

ФОТИНА

ИРИНА АЛЕКСАНДРОВНА

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ И СЛЮНЫ У ЗДОРОВЫХ И
БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА**

03.01.04 – биохимия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Нижний Новгород

2012

Работа выполнена на кафедре клинической лабораторной диагностики в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
профессор

Конторщикова К.Н.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор

Корягин А.С.

доктор биологических наук

Обухова Л.М.

Ведущее учреждение: Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону

Защита состоится « » апреля 2012 г. в часов на заседании диссертационного совета Д.212.166.15 Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, г.Нижний Новгород, пр. Гагарина, д.23, корп. 1, биологический факультет.

Автореферат разослан « » _____ 2012 г.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, г.Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Ученый секретарь диссертационного совета

Кандидат биологических наук, доцент

**Копылова Светлана
Вячеславовна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования.

Сахарный диабет (СД) признан экспертами ВОЗ неинфекционной эпидемией и представляет собой серьезную медико–социальную проблему. Частота СД составляет около 6–10% среди взрослого трудоспособного населения и от 8,9 до 16% – среди пожилых людей (Рунихин, Новикова, 2007, Сунцов, 2011). Вследствие старения населения, повышения распространенности ожирения, гиподинамии, употребления высокоуглеводистой и жирной пищи к 2025 г. во всех странах мира сахарным диабетом будут болеть более 380 млн. человек (Shaw, 2010).

На долю сахарного диабета II типа, как правило, приходится 90%. Это заболевание чаще развивается у лиц старше 40 лет. У большинства больных отмечается избыточная масса тела или ожирение, кроме того, они часто ведут малоподвижный образ жизни. Важно отметить, что фактическая распространенность СД II типа превышает регистрируемую по обращаемости в 2–3 раза. Кроме того, около 200 млн. человек в мире имеют нарушенную толерантность к глюкозе (НТГ), которая непосредственно предшествует возникновению СД II типа (International Diabetes Federation, 2009). Несмотря на предпринимаемые профилактические меры, диагностические исследования, назначаемое лечение, результаты по снижению инвалидизации и летальности больных сахарным диабетом все еще остаются неудовлетворительными.

Диагностика сахарного диабета, последующий контроль за состоянием больного, оценка эффективности проводимой терапии требуют постоянных заборов крови для анализа. Перспективным направлением современной лабораторной диагностики является поиск новых неинвазивных, безболезненных и удобных для пациента экспресс-методов. В этом плане интересным объектом представляется слюна (ротовая жидкость). Применение

ротовой жидкости до сих пор не нашло широкого применения в диагностике заболеваний, хотя неинвазивность, доступность получения биоматериала открывают широкие перспективы для исследования этого биологического объекта (Комарова, 2006).

По многим клинико-биохимическим показателям исследование ротовой жидкости имеет преимущества по сравнению с рутинными методами лабораторного анализа крови, полученной из пальца или из вены: использование ротовой жидкости безопасно, возможен мониторинг и использование пациентами для самоконтроля. Ротовая жидкость обеспечивает связь организма с внешней и внутренней средой. В её состав ротовой жидкости входят органические и неорганические компоненты из слюнных желёз, сыворотки крови и тканей полости рта. Это создаёт возможность изучения показателей обмена в ротовой жидкости при проведении скрининговых обследований (Носков, 2008). Многие исследователи изучают состав и свойства ротовой жидкости при стоматологической патологии. Изменениям биохимических показателей ротовой жидкости при соматических заболеваниях отводится меньше внимания. В связи с этим должны быть получены ответы на вопросы: адекватно ли отражает биохимический состав ротовой жидкости таковой в сыворотке крови у практически здоровых лиц и вносит ли патология углеводного обмена, в частности заболевание сахарным диабетом II типа, какие-либо изменения в данную взаимосвязь.

Повреждающее действие гипергликемии приводит к увеличению образования активных форм кислорода и развитию окислительного стресса, который сопровождается резкой интенсификацией свободнорадикальных процессов, снижением активности антиоксидантной защиты, появлением эндотоксемии за счет накопления продуктов пероксидации (Ведунова, 2008). Отсюда важным представляется анализ процессов окислительного стресса

при данном заболевании. Работ, посвященных исследованию свободнорадикального окисления и изменению биохимического состава в сыворотке крови при сахарном диабете II типа довольно много (Балаболкин, 2000, Дедов, 2003, Mohamed A.K., Bierhaus A., Schiekofer S. et al., 1999). Однако данных о развитии окислительного стресса, изменении углеводного и липидного обменов в ротовой жидкости явно недостаточно. Это определило цель и задачи исследования.

Целью исследования является сравнительный анализ изменений основных биохимических показателей сыворотки крови и ротовой жидкости в норме и у больных сахарным диабетом II типа.

