

URSZULA KACZMAREK, MONIKA MYSIK-DEBSKA

## Aktywność $\alpha$ -amylazy w ślinie u dzieci chorych na cukrzycę

### $\alpha$ -Amylase Activity in Saliva of Diabetic Children

Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej AM we Wrocławiu

#### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Cukrzyca jest schorzeniem przewlekłym, cechującym się hiperglikemią, zaburzeniami przemiany węglowodanów, tłuszczów i białek prowadzącymi do zmiany struktury i funkcji wielu narządów, a także do zmian w jamie ustnej.

**Cel pracy.** Porównanie stanu uzębienia i poziomu aktywności  $\alpha$ -amylazy w ślinie u dzieci chorych na cukrzycę typu 1 z dziećmi zdrowymi, stwierdzenie, czy zmiany aktywności enzymu wpływają na stan jamy ustnej, czy są spowodowane przebiegiem choroby oraz czy mogą być przydatne w ocenie zaawansowania choroby.

**Materiał i metody.** Zbadano 131 dzieci obojga płci w wieku 5–18 lat, w tym 80 chorych na cukrzycę typu 1 – grupa A i 51 ogólnie zdrowych – grupa kontrolna O. Ocenę stanu uzębienia przeprowadzono według kryteriów ŚOZ, oceniając wartości puw/z i PUW/Z. W niestymulowanej ślinie mieszanej oznaczano aktywność  $\alpha$ -amylazy – Amy (metodą kolorymetryczną Carawaya) i białko całkowite – B mikrometodą Lowry’ego oraz szybkość wydzielania śliny – V (ml/min). Dzieci chore podzielono na podgrupy w zależności od czasu trwania choroby – podgrupa A-1 (< 3 lata) i podgrupa A-2 ( $\leq$  3 lata) oraz w odniesieniu do kontroli metabolicznej choroby, tj. stężenia glikozylowanej hemoglobiny we krwi (HbA<sub>1c</sub>) – podgrupa A-3 (< 8,5%) i podgrupa A-4 (> 8,5%).

**Wyniki.** W grupie A liczba zębów objętych procesem próchnicowym wynosiła  $6,40 \pm 3,24$ , V  $0,20 \pm 0,11$  ml/min, B  $1,47 \pm 0,62$  mg/ml Amy  $896,68 \pm 647,76$  J/ml, a w grupie O odpowiednio  $4,59 \pm 2,87$ ;  $0,34 \pm 0,20$ ;  $1,19 \pm 0,43$ ;  $602,89 \pm 427,20$ . Wraz z czasem trwania choroby nieznacznie zwiększała się intensywność próchnicy, istotnie wzrastało B, a nieznacznie obniżała się aktywność Amy. U dzieci z gorszą kontrolą glikemiczną istotnie zwiększała się intensywność próchnicy, nieznacznie zmniejszała się sekrecja śliny, a wzrastały poziomy B i Amy.

**Wnioski.** U chorych istotnie zwiększa się intensywność próchnicy, maleje szybkość wydzielania śliny i wzrastają poziomy białka i  $\alpha$ -amylazy. Nieprawidłowa kontrola glikemiczna choroby zwiększa intensywność próchnicy i aktywność enzymu. Oznaczanie aktywności  $\alpha$ -amylazy może być przydatne jako pomocniczy marker kontroli metabolicznej cukrzycy (Dent. Med. Probl. 2005, 42, 3, 449–456).

**Słowa kluczowe:** cukrzyca typu 1, dzieci, ślina,  $\alpha$ -amylaza, próchnica.

#### Abstract

**Background.** Diabetes mellitus is chronic disease characterized by hyperglycemia, disorders of carbohydrates, fats and proteins metabolism leading to changes of structure and function of many organs, as well as to changes in oral cavity.

**Objectives.** Comparison of dental condition and level of  $\alpha$ -amylase activity in saliva of children with diabetes type 1 to healthy ones and, in addition to evaluate whether possible changes in enzyme activity can influence onto the oral condition or they are caused by course of disease and whether they can be useful in estimation of the disease severity.

**Material and Methods.** 131 children of both sex aged 5–18 years were examined, out of which 80 with diabetes type 1 – group A and 51 generally healthy – control group O. Dental condition was evaluated by WHO criteria using dmft/t and DMF/T indices. In unstimulated mixed saliva  $\alpha$ -amylase activity – Amy (by Caraway colorimetric method) and total protein – B (by Lowry micromethod) as well as salivary flow rate – V (ml/min) were measured. Ill children were divided into subgroups in dependence from time of duration of disease – subgroup A-1 (< 3 years) and subgroup A-2 (> 3 years) as well as in refer to metabolic control of the disease, i.e. concentration of glucosyl haemoglobin in blood (HbA<sub>1c</sub>) – subgroup A-3 (< 8.5%) and subgroup A-4 (> 8.5%).

