от всички измерени стойности, която бе с експоненциален характер. Разпадайки я на части, според струпването на стойностите получихме няколко линейни криви и така оформихме няколко класа (кълъстери). При лицата от женски пол, съобразно нивата на серумното желязо са визуализираха – 5 кълъстерни групи – две крайни (под 11-12  $\mu\text{mol/L}$  и екстремално високи от 30  $\mu\text{mol/L}$  нагоре) и две междинни с разграничаване около 19-20  $\mu\text{mol/L}$ . Наблюдаваната от нас тенденцията за нарастване на стойностите на серумното желязо при



мъже е по-монотонна. При лицата от мъжки пол се формираха три групирания – първи клъстер до 16  $\mu\text{mol/L}$ , втори от 16.1 до 27  $\mu\text{mol/L}$  и трети над 28  $\mu\text{mol/L}$ .

Основната част от изследваните жени – 55% имат стойности на серумно желязо между 11 и 20  $\mu\text{mol/L}$ . Жените със стойности на желязото под 10  $\mu\text{mol/L}$  не са най-младите. Естествено много високи стойности се срещат 5 пъти по-често у мъжете. От изложените резултати е видно, че 21% от жените имат ниски нива на желязото в серума – до 10  $\mu\text{mol/L}$ . При мъжете такива стойности имат само 6%.

Стойностите в първи клъстер при лицата от женски пол поставят два проблема – субективните оплакванията и промените в устната кухина и изясняване причина за дефицита, което не е задача на денталния лекар.

## **ВИТАМИН В12**

Наблюдавахме по-високи серумни нива на витамин В 12 при мъжете, които са и малко по-млади. Под долната референтна граница за В12 са 11.4% от изследваните от нас пациенти, като при жените ниските стойности са по-чести – почти 13%, срещу 8 % за лицата от мъжки пол.

Внимателният графичен анализ позволява както и при серумното желязо оформяне на четири клъстера, еднакво за двата пола – нива под референтните, ниски нормални нива (известни в литературата като *low normal levels* = латентен дефицит), нормални нива и високи нива със следните

границы – до 140.1 pmol/L, до 259 pmol/L, до 399 pmol/L и над 400 pmol/L.

## **ФОЛИЕВА КИСЕЛИНА (ВИТАМИН В9)**

Установихме следните клъстерни граници:

Клъстер 1 – до 15 pmol/L – 16% от пациентите попадат в тази група

Клъстер 2 – 16 до 30 pmol/L – 70% от изследваните се включват в тази група

Клъстер 3 – над 30 pmol/L до – 14% са представените лица

При 100 пациенти над 70 години с нормални нива на фолати в серума в 41% е доказан латентен фолиев дефицит (Hadnagy, 1977). В нашата група дентални пациенти, латентният дефицит е около 15%, като при жените той е по-голям дял. Прави впечатление че лицата с латентен дефицит са около 10 години по-млади.

## **ВИТАМИН D**

Дефицит на витамин D не наблюдавахме при нито един болен. С недостатъчност бяха 75% .

## ДЕФИЦИТ И ЛАТЕНТЕН ДЕФИЦИТ

Таблица 24. Честота на случаите с дефицити на желязо, В12 и фолиева киселина

|                              | <b>Класически дефицит</b> | <b>мъже</b> | <b>жени</b> |
|------------------------------|---------------------------|-------------|-------------|
| <b>желязо</b>                | 4 %                       | 0 %         | 7 %         |
| <b>витамин В12</b>           | 11 %                      | 8 %         | 13%         |
| <b>фолиева киселина (В9)</b> | 2 %                       | 0 %         | 2 %         |

Таблица 25. Честота на случаите с латентните дефицити на желязо, В12 и фолиева киселина

|                              | <b>Латентен дефицит</b> | <b>мъже</b> | <b>жени</b> |
|------------------------------|-------------------------|-------------|-------------|
| <b>желязо</b>                | 22%                     | 21 %        | 22%         |
| <b>витамин В12</b>           | 44%                     | 47%         | 43%         |
| <b>фолиева киселина (В9)</b> | 16%                     | 12 %        | 17%         |
| <b>витамин D</b>             | 75%                     |             |             |

Важно е да се отбележи, че при изследваната от нас група пациенти установените дефецити не яха в зависимостт с възрастта на изследваните.