Задачи исследования:

1. Оценить выраженность изменений биохимических показателей углеводного и липидного обмена в ротовой жидкости у здоровых и больных сахарным диабетом II типа в сравнении с показателями сыворотки крови.
2. Изучить уровни продуктов ПОЛ в сыворотке крови и ротовой жидкости у здоровых и больных сахарным диабетом II типа.
3. Проанализировать корреляционную зависимость изменений биохимических показателей в сыворотке крови и ротовой жидкости у больных сахарным диабетом II типа.

Научная новизна.

Впервые дан сравнительный анализ содержания биохимических компонентов сыворотки крови и ротовой жидкости. При этом установлено, что уровни анализируемых биохимических показателей ротовой жидкости больных сахарным диабетом II типа оказались достоверно выше, чем у здоровых людей. Показана тесная взаимосвязь протекания биохимических процессов в сыворотке и ротовой жидкости. Впервые при анализе ротовой жидкости дана оценка интенсивности свободнорадикальных процессов в

норме и у больных сахарным диабетом II типа. Установлено развитие окислительного стресса с выраженным повышением уровней продуктов ПОЛ.

Практическая значимость работы:

Актуальность данного исследования продиктована необходимостью получения базы для клинико-лабораторной диагностики с целью развития превентивной, предиктивной, персонализированной медицины на основе использования для аналитических целей ротовой жидкости. Полученные результаты дополняют имеющиеся данные по особенностям протекания биохимических процессов в ротовой жидкости и сыворотке крови у больных сахарным диабетом II типа.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Нарушение углеводного и липидного обмена у больных сахарным диабетом II типа можно проследить по состоянию основных биохимических показателей не только в сыворотке крови, но и в ротовой жидкости.
2. Исследование свободнорадикальных процессов у больных сахарным диабетом II типа можно оценивать по уровням продуктов ПОЛ в ротовой жидкости.

Апробация работы

Результаты работы представлены на XIV Нижегородской сессии молодых ученых (2009), XV Научно-практической конференции «Лабораторное обеспечение стандартов медицинской помощи» (Москва 29-30 марта 2010), X Межвузовской конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону 20-21 мая 2011).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 3 работы, рекомендованных ВАК в ведущих отечественных журналах, и 3 тезиса докладов конференций различного уровня.

Благодарности

Автор признателен сотрудникам кафедры клинической лабораторной диагностики ФПКВ НижГМА за оказанную помощь в подготовке работы. Особую благодарность автор выражает главному врачу НУЗ «Узловая больница на ст.Новороссийск ОАО «РЖД» Шевцову Л.Е., заведующей терапевтическим отделением Хамидуллиной Е.Г., заведующей клинико-диагностической лабораторией Черновой Т.Д. за оказанную консультационную помощь и сотрудничество при получении материала для настоящего исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа в объеме 123 страниц состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы.

Диссертация иллюстрирована 11 рисунками и 13 таблицами. Библиографические указания включают 204 источника литературы (103 из них отечественных и 101 иностранные).

Содержание работы

Материалы и методы исследования.

Сравнительный анализ биохимических параметров крови и ротовой жидкости проведен в клинико-диагностической лаборатории НУЗ «Узловая больница на ст. Новороссийск ОАО «РЖД».

Объектом исследования была сыворотка и смешанная слюна больных сахарным диабетом II типа, находившихся на стационарном лечении в терапевтическом отделении НУЗ «Узловая больница на ст.Новороссийск ОАО «РЖД». Диагноз сахарный диабет II типа установлен врачами терапевтического отделения: заведующей терапевтическим отделением Хамидуллиной Е.Г., врачом-терапевтом Харьковской Н.Г., врачом-терапевтом

Простирук В.И. Помимо сахарного диабета II типа больные имели сопутствующую патологию, а именно, артериальную гипертонию, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания сосудов. Показатели липидного, углеводного обменов, а также продукты ПОЛ были определены у 60 больных сахарным диабетом II типа, из них 35 женщин (58,3%) и 25 мужчин (41,7%). Средний возраст $54,4 \pm 5,2$ года. Длительность сахарного диабета составила в среднем более 10 лет. Контрольную группу составили практически здоровые, средний возраст ($51,4 \pm 3,5$), мужчин 10 (33,3%) и 20 (66,6%) женщин.

Кровь для исследования брали утром, после 12-14-часового голодания из локтевой вены. Ротовую жидкость собирали натошак в стеклянную пробирку, без стимуляции, путём сплёвывания, в течение 10 минут. Далее образцы подвергали замораживанию не менее чем на 3 часа. Затем снова размораживали, центрифугировали в течение 5 минут до образования прозрачного супернатанта, который использовали для исследования (Гильмиярова, 2006). Ротовую жидкость и сыворотку анализировали в один день. Все больные были проинформированы о проводимом исследовании и письменно выразили своё согласие на его проведение. Изучение состояния углеводного, липидного обмена и перекисного окисления липидов при сахарном диабете проводилось параллельно с контрольной группой.