**Results.** In group A, number of teeth affected by carious process was  $6.40 \pm 3.24$ , V  $0.20 \pm 0.11$  ml/min, B  $1.47 \pm 0.62$  mg/ml, Amy  $896.68 \pm 647.76$  J/ml, and in group O  $4.59 \pm 2.87$ ,  $0.34 \pm 0.20$ ,  $1.19 \pm 0.43$ ,  $602.89 \pm 427.20$ .

respectively. It was found along with the time of disease duration some increase in caries severity, significant increase in protein content (B), and some decrease in  $\alpha$ -amylase activity (Amy). It was also noticed in children with worse glycemic control the caries severity increase, slight lower salivary secretion and some increase of protein content and  $\alpha$ -amylase activity.

**Conclusions.** In children with diabetes type 1 the obtained data revealed significant increase in caries severity, decrease in salivary flow rate and increase in  $\alpha$ -amylase activity. Incorrect glycemic control of the disease leads to the increase of caries severity and the enzyme activity. The estimation of  $\alpha$ -amylase activity could be useful as auxiliary marker of metabolic control of diabetes (*Dent. Med. Probl.* 2005, 42, 3, 449–456).

**Key words:** diabetes type 1, children, saliva, caries.

Cukrzyca jest przewlekłym schorzeniem, cechującym się hiperglikemią, zaburzeniami przemiany węglowodanów, tłuszczów i białek prowadzącymi do zmiany struktury i funkcji wielu narządów. Zgodnie z klasyfikacją ŚOZ rozróżnia się cztery typy schorzenia [1]. U dzieci i młodzieży występuje typ 1 choroby powstający w następstwie pierwotnego uszkodzenia komórek  $\beta$  wyspepek Langerhansa trzustki doprowadzającego do całkowitego lub częściowego niedoboru insuliny. Wywołany jest czynnikami autoimmunologicznymi lub idiopatycznymi. Zachorowalność na cukrzycę typu 1 jest zróżnicowana – duża w Finlandii (36/100 tys.) i Danii (13,2/100 tys.), a w Polsce mniejsza (6,1/100 tys.) [2–4]. Choroba prowadzi do powikłań w wielu narządach, powodując mikroangiopatie i obwodowe neuropatie, a także do zmian w jamie ustnej (kserostomia, większa podatność tkanek jamy ustnej na uraz, częstsze zakażenia oportunistyczne, większa akumulacja płytki, większe ryzyko próchnicy, opóźnienie gojenia, większa podatność na choroby przyzębia, parestezje, w tym – pieczenie jamy ustnej i języka, zmienne odczuwanie smaku) [5]. Za istotną przyczynę rozwoju powikłań cukrzycowych uważa się nieenzymatyczną glikozylację białek i lipidów pod wpływem zwiększonego stężenia glukozy, w wyniku której powstają najpierw odwracalne produkty, a później nieodwracalne zaawansowane produkty końcowe glikozylacji (AEG – *advanced glycosylation end products*). W kontroli poziomu metabolitycznego choroby, oprócz oznaczania stężenia glukozy we krwi, rutynowo ocenia się poziom glikozylowanej hemoglobiny ( $HbA_{1c}$ ), będący wskaźnikiem glikemii, trwającej przez okres ostatnich 2–3 miesięcy. Przyjmuje się, że u dobrze klinicznie kontrolowanych pacjentów poziom  $HbA_{1c}$  są poniżej 7,5%, a u umiarkowanie kontrolowanych mieszczą się między 7,5–8,5%. Wartości w przedziale 8,6–10,0% wskazują na złą kontrolę choroby, a powyżej 10% na alarmująco wysoki poziom [6].

Niewiele badań poświęcono poziomom składników śliny u chorych na cukrzycę. Oceniano poziom różnych składników śliny (białko całkowite, enzymy, elektrolity), lecz uzyskane dane nie

dają pełnej zgodności, co wynika prawdopodobnie z powodu różnych metod pobierania śliny i stosowania do oznaczeń odmiennych frakcji [7–13]. W wielu pracach natomiast określano szybkość wydzielania śliny i wyniki większości z nich wskazują na mniejsze wydzielanie śliny niestymulowanej lub/i stymulowanej u chorych na cukrzycę [8–15].

