

УДК 61:577.1+612.313

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

© 2012 г. И.А. Фотина

Нижегородская государственная медицинская академия,
пл. Минина и Пожарского, 10/1, г. Нижний Новгород, 603005,
rector@gma.nnov.ru

Nizhny Novgorod State Medical Academy,
Minin and Pozharskiy Sq., 10/1, Nizhny Novgorod, 603005,
rector@gma.nnov.ru

Проведён сравнительный анализ сыворотки крови и ротовой жидкости больных сахарным диабетом 2-го типа. Контрольную группу составили здоровые люди. Анализировались основные показатели углеводного и липидного обмена, а также процессы перекисного окисления липидов. Установлено, что биохимические показатели ротовой жидкости были значительно выше, чем крови. Атрауматичность, отсутствие стресса при заборе материала, достоверные изменения биохимических показателей, возможность многократного повторения исследования, низкий риск инфицирования медперсонала позволяют использовать ротовую жидкость для неинвазивной диагностики сахарного диабета 2-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, ротовая жидкость, неинвазивный метод, окислительный стресс, свободнорадикальные процессы, малоновый диальдегид.

This work is about of actual problem of our days – a diabetes mellitus. The comparative analysis of blood serum and an oral liquid 2 types sick of diabetes mellitus has been carried out. The control group was consisted of healthy people. The basic indicators carbohydrate and lipidic exchange, and also processes lipid peroxidation were analyzed. It is established that biochemical indicators of an oral liquid were considerably above, than blood. Atraumatic, absence of stress during the material sampling, authentic changes of biochemical indicators, possibility of reiteration of research, the low risk of infection of medical staff – allows to use an oral liquid for noninvasive diagnostics of a diabetes mellitus 2 types.

Keywords: diabetes mellitus, mouth liquid, non-invasive method, oxidative stress, free radical processes, malondialdehyde.

Сахарный диабет (СД) представляет собой серьезную медико-социальную проблему, что обусловлено его высокой распространенностью, сохраняющимися темпами роста числа больных, хроническим течением, определяющим кумулятивный характер заболевания, высокой инвалидизацией больных и необходимостью создания системы специализированной помощи [1]. Достижения современной медицины за последние несколько десятилетий позволили разработать алгоритмы успешной профилактики, диагностики и лечения больных сахарным диабетом и добиться увеличения продолжительности жизни [2].

С начала XX в. анализ свойств слюны считается неинвазивным способом измерения уровня широкого спектра гормонов, содержания лекарственных средств и антител [3]. Слюна часто используется для диагностики системных заболеваний, поскольку легко может быть взята и содержит компоненты сыворотки, которые поступают из местных кровеносных сосудов

слюнных желез, а также попадают в полость рта вместе с десневой жидкостью [4].

Смешанная слюна, или ротовая жидкость, представляет собой суммарный секрет всех слюнных желёз, включающий детрит полости рта, микрофлору, содержимое десневых карманов, десневую жидкость, продукты жизнедеятельности микрофлоры мягкого зубного налёта, распада мигрирующих из слизистой оболочки и выделившихся со слюной лейкоцитов, остатки пищевых продуктов и др. [5]. В её состав входят неорганические элементы (фосфор, кальций, калий, натрий, фтор и др.), органические вещества белки, ферменты, гормоны, липиды, углеводы и другие, а также продукты перекисного окисления липидов, циклические нуклеотиды и другие. Это создает возможность изучения показателей обмена в ротовой жидкости при проведении, прежде всего, скрининговых исследований [6].

Биохимический состав и свойства ротовой жидкости у больных сахарным диабетом достоверно по

всем показателям отличаются от таковых у соматически здоровых лиц. Например, увеличение содержания глюкозы практически отличается на порядок по сравнению со здоровыми лицами [7].

Перспективно исследование слюны для изучения свободнорадикальных процессов в организме и функций антиоксидантных систем.

Свободнорадикальное окисление непрерывно протекает в норме во всех тканях и при низкой интенсивности является одним из типов нормальных метаболических процессов [8]. В процессе перекисного окисления липидов образуются гидроперекиси, свободные радикалы, перекисные радикалы, малоновый диальдегид и др. В физиологических условиях перекиси являются необходимыми участниками биосинтеза простагландинов, стероидных гормонов, тромбоксанов, реакций окислительного фосфорилирования, процессов распространения возбуждения и торможения по нервным волокнам и в тканях центральной нервной системы. Перекисные радикалы, образуясь в результате соединения свободных радикалов с молекулой кислорода, взаимодействуют с молекулами жирных кислот, образуя высокотоксичные гидроперекиси и новый свободный радикал. Ингибиторами свободнорадикального окисления являются антиоксиданты (витамин Е, инсулин и др.), обладающие способностью реагировать с перекисными радикалами липидов и прерывать цепную реакцию окисления. Повреждающее действие гипергликемии приводит к увеличению образования активных форм кислорода и развитию окислительного стресса, который сопровождается резкой интенсификацией свободнорадикальных процессов, снижением активности антиоксидантной защиты, развитием эндотоксемии за счет накопления продуктов перекисидации [9]. Образующиеся в избытке продукты перекисного окисления оказывают цитотоксическое действие на эндотелиальные клетки сосудов, что ведет к повреждению сосудистой стенки. Первичные продукты ПОЛ – гидроперекиси липидов, будучи нестойкими, довольно скоро разрушаются с образованием вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Среди них наиболее известен малоновый диальдегид (МДА), определяемый по реакции с тиобарбитуровой кислотой.