Методы исследования

В сыворотке крови углеводный обмен изучали по уровню глюкозы глюкозооксидазным методом; лактата, пирувата (метод Умбрайт) колориметрическим методом. Липидный профиль, включающий ОХ, ТГ, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП, анализировали колориметрическим методом с применением стандартных тест-систем фирмы «Vital diagnostics» (Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе Vitalit 1000.

Количественное определение содержания HbA1c и hsCRP осуществляли методом иммунотурбидиметрии и с использованием тест-систем фирмы «Vital diagnostics» (Россия).

Изучение уровней продуктов липопероксидации включало измерение уровней первичных продуктов – диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и конечных продуктов – оснований Шиффа (ОШ) (Волчегорский и др., 1989). Количество вторичных продуктов малонового диальдегида - МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Концентрация NO исследовали по содержанию его конечных метаболитов, нитратов и нитритов, по методу Голикова П.П. и др. (2000).

В ротовой жидкости исследовали концентрацию глюкозы, ТГ, ОХ, лактата, ДК и ТК, МДА, ОШ, уровень NO (концентрация нитрата и нитрита) и hsCRP, с использованием реактивов фирмы «Vital diagnostics» (Россия), биохимического анализатора Vitalit 1000 и спектрофотометра.

Статистический анализ осуществляли с использованием программы Statistica 8.0. При решении вопросов диагностики исследуемого заболевания изучали различия между основной и контрольной группами. Результаты выражали в виде $M \pm \sigma$, где M — среднее, а σ — стандартная ошибка среднего и Me — медиана. Для оценки значимости изменений в сыворотке крови и ротовой жидкости использовали непараметрический критерий U-Манна-Уитни. С целью выяснения взаимосвязей между исследуемыми параметрами в сыворотке крови и ротовой жидкости проводился корреляционный анализ с применением коэффициента Спирмена. Для построения прогностических моделей применяли линейный регрессионный анализ.

Результаты исследования и их обсуждение

1. Показатели углеводного обмена сыворотки крови здоровых и больных СД II типа

Глюкоза и гликированный гемоглобин. В ходе проведённых исследований показано, что в группе практически здоровых лиц уровень глюкозы не отличался от рекомендаций ВОЗ и не превышал порогового значения 6,1 ммоль/л. Сопоставление показателей свидетельствовало о том, что у 57 больных (95%) уровень глюкозы был значительно повышен в среднем на 43,3% по сравнению с рекомендованным уровнем и более, чем в 1,91 раза выше по сравнению с группой здоровых лиц (табл. 1).

Таблица 1

Содержание глюкозы и гликированного гемоглобина в сыворотке крови здоровых и больных сахарным диабетом II типа, ($M \pm \sigma$)

Показатели	Контрольная группа, n=30	Рекомендуемые значения	Основная группа, n=60
Глюкоза, ммоль/л	4,57±0,48	<6,1	8,74±2,20*
HbA1c, %	4,58±0,44	4,0-5,5	7,85±1,55*

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Согласно рекомендациям Комитета по контролю за диабетом и его клиническими осложнениями (Diabetes Control and Complication Trial, DCCT), оценить углеводный обмен у больного за длительный период времени можно, определив концентрацию гликированного гемоглобина (HbA1c) в крови. Содержание гликированного гемоглобина отражает уровень гликемии пациента за предшествующий период (Ильин, 2007, Khan et al., 2007).

В проведённом исследовании повышение содержания гликированного гемоглобина отмечалось у 98% обследованных больных (57 человек) и достоверно превышало его уровень в контрольной группе (7,85±1,55). При подсчёте среднего значения HbA1c данная величина стала несколько ниже, но

также превышала значения контрольной группы на 171,4% (табл. 1). Значительно повышенным уровень HbA1c был у 25% больных (15 человек) в среднем на 180% по сравнению с рекомендованным уровнем и более, чем в 2,5 раза выше по сравнению с контрольной группой. Практически все здоровые обследуемые не имели изменений в содержании HbA1c по сравнению с рекомендуемыми значениями. Таким образом, можно сделать вывод, что HbA1c является важным маркером в длительном контроле над гликемией у пациентов с сахарным диабетом II типа. Измерение HbA1c позволяет использовать его как показатель возможного риска развития осложнений диабета.

Лактат и пируват. Увеличение уровней лактата и пирувата характеризуется степенью тяжести гипоксии в тканях, организме (Калинин, 1995, Торшин, 2001). В клинической практике определение количества лактата в крови применяется для мониторинга уровня тканевой гипоксии: утилизация пирувата зависит от наличия кислорода и, соответственно, снижение доставки кислорода к клеткам приводит к повышению продукции лактата и повышению его уровня в крови (Palleshi et al., 1991, Калинин, 1995).

В наших исследованиях у больных сахарным диабетом II типа уровень лактата был повышен у 55 % (33 человека) по сравнению с рекомендуемым значением и увеличен в 2,7 раза по сравнению с контрольной группой. По сравнению с рекомендуемым значением эта величина была повышена в 1,6 раза (табл. 2). Увеличение количества лактата у больных СД II типа может вызвать сдвиг кислотно-основного равновесия с развитием лактоацидоза. У практически здоровых лиц уровень лактата находился в пределах рекомендуемых значений.