## ДЕНТАЛЕН ХЕРПЕСЕН ПАНЕЛ

Този панел бе предложен на дентални пациенти с неспецифични афтозо-подобни лезии и с херпесподобни изменения по устната лигавица.

Представява определяне в серум на

- HSV1
- HSV2
- EBV
- CMV

Херпесвируси представляват по-голямата част на орални вирусни инфекции. Херпес симплекс вирус, варицела-зостер вирус, Epstein-Barr и вирусни инфекции почти винаги са резултат от реактивирането на латентен вирус. 98% херпес симплекс лезиите са причинени от активирани на болестта и се характеризират големи, много болезнени улцеративни поражения в цялата устна кухина (Schubert, 1991).

Цитомегаловирусната инфекция (CMV) е с честота между 60% и 90% в развитите страни и над 90% в развиващите [Cytomegalovirus (CMV) infection]. Повече от хора се заразяват през детските си години и ако по-късно станат имunosупресирани вирусът реактивира (Dodd, 1993).

Остра CMV инфекция установихме само при 2% от изследваните на възраст средно 50 години, а остра EBV при мъже в 8.5% и 7 жени 6.6%, която честота достига 15% като включим нивата на анти-EBNA IgG.

Хронична EBV регистрирахме в 99% от жените и 95% от мъжете в нашата извадка. Средната възраст

при мъжете е  $48 \pm 15.4$ г (медиана 43.5г) , а при жените  $51 \pm 12.4$  (медиана 52 г) М. Петрова съобщава честота на EBV при кръводарители 96,7%, а при възраст над 50 години -100 % [Петрова, 2007]. Явно, че за последните 10 години не е настъпила промяна в хроничното носителство на EBV. Наблюдавахме една тенденция за по-висок титър и на двата маркера за хронична инфекция (anti-VCA IgG и anti- EBNA IgG) при по-възрастни, което може да отговаря и на реактивация на вирусната инфекция.

В избора на контингент последователни пациенти в рутинната дентална практика, по посочените критерии остра, HSV1 и HSV2 регистрирахме в по 18%. По отношение на HSV2 , честотата при мъжете бе почти два пъти по-голяма от тази при жените (26% срещу 14%). Доскоро се считаше, че HSV2 причинява само генитални инфекции, но през последните години стана ясно, че той се открива и в слюнката и/или лигавицата на устната кухина при също херпетични язви, стоматити и гингивити. При 50% от пациентите първичната херпесна инфекция е безсимптомна. HSV-1 се открива при около 60% от хората над 40 години като вирусът е латентен в сетивните нервни ганглии. Нашите болни са средна възраст 51 години и възрастов ранг от 25 до 75 години. За разлика от еднаквата честота на остра HSV1 и HSV2, предшестваща херпесна инфекция тип HSV2 са имали 21%, а 78 % са се срещали с HSV1, т.е.-3, 5 пъти по-често

Остра вирусна инфекция CMV и/или EBV, HSV2, и/или HSV1 установихме в 23% (28% за мъжете) от рутинните дентални пациенти на възраст  $50 \pm 13,4$  г. Ако от панела отпадне изследването за CMV

откриваемостта ще спадне на 21%. При половината от случаите открихме само 1 вирусен агент. Нашето заключение е, че изследване за CMV трябва да се назначава само при конкретни клинични подозрения.

## **ИНФЕКЦИЯ С H. PYLORI и ОТНОШЕНИЕ ИНФЕКЦИЯ – ИМУНИТЕТ**

Изследването на H pylori IgG бе предложено на дентални пациенти, подозрителни за инфекция с хеликобактер и с оплаквания от халитоза и неспецифични афтозо-подобни лезии.

Представява определяне на

- IgG към H.pylori в серум

При голям процентът от изследваните лица установихме хроничната инфекция с H. pylori - 56%. Трябва да отнесем този резултат към данните на Стамболийска, която съобщава само 32% носителство (Стамболийска,2014). Подобни са и нашите предварителни данни за носителство от 22% при скрининговите дентални пациенти. Тук трябва да отбележим предишните наши резултати за 35% честота на H. Pylori при халитоза срещу 27% дори при налични гастроентерологични оплаквания (Krasteva,2013) . Явно е, че изследването на H. pylori при дентални оплаквания трябва да продължи, защото показва значима откриваемост на този патогенен агент.