Работ, посвященных исследованию свободнорадикального окисления и изменению биохимического состава в сыворотке крови при сахарном диабете 2-го типа, довольно много [10, 11]. Однако данных о развитии окислительного стресса, изменении углеводного и липидного обменов в ротовой жидкости недостаточно.

Целью данной работы является изучение основных биохимических показателей в сыворотке крови и

ротовой жидкости в норме и у больных сахарным диабетом 2-го типа.

Материалы и методы

В данное исследование было включено 60 пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (35 женщин и 25 мужчин). В 1-ю группу вошли пациенты с наличием сахарного диабета 2-го типа – 50 чел. (66,7 %), средний возраст составил $59,3 \pm 6,6$. 2-ю группу составили здоровые люди – 30 чел. (33,3 %), средний возраст – $49,5 \pm 4,6$. Анализировались образцы сыворотки венозной крови и ротовой жидкости пациентов с подтвержденным диагнозом.

Кровь для исследования брали утром из локтевой вены, после 12-часового голодания. Образцы крови центрифугировали при 1500 об/мин 10 мин. Ротовую жидкость собирали натошак, предварительно прополоскав рот водой, путём сплёвывания в пробирки в течение 10 мин. Образцы ротовой жидкости подвергали замораживанию не менее 3 ч. Затем их размораживали, тщательно перемешивали и центрифугировали в течение 5 мин до образования супернатанта. Для исследования использовали прозрачную надосадочную жидкость.

Показатели глюкозы, общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), лактата, гликозилированного гемоглобина (HbA1c) определяли на автоматическом анализаторе для биохимического и иммунотурбидиметрического анализа «Vitalit 1000» («Витал», Россия). Использовались реактивы фирмы «Витал диагностика». Липопропротеиды высокой плотности (ХС ЛПВП), пирувата, МДА выполняли на КФК-3. Исследования пирувата проводили по методу Умбрайт, а МДА – с использованием тиобарбитуровой кислоты.

Статистический анализ проведен с использованием программ Microsoft Excel, Statistica 6.0. Использовались статистические характеристики: средняя арифметическая (М), стандартная ошибка среднего арифметического (m). Различия между средними значениями отдельных показателей оценивались с помощью среднего квадратического отклонения, t-критерия Стьюдента. Достоверными считали результаты при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При сахарном диабете 2-го типа показатели состояния углеводного и липидного обмена являются значимыми факторами риска развития сосудистых осложнений диабета.

Исследуемые показатели крови у всех обследованных больных были изменены (табл. 1).

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови больных сахарным диабетом 2-го типа

Группа обследования	Глюкоза, ммоль/л	ХС, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ХС ЛПНП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	HbA1c, %	Лактат, ммоль/л	Пируват, ммоль/л	МДА, мкмоль/л
1-я	$10,7 \pm 1,74^*$	$7,4 \pm 0,95^*$	$1,25 \pm 0,146^*$	$4,27 \pm 0,245^*$	$2,87 \pm 0,89^*$	$8,03 \pm 0,67^*$	$2,65 \pm 0,21$	$0,29 \pm 0,035$	$6,98 \pm 0,51^*$
2-я	6,1	5,2	1,09	3,5	1,7	4–5,5	0,5–2,2	0,1	<1

* – статистически значимое различие между биохимическими показателями у больных сахарным диабетом 2-го типа и здоровыми лицами, $p \leq 0,05$.

Средний уровень глюкозы был увеличен в 1,75 раза по сравнению с рекомендуемым значением, гликированного гемоглобина – в 1,8. Гликозилированный гемоглобин является более чувствительным маркером повышения гликемии и более полно отражает реальное состояние углеводного обмена. Общий холестерин повышен в 1,42 раза, триглицериды – в 1,68, липопротеиды низкой плотности (ХС ЛПНП) – в 1,1 раза. Учитывая достоверное увеличение уровней ТГ, общего ХС, ХС ЛПНП при снижении ХС ЛПВП, можно с уверенностью говорить о наличии у обследованных больных атерогенных дислипидемий и связанных с этим высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений. Повышенный уровень ХС ЛПНП приводит к тому, что они не могут поступать в ткани рецепторным путем, а начинают удаляться фагоцитирующими клетками. С функционированием фагоцитирующих клеток и высоким уровнем липидов, особенно ТГ, связаны интенсификация свободнорадикальных реакций и развитие окислительного стресса.