Таблица 2

Уровни лактата и пирувата у здоровых и больных сахарным диабетом II типа, ($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа, n=30	Рекомендуемые значения	Основная группа, n=60
Лактат, ммоль/л	0,84±0,22	0,5-2,2	2,34±0,28*
Пируват, ммоль/л	0,07±0,02	0,1	0,21±0,07*

*- различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

В контрольной группе повышения пирувата не отмечалось. В то же время у больных СД II типа имело место повышение пирувата в 2,1 раза по сравнению с рекомендуемыми значениями и наблюдалось у 70% (42 человека) больных (таб. 2). Это свидетельствует о том, что в данном исследовании у половины больных нарушена утилизация пирувата. Следовательно, пируват будет преобразовываться в лактат, что приведёт к увеличению лактата в крови. А это может негативно влиять на развитие тканевой гипоксии.

2. Изменение липидного обмена в сыворотке крови здоровых и больных СД II типа

Триглицериды. Гипертриглицеридемия считается одним из основных нарушений липидного обмена у больных сахарным диабетом. Измерение концентрации ТГ является рекомендованным ВОЗ для этой группы больных.

В ходе проведённого исследования высокие значения ТГ в сыворотке крови были выявлены у 73,3% обследованных больных (44 человека) и значимо превышали контрольные значения ($2,6 \pm 0,75$). При подсчёте среднего значения ТГ данная величина составила $2,34 \pm 0,68$ моль/л, но также превышала значения в контрольной группе на 129% (табл. 3).

Содержание триглицеридов в сыворотке крови здоровых и больных сахарным диабетом II типа, (M±σ)

Показатель, ммоль/л	Контрольная группа, n=30	Рекомендуемые значения	Основная группа, n=60
Триглицериды, ммоль/л	1,02±0,23	<1,7	2,34±0,63*

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Значительно повышенный уровень ТГ отмечался у 35% больных (21 человек) в среднем на 221,6% по сравнению с контрольной группой. Количество ТГ составило 3,28±0,99 ммоль/л. Практически здоровые люди не имели изменений в содержании ТГ по сравнению с рекомендуемыми ВОЗ уровнями.

Холестерин и его фракции. Повышение уровня общего ХС было статистически значимым по сравнению с данными контрольной группы ($p \leq 0,01$). В группе пациентов с СД II типа уровень общего ХС составил 6,52±0,68 ммоль/л, что на 52% превысило значение в контрольной группе. Гиперхолестеринемия наблюдалась у 96% больных (58 человек) и превышала рекомендованные значения в 1,25 раза. На рис. 1 показаны значения общего ХС в контрольной и основной группе.

Определение уровней общего холестерина используется для скрининговых исследований, более точная оценка сердечно-сосудистых осложнений требует проведения измерений ХС ЛПВП и ХС ЛПНП (Доборджгинидзе, 2001, Дедов, 2003, Gibson et al., 2002).

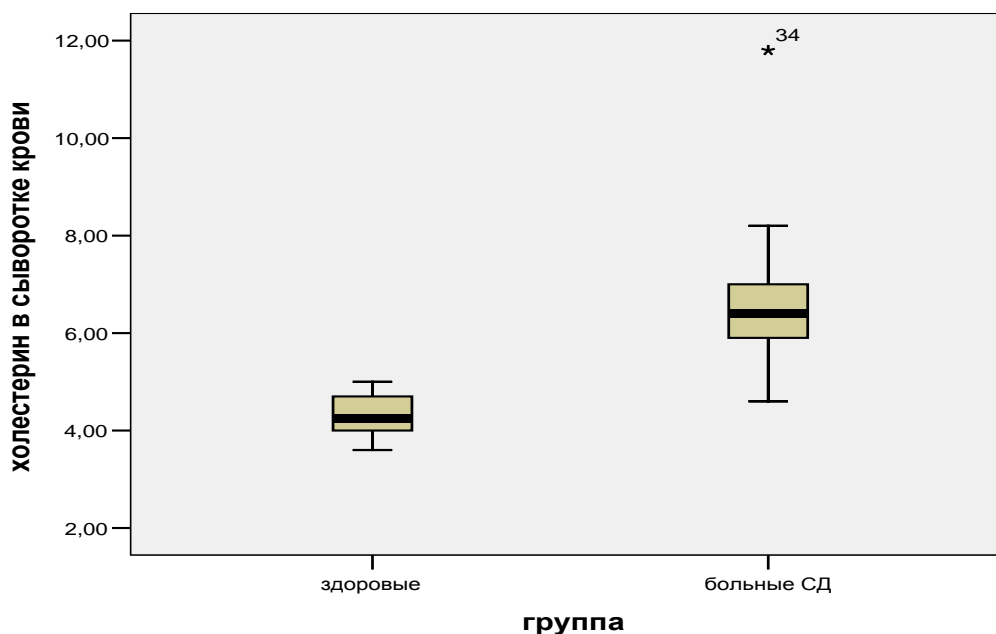


Рис. 1. Уровень общего холестерина в сыворотке крови у здоровых и больных СД II типа

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

На рис. 1 показано изменение медианы (жирная полоса внутри прямоугольника), квартилей (верхняя и нижняя границы прямоугольников), минимума и максимума (горизонтальные черточки снизу и сверху фигуры). *34 — пациент №34 с высоким уровнем общего холестерина.