Ние открихме, че честотата на разпространението на H.pylori е значително по-малка в случаи на високи титри на антитела срещу EBV. По същия начин, пациенти с остра HSV1 или HSV2 инфекция са по-малко склонни да бъдат положителни

за *H. pylori*. Въпросът дали *H. pylori* може да има защитна роля за херпесни инфекции или имунният отговор към тези вируси предпазва от развитието на *H. pylori* инфекция остава неясен.

Епщайн-Бар вирус (EBV) инфекцията е свързана с различни злокачествени заболявания и някои данни показват, че EBV активирането може да се промени естествената история на други съпътстващи инфекции (Hsu JL, 2000).

Това, което е по-интересно, са клиничните последиствия при едновременните или последователни инфекции и реактивирането на EBV и други патогени. Смята се, че едновременната инфекция обикновено е възможна поради подобни пътища на разпространение и е свързана с по-тежко протичане на заболяванията.

Последователното заразяване обаче може да намери домакина в състояние на имунна компетентност. EBV обикновено атакува цялата имунна система и обикновено води до стабилна имунна реакция. Спекулира се, че EBV инфекция може да има защитна роля (Petrova, 2010) за други видове инфекции (Perry, 2016). Същият дискуртан въпрос е видим в литературата за ролята на *H. Pylori*. Има доста няколко проучвания, които показват защитната роля на *H. Pylori* инфекция в различни автоимунни болести (Hasni, 2012).

## ОТНОШЕНИЕ ИНФЕКЦИЯ – ИМУНИТЕТ

### EBV и H.Pylori

Не е учудващо, че повече от 90% от изследваните лица са имали предшестваща инфекция с EBV вирус – факт отразен от стойностите на EBV VCA IgG . Много висок титър антитела ( $> 750$  U/ml) към EBVVCA IgG имат 27% от пациентите. Нашият интерес бе възбуден от факта, че в групата с нива на EBV VCA IgG под 750 U/ml, 31 дентални пациента (65%) бяха положителни за H.pylori и 17 отрицателни. Обратно при високите титри антитела EBV VCA (над 750 U/ml) само 4 бяха позитивни и 12 отрицателни за H.pylori – 25% ( $p=0.0087$ , Fisher's).

Можем да спекулираме, че при лица с напрегнат имунитет срещу EBV инфекцията с H.pylori е по-рядка – 25% vs 65% ( $p<0.01$ ).

### HSV1, HSV 2 и H.Pylori

Честотата на острата HSV при нашите пациенти е 18%. Болните които нямаха остра инфекция с HSV2 бяха положителни за H.pylori в 63%, срещу нито един при обратната комбинация ( $p = 0.0046$ , Fisher's).

Същият феномен наблюдавахме при остра HSV1. Болните с остра инфекция бяха по-рядко положителни за H.pylori от отрицателните за херпес вирусите (1/8 vs 33/52,  $p=0.0164$ , Fisher's).

Въпросът дали H.pylori може да има защитна роля за херпесните инфекции или имунният отговор към тях предпазва от развитието на H.pylori инфекция остава открит и трябва да намери своя отговор.



## ЧОВЕШКИ ПАПИЛОМА ВИРУС

Установяване вероятното носителство на HPV бе предложено на:

1. последователни пациенти посетили денталния кабинет, без анамнестични данни за неоплазми. Представлява определяне в **обща нестимулирана слюнка** на високо рискови и ниско рискови типове HPV у **анамнестично здрави лица**
2. **пациенти с орални и орофарингеални неоплазми** с цел по-точна диагноза и по-адекватно лечение. Представлява определяне **в биопсична тъкан** на високо рискови и ниско рискови типове HPV

В световен мащаб около 5 до 10% от населението е заразено с HPV. При по-голямата част от населението естественият имунитет контролира тяхната инфекция (Vlantis,2016).

Сега се приема, че голям процент от карциномите на шийката на матката и вулвата се дължат на инфекция с HPV16 и 18 (Badoual,2015).

В нашето проучване 90% от позитивните за HPV слюнки са носители на онкогенния генотип HPV 16, което явно налага допълнителни изследвания и консултации със съответни специалисти.

