

*В.Л. Дяченко, Є.М. Решетнік, В.А. Барановський, С.П. Весельський,
М.Ю. Макаруч*

АМІНОКИСЛОТИ СЛИНИ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна

Реферат. Досліджено амінокислотний склад слини хворих на цукровий діабет 2 типу. Виявлено, що при цукровому діабеті 2 типу знижується більш ніж удвічі вміст амінокислот у слині. Істотно змінюється співвідношення різних фракцій амінокислот із найзначнішим зменшенням вмісту аспартату і гліцину (у 8,8 разів, ($p < 0,001$)).

Ключові слова: амінокислоти, слина, цукровий діабет

Цукровий діабет – тяжке захворювання, наслідком якого є множинні порушення всіх метаболічних процесів у організмі людини. Наведемо приклад: у ротовій порожнині патологічні зміни прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, тканинна гіпоксія, що розвиваються при цукровому діабеті 1 і 2 типів виявляються у зростанні концентрації малонового діальдегіду та сечової кислоти, зменшенні вмісту глутатіону в слині та її закисленні ($pH < 6,2$), що з рештою веде до демінералізації емалі та розвитку карієсу [1, 8, 10, 18]. З іншого боку, цукровий діабет – хронічне захворювання, яке при постійному моніторингу стану хворого та дотриманні цілої низки вимог до їх способу життя дозволяє бути активним членом суспільства. Необхідність розробки простих, легко виконуваних, недорогих, високоінформативних і неінвазивних способів діагностичного контролю хворих на цукровий діабет спонукає дослідників до постійного пошуку нових ефективних методів щоденного обстеження пацієнтів із цим діагнозом [9, 15, 16]. Так, доводиться доцільність визначення концентрації глюкози і HbA_{1c} в слині, оскільки ці показники статистично значимо корелюють із вмістом вказаних речовин у крові [7]. Оскільки ферментативний склад змішаної слини є відображенням метаболізму органів порожнини рота, інформативними діагностичними тестами при цукровому діабеті є визначення активності цитозольних ферментів (ЛДГ, АсАТ і АлАТ,) та імунореактивного інсуліну в слині [11, 13].

Білковий обмін (як обмін речовин в цілому) при цукровому діабеті характеризується значними змінами. Однією із характеристик, тісно пов'язаних із обміном білків у організмі та в ротовій порожнині, є амінокислотний склад слини [3, 12]. Рівень вільних амінокислот у слині людини коливається у межах 1,5-2,2 ммоль/л. Співвідношення різних амінокислотних фракцій у слині залежить від багатьох факторів, зокрема від віку людини та різних метаболічних порушень [14, 17, 15]. Таким чином, для контролю стану хворих на цукровий діабет визначення

вмісту амінокислот у слині може стати цінним неінвазивним підходом, що відобразить зміни внутрішнього середовища та, частково, певні аспекти білкового обміну.

Мета роботи - виявити зміни у концентрації окремих вільних амінокислот у слині хворих на цукровий діабет 2 типу порівняно із показниками контрольної групи осіб, що не страждають на вказане захворювання.

М а т е р і а л т а м е т о д и

За допомогою хроматографічного методу із застосуванням високочутливого барвника нінгідрину у слині, отриманій натше, від 11 обстежених осіб (9 жінок і 3 чоловіка) із цукровим діабетом 2 типу визначено дванадцять окремих фракцій вільних амінокислот [2, 4, 6], а саме: цистеїн і цистин, орнітин і лізин, гістидин і таурин, аргінін і серин, аспарагін і гістамін, аспарагінова кислота і гліцин, глютамінова кислота і треонін, пролін і оксипролін, аланін і метіонін, валін і тирозин, лейцин і триптофан, ізолейцин і фенілаланін. Отримані значення концентрації амінокислот у слині хворих порівнювали із відповідними показниками 18 осіб, що не страждають на цукровий діабет. Статистична обробка цифрового матеріалу здійснена за допомогою пакету програм STATISTICA 6.0 (Stat Soft, USA). Для оцінки нормальності розподілу використовувався тест Шапіро-Вілка. Для оцінки значущих відмінностей між вибірками з ненормальним розподілом даних використовувався критерій Манна-Вітні. Результати представлені у вигляді Me [25; 75] (Me – медіана; 25 і 75 – 1-й і 3-й квартилі). Вірогідними вважалися відмінності між даними при $p < 0,05$ [19].

Р е з у л ь т а т и т а о б г о в о р е н н я

Виявлено, що у слині хворих на цукровий діабет 2 типу знижується вміст більшості визначених нами амінокислот. Найзначніше зниження відмічене для фракції аспарагінової кислоти і гліцину: порівняно із контролем їх концентрація зменшується в 8,8 разів ($p < 0,001$) (таб.).