Повышение содержания ХС-ЛПНП отмечалось у 87% обследованных с СД II типа по сравнению с рекомендованным уровнем и было значительно выше ($p \leq 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Напротив, содержание ХС ЛПВП было снижено в 1,1 раз по сравнению со здоровыми людьми и находилось на границе рекомендованных значений (табл. 4). Отсюда, коэффициент атерогенности, представляющий отношение $\frac{ХС - ХСЛПВП}{ХСЛПВ}$, у обследованных пациентов с СД II типа равнялся 5,3, то есть превышал рекомендованный уровень почти в 2 раза. Данный факт свидетельствовал о наличии у пациентов с СД II типа атеросклеротических осложнений или предрасположенности к ним.

Таблица 4

Уровни ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП у здоровых и больных сахарным диабетом
II типа, (M±σ)

Группы обследованных	ХС-ЛПНП, ммоль/л	ХС-ЛПВП, ммоль/л	КА
Основная группа, n=60	3,92±0,21*	1,03±0,11*	5,3*
Контрольная группа, n=30	2,38±0,48	2,05±0,19	1,06
Рекомендуемый уровень	3,5	1,09	3,0

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Таким образом, можно сделать вывод о том, что наличие гипертриглицеридемии, повышенного уровня ОХ, ХС ЛПНП и сниженного значения ХС ЛПВП является важной компонентой в развитии ИБС, а также может иметь большую прогностическую ценность в отношении развития коронарного атеросклероза.

3. Анализ показателей окислительного стресса.

Изучение выраженности процессов пероксидации показало существенное увеличение молекулярных продуктов ПОЛ в сыворотке крови больных СД II типа. Содержание всех продуктов было значимо повышено по сравнению с группой практически здоровых лиц. Уровень ДК и ТК был повышен у 87% больных СД II типа и превышал значения в контрольной группе в 1,56 раза и в 3 раза, соответственно. Уровень вторичных продуктов, МДА, в группе больных СД II типа был повышен в 7,1 раза ($6,98 \pm 0,51$ мкмоль/л, $p \leq 0,01$) по сравнению с контрольной группой ($0,98 \pm 0,12$ мкмоль/л) (табл. 5)

Таблица 5

Содержание продуктов ПОЛ в сыворотке крови здоровых и больных СД II типа, ($M \pm \sigma$)

Группы обследованных	ДК, отн.ед	ТК, отн.ед	МДА, мкмоль/л	ОШ, отн.ед	ОШ/ДК+ТК
Основная группа, n=60	0,25±0,07*	0,12±0,05*	6,98±0,51*	20,2±2,5*	54,59±20,8*
Контрольная группа, n=30	0,16±0,01	0,04±0,001	0,98±0,12	3,25±0,25	16,25±22,7

*- различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Анализ результатов по содержанию конечных продуктов ПОЛ, ОШ, продемонстрировал достоверное увеличение данного показателя относительно контрольной группы. Это составило $20,2 \pm 2,5$ отн.ед, что в 6,2 раза превышало нормальные значения. Уровень ОШ был повышен у 85% больных по сравнению с контрольной группой (табл. 5). Коэффициент ОШ/ДК+ТК отражает направленность процесса свободно-радикального окисления в сторону накопления наиболее токсичных продуктов липопероксидации - ОШ, повреждающих клеточные мембраны. У больных СД II типа величина данного коэффициента была в 67 раз выше по сравнению с практически здоровыми лицами. Источниками свободных радикалов в крови являются нейтрофилы, синтезирующие оксид азота и продукты воспаления сосудистой стенки – С-реактивный белок.

Оксид азота. В наших исследованиях уровень оксида азота определялся по содержанию конечных продуктов – нитратов и нитритов. Поэтому полученные данные представляют суммарный ответ всех видов NO-синтаз (табл. 6).

Таблица 6

Содержание NO в сыворотке крови здоровых и больных СД II типа,
($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа, n=30	Основная группа, n=60
NO, мкмоль/л	23,0±1,0	31,5±4,5*

*- различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

В результате установлено, что у больных СД II типа имело место достоверное увеличение количества нитратов в среднем в 1,37 раза по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало об активации воспалительных процессов в кровеносных сосудах данной категории больных.

hsCRP способен специфически связываться с модифицированными ЛПНП, с поврежденными и мертвыми клетками, связанный hsCRP способен активировать комплемент. Это говорит об участии самого hsCRP в патогенезе атеросклероза (Van der Meer et al, 2002). В данном исследовании уровень hsCRP был увеличен у больных СД II типа в 3,2 раза по сравнению с контрольной группой и составил $3,8 \pm 0,7$ мг/л (табл. 7).