При орофарингеално инфектиране трайно присъствие има само в 10% от случаите с нови инфекции. Някои центрове отчитат повече от 70% от орофарингеалния карцином е свързан с HPV инфекция, а други – само в 20% (Vlantis,2016).

Откриването на HPV16 у пациентите предхожда появата на орофарингеален рак. Свързането с други HPV видове, включително  $\gamma$ 11- и  $\gamma$ 12HPV и  $\beta$ 1HPV5 тип предполагат една по-широка роля за HPV в етиология на плоскоклетъчните карциноми в лицево-челюстната област (Agalliu,2016) . В това отношение нашите резултати при 48 неопластично болни – 16 жени и 32 мъже са близки до тази идея.

В биопсична тъкан установихме носителство на HPV при 11 болни – 23% и то предимно при мъже (9 лица от мъжки пол, спрямо 2 лица от женски пол). Положителните за HPV генотип 16 са само двама, за HPV генотип 11 – 3 ма и най-често за HPV генотип 6 – 6 лица.

Ние установихме, че наличието на HPV в биопсичен материал е два пъти по-често при мъжете.

Ясно е, че HPV е свързан с рак на шийката на матката и то свързано с т.нар. високо онкогени HPV, каквито ние установихме по-скоро в слюнката на здравите, отколкото в биопсичната тъкан на болните.

При нашето изследване възрастта и на 48-те болни с орални и орофарингеални пренеоплазми и неоплазми и на 196-те рутинни дентални пациенти е сходна.

В слюнката на последните установихме положителни за HPV 10 пациента (5.1%), с извества предилекция към мъжки пол (6.06%, срещу 4.6% за жените) при по-напреднала възраст.

Как хората се заразяват с оралена HPV инфекция е широко обсъждана в медицинските изследвания тема. Някои изследвания разкриват, че вирусът може да се прехвърли чрез орален секс с човек, който има генитална HPV инфекция, докато

други твърдят, инфекцията може да се разпространи чрез целувка със заразен с орална HPV инфекция, а напоследък има и по-смели твърдения за пренасяне на вируса при прост контакт (Dahlstrom, 2014).

На първи въпрос за сексуалната ориентация на пациентите 10,5 % от отговорилите определиха себе си с хомосексуална ориентация. Голям е процентът и на неотговорилите на този въпрос 26,3%.

Над 5 интимни партньори са съобщили 26,3%. 36,8 % не са дали отговор на този въпрос. 5% са ползвали плетени сексуални услуги.

Важно е да отбележим, че при 10% от болните при друг член от семейството има наличие на неоплазма в лицево-челюстната област.

Не регистрирахме HPV в слюнката при нито един пациент под 30 години. Възрастта на положителните се движеше от 32 до 75 години.

За разлика от болните с неоплазми при 9 от 10 случая в слюнката при денталните пациенти се намира генотип 16. При 4 от болните – т.е. 40% има по 2 генотипа едновременно, а в единия от случаите има три генотипа.

Наличието на HPV в слюнката отразява наличието на вируса в другите биологични течности и поставя въпроса дали пътя за инфектиране е не само сексуален.

Jong-Myon Bae свързват инфекцията с HPV с рак на белия дроб у непушачите при жените в Корея и препоръчват превентивни мерки (Bae,2015) .

HPV може да бъде намерен в 16.4% от издишания въздух от 89 раково болни от белодробен карцином и то предимно типове HPV 16 и 31 (Carpagnano,2011).

## **ХЕПАТИТ В и С ИНФЕКЦИИ В ДЕНТАЛНАТА ПРАКТИКА**

Предложен като скринингов панел при дентални пациенти

Представява определяне в серум на

- Хепатит В вирус
- Хепатит С вирус

С оглед превенция на трансмисията на инфекциозен материал-болен-дентален лекар-болен, изследвахме лица последователно посетили денталния кабинет за носителство на хепатитните вируси В и С.

### **ХРОНИЧНИ ВИРУСНИ ХЕПАТИТИ**

За хронично носителство на хепатит В установихме само при 1 жена на възраст 44 години или 1% от посетители и нито един от пациентите не бе заразен с хепатит С. Трябва да се отчетат резултатите от стартиралата през 1992г. ваксинация на новородените и подобряване на индивидуалните медицински технологии, които спомагат за ограничаване на инфекцията, докато М. Петрова и сътрудници установяват носителство на HBsAg – в 2.2% от българската популация (Петрова, 2006).