При цукровому діабеті 2 типу порівняно із показниками осіб контрольної групи в 3,6 разів ($p < 0,05$) зменшується концентрація ізолейцину і фенілаланіну, а вміст гістидину і таурину – в 2,8 разів ($p < 0,001$). Також у слині осіб, що страждають на цукровий діабет 2 типу концентрація проліну та оксипроліну зменшується на 58,8% ($p < 0,01$), аргініну і серину – на 46,1% ($p < 0,01$), валіну з тирозином – на 43,4% ($p < 0,05$), глюта-

Таблиця. Вміст окремих фракцій амінокислот (мг%) у слині хворих на цукровий діабет 2 типу (Ме [25; 75] (медіана; 1-й і 3-й квартилі)), n=29

Амінокислоти	Контроль	Цукровий діабет II типу	Δ відносно контролю, %
цистеїн + цистин	0,32 [0,18; 0,42]	0,24 [0,11; 0,65]	-25
орнітин + лізин	0,12 [0,07; 0,19]	0,09 [0,04; 0,23]	-25
гістидин + таурин	0,17 [0,08; 0,25]	0,06*** [0,02; 0,18]	-64,7
аргінін + серин	7,1 [4,98; 9,11]	3,83*** [0,92; 12,89]	-46,1
аспарагін + гістамін	0,18 [0,12; 0,26]	0,16 [0,01; 0,56]	-11,1
аспарагінова кислота + гліцин	5,74 [3,61; 8,03]	0,65*** [0,16; 5,65]	-88,7
глутамінова кислота + треонін	4,57 [3,44; 6,21]	3,17* [0,45; 22,70]	-30,6
пролін + оксипролін	1,14 [0,74; 1,49]	0,47** [0,29; 2,16]	-58,8
аланін + метіонін	0,55 [0,29; 0,81]	0,74 [0,11; 3,62]	34,5
валін + тирозин	0,83 [0,56; 1,55]	0,47* [0,29; 2,05]	-43,4
лейцин + триптофан	0,35 [0,23; 0,63]	0,38 [0,03; 1,46]	8,6
ізолейцин + фенілаланін	1,69 [0,65; 2,25]	0,47* [0,12; 3,17]	-72,2

Примітки: *** p<0,001, ** p<0,01, * p<0,05 щодо контролю

мінової кислоти і треоніну – на 30,6% (p<0,05) (див. табл.).

Таким чином, у хворих на цукровий діабет 2 типу спостерігається зменшення більш ніж удвічі сумарного вмісту амінокислот у слині. Таке зменшення перш за все відбувається за рахунок статистично значущого зниження концентрації

аспарагінової кислоти, гліцину, ізолейцину, фенілаланіну, гістидину, таурину, проліну, оксипроліну, аргініну, серину, валіну, тирозину, глутамінової кислоти і треоніну.

У хворих на цукровий діабет 2 типу істотно змінюється співвідношення різних фракцій амінокислот у слині (див. рис.).

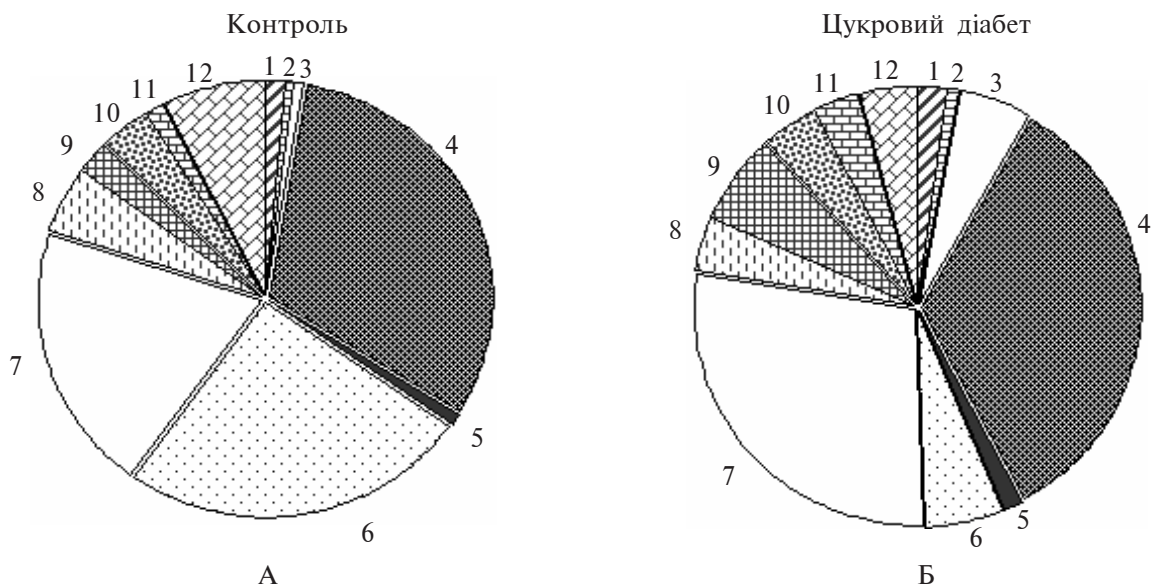


Рисунок. Відсоткове співвідношення окремих фракцій амінокислот у слині осіб контрольної групи (а) (n=18) та у хворих на цукровий діабет 2 типу (б) (n=11).