Таблица 7

Содержание hsCRP в сыворотке крови здоровых и больных СД II типа,
($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа, n=30	Основная группа, n=60
hsCRP, мг/л	1,18±0,05	3,8±0,7*

*- различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

4. Изменение биохимических показателей в ротовой жидкости у здоровых и больных сахарным диабетом II типа.

4.1. Изменение углеводного обмена.

Глюкоза. Ротовая жидкость - это лабильная среда и на её количественный и качественный состав влияет множество факторов и условий, но, в первую очередь, состояние организма.

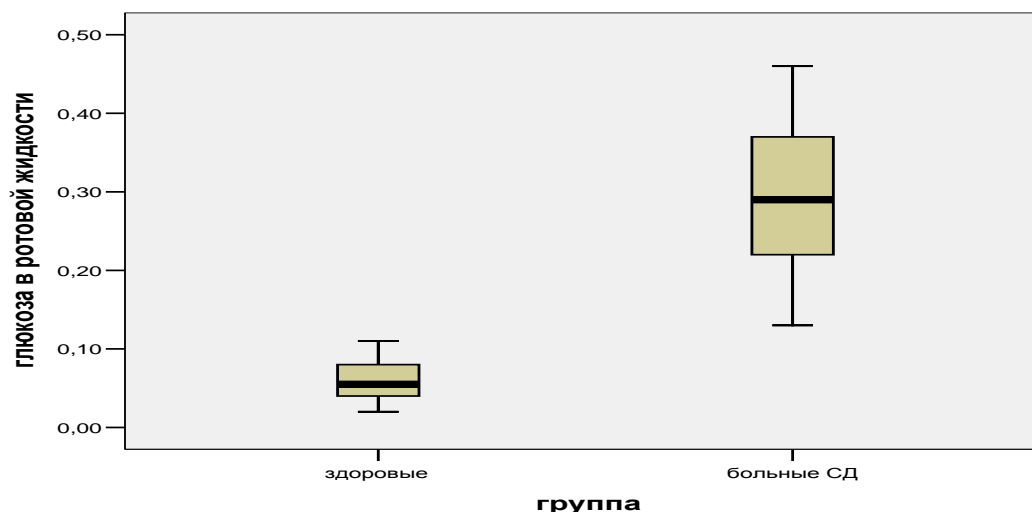


Рис. 2. Уровень глюкозы в ротовой жидкости здоровых и больных сахарным диабетом II типа

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Одной из основных функций слюны является поддержание гомеостаза в ротовой полости. Нарушение обменных процессов у больных СД II типа находит своё отражение в изменении биохимических параметров, как в сыворотке крови, так и в ротовой жидкости (Amer, 2001). Концентрация глюкозы в слюне у больных СД II типа была увеличена в 5 раз по сравнению с контрольной группой при уровне достоверности $p \leq 0,01$ согласно критерию U-Манна-Уитни.

Лактат. В нашем исследовании у больных СД II типа было обнаружено существенное изменение значений лактата в ротовой жидкости. Увеличение

лактата может быть объяснено лёгкой проницаемостью этого метаболита через клеточные мембраны. Деструктивные процессы, которые затрагивают клетки и их мембраны, вероятно, способствуют увеличению проницаемости для лактата и его выходу в ротовую полость в составе ротовой жидкости.

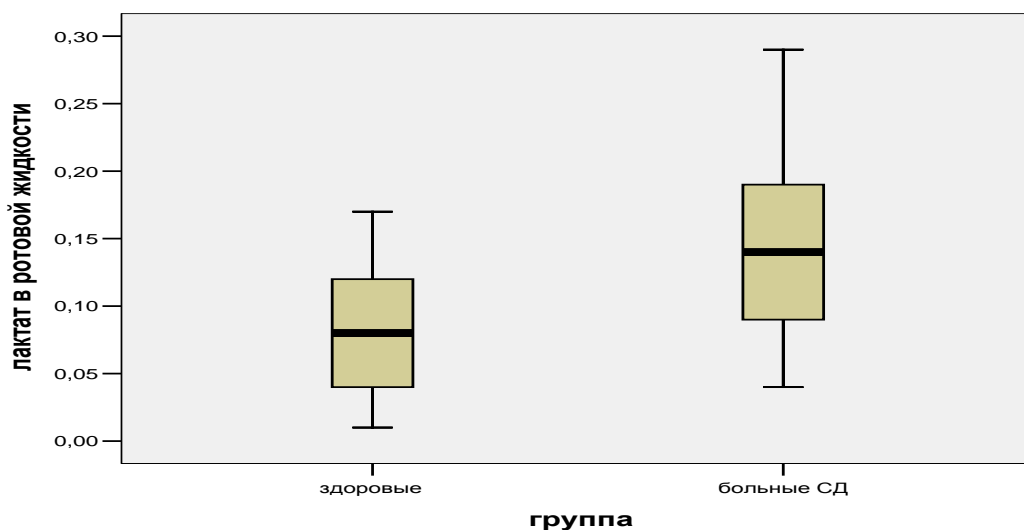


Рис. 3. Уровень лактата в ротовой жидкости здоровых и больных сахарным диабетом II типа