Може би изследването за носителството на хепатит В и С не трябва да е част от стандартния панел и да остане само за случаи, когато клиниката или анамнезата подсказват тази необходимост.

Наличието на вирус В слюнката потвърждава възможността за орално пренасяне на инфекцията. Възможно е слюнката да замени серума в някои случаи (при повече от едно измерване, особено за проследяване лечението на вируса при деца)

## СЛЮНЧЕН БЕЛТЪЧЕН ПАНЕЛ

Този панел бе предложен на пациенти с орални пренеоплазми и неоплазми и на болни с общи заболявания, с цел характеризиране на възпалението и оралната лигавична имунна система.

Представява определяне в обща нестимулирана слюнка на

- С-реактивен протеин
- IgA

Общата нестимулирана слюнка предлага обещаваща диагностична алтернатива за скрининг за възпалителни, метаболитни и сърдечно-съдови рискови фактори особено сред деца и пациенти в напреднала възраст. В съвременната литература има данни за повишени нива на възпалителни биомаркери, включително CRP и цитокини при редица болестни състояния. Слюнчените концентрации на CRP може да предскажат серумни концентрации на CRP с 89% акуратност при по-високи средни серумни стойности (Desai, 2014).

Пациентите с първичните карциноми в устната кухина са имали повишени нива на IgA в серум и в слюнка (Brown, 1975; Watanabe, 1983).

Определихме референтни стойности за CRP в обща нестимулирана слюнка – 0.218 mg/l.

Прави впечатление, че с рязко повишени нива са предимно алергично нелекуваните болните с астма и бронхит. Голяма е честотата на по-високите стойности на слюнчения CRP при нелекуваните тумори

в лицево-челюстната област, като повишението е умерено.

Определените от нас референтни граници ни дават основание да приемем, че стойности за IgA в слюнката над 120 mg/l са повишени. 27 % от всички изследвани имат повишени стойности IgA в слюнката и то предимно при неоплазмите в устната кухина, лицево-челюстната област и имунните болести на червата.

Открихме промяната в нивата на секреторния имуноглобулин А и хармонизиране на неговите нива при локално приложение на пробиотик, проследявайки концентрацията на този белтък в слюнката в продължение на дни.

Калпротектин е протеин, който е представлява над 60% от цитоплазмените белтъци на неутрофилни гранулоцити. По-високите нива калпротектин са открити и при пациенти с кандидоза (Kleinegger, 2001). Подбрахме тест с много висока чувствителност а определяне нивата на калпротектин в обща нестимулирана слюнка. Наблюдавахме видимо снижаване на калпротектина след лечение с азитромицин при болни с гингивит и известно възстановяване на нивата след спиране на лечението.

Съпоставянето на резултатите от едновременното изследване на CRP и IgA слюнката дава добра възможност за характеризирание възпалението и локалната имунна система при различни заболявания.

Използването на „ радарни“ фигури илюстрира значението на тези два лесни за определяне белтъка в слюнката и откроява разликата между различните болести.

## ИЗВОДИ

1. При пациенти с орални прояви и подозрителни за анемични състояния класически дефицит на серумното желязо се установява в 4%, на витамин В12 в 8% от мъжете и 13% от жените, а на фолиева киселина само при -1,6%. Установихме латентни дефицити за желязо : 22 % при жени и 20.5% при мъже, за витамин В12 около 40% за двата пола, за фолиева киселина - 16% и за витамин D - 75%. Не установихме корелационна връзка между възрастта и класическите еритропоетични дефицити.
2. При пациенти с афтозо-подобни лезии, честота на острите вирусни инфекции за CMV е много ниска – около 2%, тази на EBV около 7% и най- висока за двата херпес вируса HSV1 и HSV2 между 18-20%. В половината от случаите на остра вирусна инфекция има съчетание на две остри инфекции. Общата честота на острите херпесни инфекции е 22% за жените и 28% за мъжете. Над 95% от изследваните пациенти са срещали EBV.
3. При пациенти с насочващи оплаквания хроничната инфекцията с *H. pylori* е много честа - повече от половината болни (55%). Пациентите с напрегнат имунитет срещу EBV по-рядко имат инфекция с *H. pylori*. От

друга страна наличната инфекция с хеликобактер вероятно проектира срещу остра херпесна инфекция.