Для подтверждения окислительного стресса у больных сахарным диабетом 2-го типа исследовали состояние антиоксидантной системы. Определяли величину МДА. Его содержание было повышено в 6,9 раза, что

свидетельствует об избытке продуктов перекисного окисления липидов, снижении антиоксидантной активности и увеличивающемся цитотоксическом действии на эндотелиальные клетки сосудов. Таким образом, на основании проведенного биохимического исследования состояния антиоксидантной системы сыворотки крови можно сделать заключение, что для больных сахарным диабетом 2-го типа характерной является активация свободнорадикальных процессов при снижении общей антиоксидантной системы защиты.

Уровни лактата и пирувата были увеличены соответственно в 1,2 и 2,9 раза. Это связано с развитием гипоксии тканей, обусловленной недостаточным поступлением кислорода и глюкозы в клетку, глюкозотоксичностью, конечным гликированием, более прочной связью кислорода с гликированным гемоглобином, т.е. значительными нарушениями в обмене углеводов в условиях недостаточного действия инсулина [12].

В ротовой жидкости наблюдалось повышение уровней глюкозы в 4,0 раза, общего ХС – в 3,5, ТГ – в 5,8, лактата – в 2,8, МДА – в 3,4 раза. Это достоверно подтверждает изменение биохимических параметров не только в сыворотке, но и в ротовой жидкости (табл. 2).

Таблица 2

Биохимические показатели слюны больных сахарным диабетом 2-го типа (М±m)

Группа обследованных	Глюкоза, ммоль/л	ХС, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	Лактат, ммоль/л	МДА, мкмоль/л
1-я	0,275±0,028*	0,147±0,048*	0,119±0,044*	0,142±0,048*	1,29±0,485*
2-я	0,068±0,005	0,042±0,003	0,007±0,002	0,06±0,019	0,428±0,013

* – достоверность различий по сравнению со здоровыми ($p \leq 0,05$).

Из вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

1. На основании проведенных исследований у больных сахарным диабетом 2-го типа биохимические показатели оказались достоверно выше, чем у здоровых людей. Значительно повышены уровни глюкозы, триглицеридов, общего холестерина. В ротовой жидкости сдвиги биохимических показателей оказались более выражены, чем в крови.

2. Слюна в качестве материала для подобного исследования не уступает сыворотке, а соответственно является более предпочтительной для использования.

3. Фактический материал, полученный нами, свидетельствует о перспективности изучения ротовой жидкости не только в плане уточнения её биологических функций в организме и обеспечения динамического постоянства внутренней среды, но и с диагностической целью как альтернативы крови. Простота и неинвазивность получения ротовой жидкости позволяют рекомендовать исследование её показателей в общем плане лечения больных.

Литература

1. Демидова Т.Ю. Сосудистые осложнения сахарного диабета 2 типа за гранью гликемического контроля // Сахарный диабет. 2010. № 3. С. 111–116.

2. Пономарёва А.И., Компаниец О.Г., Семенихина Т.М. Клиническая фармакология инсулинов, пероральных сахароснижающих лекарственных средств. Краснодар, 2009. 75 с.
3. Tabak L.A. A revolution in biomedical assessment: the development of salivary diagnostics // J. Dent Educ. 2001. Vol. 65 (12). P. 1335–1339.
4. Kaufman E., Lamster I.B. The diagnostic applications of Saliva – a review // Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 2002. Vol. 13 (2). P. 197–212.
5. Боровский Е.В., Леонтьев В.К. Биология полости рта. М., 2001. 237 с.
6. Носков В.Б. Слюна в клинической лабораторной диагностике (обзор литературы) // Клини. лаб. диагностика. 2008. № 6. С. 14–17.
7. Рыскина Е.А. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2007. 171 с.
8. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости / Ф.Н. Гильмиярова [и др.] / под ред. Ф.Н. Гильмияровой. М., 2006. 312 с.
9. Сахарный диабет: ангиопатии и окислительный стресс: пособие для врачей / И.И. Дедов [и др.]. М., 2003. 85 с.
10. Балаболкин М.И. Диабетология. М., 2000. 672 с.
11. Комарова Л.Г., Алексеева О.П. Саливология. Н. Новгород, 2006. 180 с.
12. Колбина М.В., Долгих В.Т., Чесноков В.И. Метаболические и функциональные изменения сердца при сахарном диабете 2-го типа и абдоминальном ожирении у крыс // Бюл. сиб. медицины. 2003. № 3. С. 30–36.