Примітка: 1 - цистеїн і цистин, 2 - орнітин і лізин, 3 - гістидин і таурин, 4 - аргінін і серин, 5 - аспарагін і гістамін, 6 - аспарагінова кислота і гліцин, 7 - глутамінова кислота і треонін, 8 - пролін і оксипролін, 9 - аланін і метіонін, 10 - валін і тирозин, 11 - лейцин і триптофан, 12 - ізолейцин і фенілаланін

Серед визначених нами у зразках слини осіб контрольної групи найбільший вміст складових відзначено у трьох амінокислотних фракціях: аргініну і серину (7,1 [4,98; 9,11] мг%), аспарагінової кислоти і гліцину (5,74 [3,61; 8,03] мг%) та глютамінової кислоти і треоніну (4,57 [3,44; 6,21] мг%). Указані амінокислоти складають 76,4% від усіх амінокислот слини. А саме, вміст аргініну і серину становить 31,2%, аспарагінової кислоти і гліцину – 25,22%, а глютамінової кислоти і треоніну – 20,08% від загального вмісту амінокислот у слині (див. рис.).

Натомість у слині осіб, які страждають на цукровий діабет 2 типу превалюють дві фракції амінокислот: аргінін і серин (3,83 [0,92; 12,89], 35,69% від загального вмісту) та глютамінова кислота і треонін (3,17[0,45; 22,70], 29,54% від загальної кількості амінокислот). Зауважимо, що у контролі відсоток цих двох фракцій становив 56,42, а у разі цукрового діабету 2 типу – 65,23% від загальної кількості амінокислот. Тоді як кількість аспарагінової кислоти і гліцину становить лише 6,06% від усіх амінокислот слини хворих (див. рис.).

Зауважимо також, що відповідно до отриманих нами результатів не спостерігається статистично значимих змін у концентрації складових фракцій цистеїну і цистину (див. табл.). Загально відомо, що цистеїн має значні антиоксидантні властивості. На жаль, можливі методичні підходи не дозволили нам визначити вміст окремо відновленої та окисленої форм компонентів суміші цистеїну і цистину в пробах слини. Однак ґрунтуючись на визначених нами показниках, можна припустити, що значних змін у цій ланці реакцій, які забезпечують антиоксидантно-прооксидантну рівновагу не відмічено. У слині хворих на цукровий діабет 2 типу також істотно не змінюються концентрації орнітину і лізину та аспарагіну і гістаміну, хоча ці показники і були нижчі ніж в контрольній групі обстежених. Слід відзначити, що хоча у пробах слини хворих на цукровий діабет 2 типу не виявлено статистично значних змін вмісту аланіну і метіоніну та лейцину і триптофану, їх концентрація дещо перевищує контрольні показники.

Таким чином, проведені дослідження показали, що при цукровому діабеті 2 типу знижується більш ніж удвічі загальний вміст амінокислот у слині хворих порівняно із показниками контрольної групи обстежуваних. У хворих на цукровий діабет 2 типу істотно змінюється співвідношення різних фракцій амінокислот слини із найзначнішим зменшенням концентрації в ній аспарагінової кислоти і гліцину. Виявлені відмінності між показниками вмісту окремих вільних амінокислот слини здорових осіб та тих, які страждають на цукровий діабет 2 типу свідчать про значні порушення внутрішнього середовища і, зокрема, білкового обміну при діабеті 2 типу та вказують на необхідність подальших досліджень і детальної розробки застосованого нами методичного підходу для впровадження неінвазивних та інформативних методів обстеження з відповідною подальшою корекцією обміну речовин пацієнтів із зазначеною патологією.

V. L. Diachenko, E. M. Reshetnik, V. A. Baranovsky, S. P. Veselsky, M. Ju. Saliva Makarchuk

Amino acids composition in the type 2 diabetics patients

It was investigated the amino acids contents of saliva in the type 2 diabetics patients. The results showed decreasing salivary levels of all amino acids in the type 2 diabetics patients. Salivary concentration of aspartate and glycine was significantly decreased (8,8 times ($p < 0,001$)) (University clinic. — 2013. — Vol.9, №2. — P. 174-177).

Key words: amino acids, saliva, diabetes.