4. В общата нестимулирана слюнка на здрави пациенти се установява HPV при 5%, докато в неопластичната тъкан - 23 %. И в двете изследвани среди по-честа е инфекцията при мъжете. Има различия в HPV генотиповете в обща нестимулирана слюнка на здрави лица и в неопластична тъкан от орални и орофарингеални неоплазми.
5. Концентрацията на HBV ДНК в слюнката е инфекциозна и съответства на серумната концентрация. Промяната на вирусната репликация по време на лечение с интерферон се отразява и на слюнчените концентрации.
6. Съчетаното определяне на CRP и IgA характеризира възпалителния процес и локалната имунна система. Повишени слюнчени нива на CRP се установяват при % от изследваните пациенти. Високите стойности са предимно при нелекувани деца с астма и бронхит, доброкачествени тумори и неоплазми в устната кухина. Повишени слюнчени нива на IgA се диагностицират в % предимно при преканцерози и неоплазми в устната кухина, ортодонтски пациенти, както и при болните с имунни заболявания на червата. Слюнчените нива на



секреторния IgA се хармонизират от *Lb.bulgaricus* и *Str.thermophilus*, както и слюнчените нива на калпротектин спадат при лечение с азитромицин.

## ПРИНОСИ

1. Оптимизирани са панели за орална диагностика на еритропоетични дефицити, афтозо-подобни лезии и лигавична имунна система, съобразени с оплакванията и находките в устната кухина
2. Проследена е промяната в концентрацията на хепатитния вирус В в обща нестимулирана слюнка по време на лечение с интерферон
3. Определена е честота и генотип на HPV в обща нестимулирана слюнка на български пациенти
4. Определен е честота и генотип на HPV в биопсична тъкан на български пациенти с орални и орофарингеални пренеоплазми и неоплазми
5. Определени са рамките на латентни дефицити за еритропоетичните фактори (желязо, В9 и В12)
6. Разкрити са взаимоотношения на хроничните херпесни инфекции ( EBV и херпесните вируси HSV1 HSV2) с *H. pylori*
7. Документирана е промяна на слюнчените нива на калпротектин при антибиотично лечение
8. Доказано е хармонизиране на секреторния IgA при локално приложение на пробиотик

## ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Панов, Вл., **А. Кръстева**, М. Балева, З. Кръстев. Секреторен имуноглобулин А при орално приложение на таблетки Активфлора. – В: Проблеми на денталната медицина, 2007, т. XXXIII, 32–37.
2. **Krasteva, A**, Aleksiev, E, Ivanova, A, Altankova, I, Bocheva, T, Stanimirov, P, Bobeva, A, Janev, N, Kisselova, A. Salivary components of treated cancer patients and patients with precancerous lesions. – IMAV, 2008, 41–44.
3. **Кръстева, А.** Общата нестимулирана слюнка като диагностична среда при имуновъзпалителни заболявания и орални неоплазми. Кандидатска дисертация. София, 2009.
4. **Krasteva, A**, Ivanova, A, Aleksiev, E, Altankova, I, Bocheva, S, Kisselova, A. Local immunity and inflammation in patients with oral squamous cell carcinoma and parotid tumor. – Edizioni Minerva Medica, Journal Chirurgia, Italia, 2009; 22: 9–12 (**IF1,8**)
5. **Krasteva, A**, Grozdev, I, Ivanova, A, Altankova, I, Bocheva, S, Kisselova, A, Tsankov, N. Psoriatic patients and salivary components. – Journal of the Black Sea Countries Networks of dental faculties, Romania, 2009, vol. VIII, № 2.
6. **Krasteva, A**, Perenovska, P, Ivanova, A, Altankova, I, Bocheva, T, Kisselova, A. Alteration in salivary components of children with allergic asthma. – Biotechnol. & Biotechnol. Eq., 2010, 1866–1869.
7. **Krasteva, A**, Kisselova, A. Salivary Acute Phase Proteins as Biomarkers in Oral and Systemic Diseases. – In: Acute Phase Proteins as Early Non-Specific Biomarkers of Human and Veterinary Diseases. Edited

by: Francisco Veas, InTech, 2011. ISBN 978-953-307-586-0.