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Учитывая, что ротовая жидкость находится в динамическом взаимоотношении не только с органами полости рта, но и жидкой внутренней средой организма, выявленная динамика содержания лактата свидетельствует о развитии тканевой гипоксии (Тарасенко и др., 2002, Paleshi et al., 1991). Согласно проведённой оценке величины уровня лактата в ротовой жидкости было установлено его увеличение в 1,75 раза у больных СД II типа, по сравнению с контрольной группой при уровне достоверности $p \leq 0,01$ согласно критерию U-Манна-Уитни (рис. 3).

4.2. Изменение липидного обмена в ротовой жидкости

Триглицериды. Уровень ТГ в ротовой жидкости в нашем исследовании был повышен в 4,66 раза у больных СД II типа по сравнению с контрольной

группой при уровне достоверности $p \leq 0,01$ согласно критерию U-Манна-Уитни (табл. 8).

Таблица 8

Уровень общего холестерина и триглицеридов в ротовой жидкости у здоровых и больных сахарным диабетом II типа, ($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа, n=30	Основная группа, n=60
ОХ, ммоль/л	0,04±0,03	0,16±0,06*
ТГ, ммоль/л	0,03±0,03	0,14±0,05*

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Общий холестерин. При оценке уровня общего холестерина было отмечено его увеличение в 4 раза у 85% больных СД II типа (51 человек), по сравнению с контрольной группой при уровне достоверности $p \leq 0,01$ согласно критерию U-Манна-Уитни (табл. 8). У 15% больных СД II типа ОХ был повышен незначительно по сравнению с контрольной группой и составил $0,06 \pm 0,008$ ммоль/л. Изменение уровня ОХ и ТГ в ротовой жидкости позволяет говорить о нарушении липидного обмена.

6. Анализ показателей ПОЛ в ротовой жидкости. Величина ДК в группе больных СД II типа составила $0,15 \pm 0,06$ отн.ед, что на 114% превышало значение данного показателя у практически здоровых людей $0,07 \pm 0,02$ отн.ед.

Содержание ТК в ротовой жидкости больных составило $0,08 \pm 0,002$ отн.ед., что на 166% выше, чем в контрольной группе.

При исследовании уровня МДА, было обнаружено значительное увеличение этого показателя в ротовой жидкости больных СД II типа. Его

величина превышала значения контрольной группы в 7 раз при уровне достоверности $p \leq 0,01$ согласно критерию U-Манна-Уитни.

При исследовании величины ОШ отмечено увеличение этого показателя в группе больных СД II типа на 84% по сравнению с практически здоровыми лицами (табл. 9).

Таблица 9

Уровни продуктов ПОЛ в ротовой жидкости здоровых и больных сахарным диабетом II типа, ($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа, n=30	Основная группа, n=60
ДК, отн.ед.	0,07±0,02	0,15±0,06
ТК, отн.ед.	0,03±0,001	0,08±0,002
МДА, мкмоль/л	0,21±0,1	1,52±0,37*
ОШ, отн.ед.	1,65±0,15	3,05±0,25

*- различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,01$)

Оксид азота и hsCRP. При оценке уровня NO в ротовой жидкости отмечено увеличение у 68% больных в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Полученные данные свидетельствуют о развитии воспалительного процесса в стенках сосудов.

Повышение hsCRP у больных с высоким уровнем ОХ и ХС ЛПНП резко увеличивает риск возникновения осложнений. В целом, hsCRP – это независимый и сильный предиктор острого инфаркта миокарда у больных СД II типа (Verma et al., 2005, Вельков, 2010). hsCRP обнаруживается в смешанной слюне при сахарном диабете II типа, что подтверждено иностранными авторами (Van der Meer et al., 2002, Coulson et al., 2005). В

нашем исследовании величина hsCRP была повышена у 57% больных в 1,96 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 10).

Таблица 10

Уровень NO и hsCRP в ротовой жидкости больных сахарным диабетом II типа, (M±σ)

Показатели	Контрольная группа, n=30	Основная группа, n=60
NO	11,0±1,5	16±1,2*
hsCRP	0,61±0,05	1,2±0,05*

* - различия, статистически значимые по сравнению с контрольной группой (p≤0,01)

Полученные данные свидетельствуют о развитии воспалительного процесса в стенках кровеносных сосудов ротовой полости. Это позволяет применять hsCRP у больных СД II типа не только в качестве маркера воспаления, протекающего в эндотелии сосудов, но и риска развития патологии сердечно-сосудистой системы.

