Биомедицинская химия, 2004, том 50, вып. 6, с.612-614

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 541.64:547.96

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗАВИСИМОСТИ СОДЕРЖАНИЯ СОРБИТОЛА И ФРУКТОЗАМИНА В СЛЮНЕ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ДИАБЕТОМ.

С.А. Моренкова

НИИ физико-химической медицина МЗ РФ,
г. Москва 119992, ул. Малая Пироговская, д. 1а

Исследована возможность определения в слюне сорбитола и фруктозамина у здоровых добровольцев и больных диабетом. Показана зависимость уровня этих метаболитов в слюне от содержания глюкозы в крови. Можно считать, что определение уровня сорбитола и фрутозамина слюны могут быть использованы в качестве тестов при диагностике диабета и служить показателями эффективности лечения больных диабетом.

Ключевые слова: сорбитол, фруктозамин, гликемия, слюна

ВВЕДЕНИЕ. Использование легко доступного биологического материала - такого, каким являются экскреты экзокринных желез, в частности слюна, и наличие методов определения тех или иных метаболических показателей, отражающих уровень гликемии, могут не только обеспечить контроль уровня гликемии, и тем самым создать перспективы профилактики и лечения диабета, но также способствовать предупреждению различных осложнений при этом заболевании.

Известно, что в условиях дефицита инсулина, метаболизм глюкозы усиливается по инсулиннечувствительному пути, приводящему к накоплению сорбитола [1-3]. Накопление последнего в крови приводит к таким серьезным осложнениям как ретинопатия, ангиопатия, полинейропатия и др. В этой связи мы разработали метод определения сорбитола в слюне

Наряду с этим, мы изучали зависимость содержания фруктозамина в слюне от концентрации глюкозы в крови. Уровень фруктозамина, отражающий степень гликирования белков (в основном альбумина), находится в прямой зависимости от уровня гликемии [4,5], и по этому показателю в.слюне можно было бы судить об эффективности терапии больных диабетом [6].

МЕТОДИКА. *Определение сорбитола в слюне*. Собранную слюну депротеинизировали хлорной кислотой. Для этого к 0,5 мл слюны добавляли 0,2 мл 0,6 М $HClO_4$, инкубировали 15 мин и центрифугировали 15 мин при 10000 об/мин. К 0,5 мл полученного раствора добавляли 0,05 мл 1 М NaOH (для нейтрализации раствора) и 0,5 мл 0,1 М трис буфера, pH 8,8, содержащего 20 мкмоль резазурина, 2 ед/мл диафоразы и 4 мг/мл NAD^+. Затем к 0,525 мл этой реакционной смеси добавляли 10 мкл сорбитолдегидрогеназы (50 ед/мл), инкубировали 30 мин при комнатной температуре. Флуоресценцию измеряли при длине волны возбуждения - 560 нм и длине волны эмиссии - 580-620 нм. Для калибровочной кривой использовали NADH. Контролем служила проба, содержащая вместо слюны воду.

Фруктозамин определяли с помощью стандартных наборов фирмы "Roche". Этот колориметрический тест для фруктозамина (гликированного белка, преимущественно - альбумина) основан на способности кетоаминов восстанавливать тетразолий нитросиний в щелочной среде. Скорость образования формазана прямо пропорциональна концентрации фруктозамина и измеряется фотометрически. Для калибровочной кривой используется гликированный полилизин.

Глюкозу крови определяли с помощью стандартных наборов фирмы "Lachema".

Обследованию подвергались больные диабетом I и II типов, а также здоровые добровольцы, обоего пола в возрасте от 25 до 65 лет. Материал для исследования (кровь и слюну) брали натощак. Из-за сниженной саливации у больных диабетом перед взятием слюны все обследуемые, включая добровольцев, ополаскивали рот 0,01 М раствором лимонной кислоты. Было обследовано 55 здоровых добровольцев и по 50 больных диабетом I и II типов соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Как видно из данных рисунка 1, содержание сорбитола в слюне у больных диабетом I и II типов резко возрастало, составляя 6,2±1,7 и 7,3±2,0 мкмоль/л, соответственно, по сравнению со здоровыми добровольцами, уровень сорбитола в слюне которых составлял 3,7±0,7 мкмоль/л. При этом достоверных различий в содержании сорбитола в слюне у больных диабетом I и II типов не обнаружилось (p>0,5) при концентрациях глюкозы крови, составляющих не менее 10 ммоль/л в день обследования.