8. **Кръстева, А.**, А. Киселова, Вл. Панов и кол. Орални лезии. Учебник. Под ред. на З. Кръстев. С.: Ив. Сапунджиев ЕООД, 2011, 296 с. ISBN 978-954-9971-52-1. Код: DENT-109-03.
9. **Krasteva, A**, Panov, VI, Jeleu, D, Antonov, K, Ivanova, A, Krastev, Z. Evaluation of HBV DNA levels in saliva in subjects with different viremia as well as during Peginterferon  $\alpha$ -2a therapy. – J of IMAB, 2013, 19 (4): 355–358.
10. **Krasteva, A**. Epstein– Barr virus and cytomegalovirus – two Herpes viruses with oral manifestations. – J of IMAB, 2013; 19 (4): 359–362.
11. **Krasteva, A**, Kisselova, A, Dineva, V, Panov, VI, Ivanova, A, Krastev, Z. Presence of helicobacter pylori in patients with oral malodor. – J of IMAB, 2013; 19 (4): 419–421.
12. **Krasteva, A**, Kisselova, A, Dineva, V, Ivanova, A, Krastev, Z. Folic acid and vitamin B 12 levels in Bulgarian patients with burning mouth syndrome. – J of IMAB, Jul-Dec, 2013; 19 (4): 422–425.
13. Panov, VI, **Krasteva, A**, Krasteva, A, Ivanova, A, Panov, A, Krastev, Z. Azithromycin decrease saliva calprotectin in patients with periodontal diseases. – J. IMAB , Jan-Jun, 2014; 20 (1): 464–468.
14. **Кръстева, А.**, З. Кълвачев, А. Киселова. Вирусни инфекции в оралната медицина. С.: 2014, Medinform, ЕООД, ISBN 978-619-7164-01-5.
15. **Krasteva, A**, Iliev, A, Rangachev, J, Markov, D, Slavkov, S, Dobrova, A, Galabov, J, Yanev, N, Lozanova, P, Kolarov, R. HPV status of Bulgarian patients with oropharyngeal and oral carcinomas. –

- Oral Diseases, 2016; 22 (2), 14–41.  
doi:10.1111/odi.12559 (IF 2.0).
16. **Кръстева, А.** Анемии и хранителни дефицити в денталната практика. – Варненски медицински форум, 2016, т. 5, бр. 2, 219–225.
  17. **Кръстева, А.** Херпес вирусна инфекция при дентални пациенти. – Варненски медицински форум, 2016, т. 5, бр. 2, 243–248.
  18. **Krasteva, A, Ivanova, A, Kisselova, A.** Prevalence of Epstein–Barr virus and cytomegalovirus in Bulgarian dental patients. – Medinform, 2016; 3 (2): 463–471.
  19. **Кръстева А.** Промени в устната кухина в рутинната дентална практика, свързани с дефицит на фактори на еритропоезата – лабораторно-диагностичен панел. Съвременна медицина 61(2) 2017г. 16-22.
  20. **Krasteva A, M. Petrova.** Dualistic Face of H.pylori and Some Herpes Viruses Co-Infection Observation from Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology: Open Access Volume 6 Issue 4 – 2017

## **УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЕКТИ, СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

1. Тема: „Подбор и оптимизиране на клиничнохимични и имунологични методи за определяне на маркери на възпалението в устната кухина към Медицински университет – София, 2005 г.
2. Тема: „Проучване наличието на хеликобактер пилори в устната кухина при пациенти с доказана инфекция в гастроинтестиналния тракт“, към Медицински университет – София,
3. Тема: „Проучване на оралните лигавични лезии като ранен диагностичен белег на социално значими заболявания”- МОН – 2012 ДФНИ – БО1/009/2012
4. Тема: „Пилотно проучване на човешки папилома вирус и херпес вируси при орални преканцерози и неоплазми“ към Медицински университет – София, 2015г.

**Изказвам дълбока благодарност на проф. д-р Ангелина Киселова-Янева, дмн, за това, че имах възможността да работя под нейно ръководство в атмосфера на толерантност, коректност, критичност и взаимна помощ.**