В. Л. Дяченко, Е. Н. Решетник, В. А. Барановский, С. П. Весельский, Н. Е. Макачук

Аминокислоты слюны больных сахарным диабетом 2 типа

Исследован аминокислотный состав слюны пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа. Полученные результаты показывают, что содержание аминокислот в слюне больных диабетом 2 типа существенно снижается. Особенно значительно уменьшается концентрация аспартата и глицина (в 8,8 раза в относительно контроля, ($p < 0,001$)) (Университетская клиника. — 2013. — Т.9, №2. — С. 174-177).

Ключевые слова: аминокислоты, слюна, сахарный диабет.

ЛІТЕРАТУРА

1. Александров Е. И. Течение кариеса и заболеваний пародонта при сахарном диабете // Медико-социальные проблемы семьи. — 2011. — Т. 16, № 1. — С. 129-133.
2. Атабеков Т. А. Опыт практического определения аминокислот методом хроматографии на бумаге // Лабораторное дело. — 1984. — № 12. — С. 766-767.
3. Дяченко В. Л., Решетник Е. М., Весельский С. П., Макачук М. Ю. Зміни спектру вільних амінокислот у слині хворих із гастроентерологічною патологією // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології. VI Міжнародна наукова конференція. Київ. — 2012. — С.84.
4. Елисеева О. И. К методике количественного анализа свободных аминокислот сыворотки крови // Лабораторное дело. — 1974. — № 7. — С. 421-425.
5. Климовский В. Г. Применение математической статистики в медико-биологических исследованиях — Донецк, 2004. — 215с.
6. Коробейникова Э. М., Мещерякова Г. В. Определение содержания свободных аминокислот в сыворотке крови и моче здоровых детей // Лабораторное дело. — 1981. — № 4. — С. 221-224.
7. Abikshyeet P., Rameshy V., Nirima O. Glucose estimation in the salivary secretion of diabetes mellitus patients // Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy. — 2012. — Vol. 2012(5). — P. 149 — 154.
8. Al-Rawi Natheer H. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics // Diabetes and Vascular Disease Research. — 2011. — Vol. 8 — P. 22-28.
9. Border M. B. Exploring salivary proteomes in edentulous patients with type 2 diabetes / Border M. B., Schwartz S., Carlson J. [et al] // Mol. Biosyst. — 2012. — Vol. 8 (4). — P. 1304-1310.
10. Gumus P. Salivary antioxidants in patients with type 1 or 2 diabetes and inflammatory periodontal disease: a case-control study / Gumus P., Buduneli N., Cetinkalp S. [et al] // J. Periodontol. — 2009. — Vol. 80 (9). — P. 1440-1446.
11. Gursoy U. K., Marakoglu I., Ersan S. Periodontal status and cytoplasmic enzyme activities in salivary amino acid of type 2 diabetic and/or obese patients with chronic periodontitis // J. Int. Acad. Periodontol. — 2006. — Vol. 8(1). — P.2-5.
12. Kamura Y. Diurnal changes in salivary amino acid concentrations / Kamura Y., Kodama H., Satoh T. [et al] / In vivo. — 2010. — Vol. 24(6). — P.837-842.
13. Musumeci V.S. Aminotransferases and lactate dehydrogenase in saliva of diabetic patients / Musumeci V., Cherubini P.,

- Zuppi C. [et al] // J. Oral. Pathol. Med. – 1993. – Vol. 22(2). – P.73-76.
14. *Panda Abikshyeet, Venkatapath Rameshy, Oza Nirima* Glucose estimation in the salivary secretion of diabetes mellitus patients // Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy. – 2012. – Vol. 2012(5). – P. 149 – 154.
15. *Rao P. V.* Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes / Rao P. V., Reddy A. P., Lu X. [et al] // J. Proteome Res. – 2009. – Vol. 8(1). – P. 239-245.
16. *Scott D. A.* Diabetes-related molecular signatures in infrared spectra of human saliva / Scott D. A., Renaud D. E., Krishnasamy S. [et al] // Diabetology & Metabolic Syndrome. – 2010. – 2:48.
17. *Tanaka S.* Changes in salivary amino acid composition during aging/ Tanaka S., Machino M., Akita S. [et al] // In vivo. – 2010. – Vol. 24(6). – P. 853-856.
18. *Venza M.* Salivary histamine level as a predictor of periodontal disease in type 2 diabetic and nondiabetic subjects / Venza M., Visalli M., Cucinotta M. [et. al.] // Journal of Periodontology. – 2006. – Vol. 77, № 9. – P. 1564-1571.
19. *Wang T. J.* Metabolite profiles and the risk of developing diabetes / Wang T. J., Larson M. G., Vasan R. S. [et al] / Nature Medicine. – 2011. – Vol. 17. – P. 448–453.