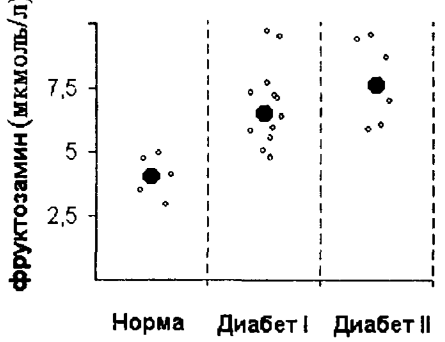

Рисунок 1.

Зависимость содержания фруктозамина в слюне от концентрации глюкозы крови у больных диабетом. По оси ординат: концентрация фруктозамина в мкмолях/л; по оси абсцисс: концентрация глюкозы в ммолях/л.

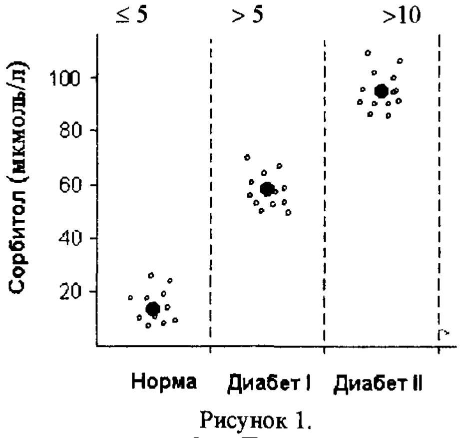

Рисунок 1.

Уровень сорбитола в слюне в норме и при диабете. По оси ординат: концентрация сорбитола в мкмолях/л.

Исследование слюны на содержание фруктозамина показало, что фруктозамин присутствует в слюне здоровых добровольцев в большом количестве. С возрастанием концентрации глюкозы в крови у больных диабетом (I+II типов) уровень фруктозамина в слюне увеличивается (рис.2) тем больше, чем выше уровень гипергликемии.

Из представленных данных очевидно, что наличие в слюне как сорбитола, так и фруктозамина и зависимость этих метаболитов от уровня гликемии дают основание считать, что оба эти показателя могут иметь не только диагностическое значение при выявлении диабета, но также быть использованы как тесты, отражающие эффективность терапии при диабете.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Malone J.I., Levengood H., Peterson N. et al.* (1984) Diabetes, **33**, 45-49.
2. *Poli T., Lapolla A., Valerio A. et al.* (1985) Acta diabetol. lat., **22**, 17-23
3. *Price D.E., Grant P.J., Airey C.M. et al.* (1987) Diabet. Med., **4**, 229-232
4. *Kruse-Jarres J.D., Jarausch J., Lehmann P. et al* (1989) Lab. Med., **13**, 245-253
5. *Scheleicher E.D., Vogt B.W.* (1990) Clin. Chem., **36**, 136-139
6. *Моренкова С.А.*(2000) Мат. конф. Неинвазивная диагностика. М., с. 25-26

Поступила 17.05.2002.

COMPARATIVE ANALYSIS OF DEPENDENCE OF SALIVA SORBITOL AND FRUCTOSE-AMINE LEVELS ON BLOOD GLUCOSE LEVEL IN PATIENTS WITH DIABETES.

S.A. Morenkova

Institute of Physico-Chemical Medicine
1a Malaya Pirogovskaya st., 119992, Moscow, Russia

The possibility of determination of sorbitol and fructosamine in saliva has been studied in healthy volunteers and patients with diabetes. The dependence of these metabolites levels in saliva on blood glucose level was demonstrated. It is concluded that saliva sorbitol and fructosamine levels measurements may be used as diagnostic tests in diabetes and serve as indicators of efficacy of therapy in diabetes.

Key words: sorbitol, fructosamine, glycemia, saliva