При расчете **корреляционной связи** установлена прямая корреляционная зависимость между измеренными биохимическими показателями сыворотки крови и ротовой жидкости. Особенно сильная корреляционная связь $r=0,843$ выявлена между показателями глюкозы. Умеренная корреляционная связь ($r=0,502$) отмечена между уровнями глюкозы сыворотки и холестерином в ротовой жидкости. Нарушение липидного обмена обусловлено гипергликемией, в результате которой происходит нарушение липидного обмена. Это проявляется увеличением уровня холестерина, как в сыворотке крови, так и в ротовой жидкости. Умеренная корреляционная зависимость ($r=0,525$) выявлена между показателями глюкозы в ротовой жидкости и ХС ЛПНП сыворотки крови.

Умеренная корреляционная зависимость ($r=0,625$) выявлена между величиной МДА слюны и глюкозы сыворотки крови, между ДК ($r=0,707$)

слюны и сыворотки крови, ТК ($p=0,702$) слюны и сыворотки крови и также ОШ ($p=0,709$). Гипергликемия приводит к нарушению многих видов обмена в организме. Усиление АФК, нарастание продуктов ПОЛ приводит к возникновению окислительного стресса. Развитие окислительного стресса не происходит изолированно, а захватывает и ротовую жидкость, и корреляционная зависимость между показателями глюкозы плазмы и продуктов ПОЛ ротовой жидкости является подтверждением этому.

Таким образом, можно предполагать, что наличие корреляционных связей между показателями плазмы крови и ротовой жидкости свидетельствует о тесной взаимосвязи происходящих в организме изменений.

При прогнозе динамики изучаемых показателей, были построены **регрессионные модели**. В качестве зависимой переменной выступали показатели сыворотки крови, а в качестве предиктора выступали показатели ротовой жидкости. Полученные регрессионные модели выявляют аналитическую зависимость между переменным (показателем) и дают возможность в будущем отмечать значение зависимой переменной по значениям независимых переменных.

ВЫВОДЫ

1. В ротовой жидкости больных сахарным диабетом II типа выявлены более выраженные изменения значений показателей углеводного и липидного обмена по сравнению с показателями сыворотки крови.
2. Накопление продуктов перекисного окисления липидов у больных сахарным диабетом II типа отмечается как в сыворотке крови, так и в ротовой жидкости
3. При проведении корреляционного анализа обнаружена прямая корреляционная зависимость между показателями сыворотки крови и ротовой жидкости больных сахарным диабетом II типа.

Рекомендации

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности изучения ротовой жидкости не только в плане уточнения её биологических функций в организме и обеспечении динамического постоянства внутренней среды, но и с диагностической целью как альтернативы крови.

Работы, опубликованные по теме диссертации

1. Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Фотина И.А.** Информативность изменений биохимических параметров ротовой жидкости и сыворотки крови при сахарном диабете II типа // Вестник новых медицинских технологий. - 2011. - №4. - С. 184-186
2. **Фотина И.А.** Сравнительный анализ биохимических показателей в сыворотке крови и ротовой жидкости у здоровых лиц и больных сахарным диабетом II типа // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. - 2011. - №2 (2). - С.225-228
3. **Фотина И.А.** Диагностическая значимость использования слюны у больных сахарным диабетом II типа // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. - 2012. - №2 Подготовка к печати

2. Статьи, тезисы докладов Всероссийских, региональных и международных конференций:

1. **Фотина И.А.** Состояние углеводного и липидного обмена при метаболическом синдроме до и после лечения / Королева Е.Ф., **Фотина И.А.** // 14-ая Нижегородская сессия молодых ученых (естественнонаучные дисциплины). - Н. Новгород. - 2009. - С. 132-133
2. **Фотина И.А.** Сравнительный анализ биохимических показателей крови и жидкости полости рта / Фотина И.А. // Лаборатория. - 2010. - №2. - С.22-23
3. **Фотина И.А.** Исследование сыворотки крови и слюны у больных сахарным диабетом II типа / Фотина И.А. // Материалы X межвузовской конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (г. Ростов-на-Дону). - Ростов-на-Дону, 2011 — С.172-175

Список сокращений

ДК – диеновые конъюгаты

ИР – инсулинорезистентность

МДА – малоновый диальдегид

ОШ – основания Шиффа

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СД – сахарный диабет

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТГ – триглицериды

ТК – триеновые конъюгаты

ХС ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности

ХС ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности

ХС ЛПОНП – холестерин липопротеидов очень низкой плотности

НbA1c – гликированный гемоглобин

hsCRP – высокочувствительный С-реактивный белок

NO – оксид азота

Подписано в печать 12.03.2012 г. Формат 60x84/16. Бумага писчая. Печать офсетная.

Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л. 1. Тираж 100 экз. Заказ 127.

Отпечатано: «Издатель Григорьева Л.К.»

350020, г. Краснодар, ул. Коммунаров, 268 Г3, т. 8-918-32-66-430.