Enzym amylaza jest głównym białkiem śliny. Są trzy rodzaje amylaz różniące się rodzajem katalizowanych wiązań, miejscem działania na cząsteczkę substratu i końcowym produktem reakcji. W drobnoustrojach i organizmach roślinnych znajdują się amylazy  $\alpha$  i  $\beta$ , a w tkankach zwierzęcych i ludzkich amylazy  $\alpha$  i  $\gamma$  [16]. Enzym  $\alpha$ -amylaza (E.C. 3.2.1.1. 4-glukanohydrolaza  $\alpha$ -1,4-glukanu) jest endoamylazą hydrolizującą wewnętrzne wiązania  $\alpha$ -1,4 glikozydowe  $\alpha$ -glikanów (skrobia, glikogen, pokrewne poli- i oligosacharydy). Egzoenzymami są natomiast  $\beta$ -amylaza (E.C. 3.2.1.2. maltohydrolaza  $\alpha$ -1,4-glukanu) hydrolizująca wiązania  $\alpha$ -1,4-glikozydowe z nieredukującego końca substratu do maltozy i  $\gamma$ -amylaza (E.C. 3.2.1.3. glukanohydrolaza  $\alpha$ -1,4-glukanu) rozszczepiająca oprócz wiązań  $\alpha$ -1,4-glikozydowych, także  $\alpha$ -1,6-glikozydowe z odszczepieniem glukozy od nieredukujących końców łańcucha oligosacharydów. W organizmie ludzkim biosynteza amylazy odbywa się w gruczołach ślinowych (gen Amy 1) i trzustce (gen Amy 2), ale aktywność enzymu stwierdza się również we krwi i moczu. W ślinie występuje głównie  $\alpha$ -amylaza i tylko niewielkie ilości  $\beta$ -amylazy pochodzenia bakteryjnego. Wytwarzanie enzymu następuje w komórkach groniastych i przyległych przewodach surowiczych gron gruczołów ślinowych, dlatego też jest syntetyzowany głównie w gruczołach przyuszniczych, a w mniejszej ilości w gruczołach podżuchwowych i w znikomej w podjęzykowych [16].

Amylaza śliniankowa jest enzymem heterogennym. Występuje w postaci 5 izoenzymów, wśród których ze względu na skład chemiczny wyróżnia się dwie rodziny: A – będącą glikoproteinami o ciężarze 62 000 (5, 3, 1) i B – niezawierającą węglowodanów o ciężarze cząsteczkowym około 56 000 (4, 2) oraz dwie formy oznaczone ja-

ko „z”. Między izoenzymami pochodzenia śliniankowego i trzustkowego występują pewne różnice we właściwościach hydrolitycznych. Śliniankowe w przeciwieństwie do trzustkowych nie rozkładają substratu do glukozy, nie rozszczepiają maltotriozy, wykazują większe powinowactwo do skrobi niż glikogenu oraz charakteryzują się mniejszą termolabilnością i większym powinowactwem do tworzenia kompleksów z immunoglobulinami IgA i IgG. Działanie  $\alpha$ -amylazy na substrat jest dwuetapowe – pierwszymi produktami hydrolizy są oligosacharydy (składającej się z 6–7 jednostek glukozy), które podczas dłuższego działania enzymu rozkładają się do maltozy. Poziom aktywności enzymu w ślinie cechują zmiany międzypersoniczne, dobowe oraz zróżnicowanie wraz z wiekiem. Jako inicjator rozkładu  $\alpha$ -glikanów może odgrywać pewną rolę w rozwoju próchnicy. Wyniki badań nie wyjaśniły jednak ostatecznie związku aktywności amylazy w ślinie z próchnicą zębów, gdyż uzyskane dane wahały się od pozytywnej, braku korelacji do negatywnej współzmienności [17–20]. Z badań Kaczmarek [21] wynika natomiast niższy poziom aktywności  $\alpha$ -amylazy w ślinie mieszananej u dzieci podatnych na próchnicę w porównaniu z opornymi. Dane te mogą świadczyć o wolniejszym rozkładzie  $\alpha$ -glikanów w jamie ustnej osób opornych i dostarczaniu mniejszej ilości produktów dostępnych dla dalszych przemian. Badania nad związkiem aktywności enzymu w ślinie z zaawansowaniem zakażenia w przyzębiu dały negatywny rezultat [22]. Obecność amylaz wewnątrz ekosystemu płytki bakteryjnej jest ważna funkcjonalnie, gdyż mogą one degradować wewnątrzkomórkowe bakterijskie polisacharydy na di- i monosacharydy ulegające dalszym reakcjom metabolicznym.

Celem pracy jest porównanie poziomu aktywności  $\alpha$ -amylazy w ślinie u dzieci chorych na cukrzycę typu 1 i u dzieci zdrowych. Dodatkowym celem jest określenie, czy zmiany aktywności enzymu wpływają na stan jamy ustnej, czy są spowodowane przebiegiem choroby i czy mogą być przydatne w ocenie zaawansowania choroby.

## Material i metody

Zbadano 131 dzieci obojga płci w wieku od 5–18 lat (średnia wieku 12,2), w tym 80 dzieci chorych na cukrzycę typu 1 – grupa A i 51 dzieci ogólnie zdrowych – grupa kontrolna O. Grupę chorych stanowiły dzieci leczone w Klinice Endokrynologii Wiekowej AM we Wrocławiu, a kontrolną – dzieci uczęszczające do dwóch wrocławskich szkół podstawowych.

Ocenę stanu uzębienia przeprowadzono według kryteriów ŚOZ, obliczając liczbę zębów dotkniętych procesem próchnicowym, wypełnionych i usuniętych (puw/z i PUW/Z). W supernatancie niestymulowanej śliny mieszananej, pobieranej w jednakowych warunkach, oznaczano aktywność  $\alpha$ -amylazy – Amy (metodą kolorymetryczną Caraway’a) i białko całkowite – B (mikrometodą Lowry’ego) oraz określano szybkość wydzielania śliny – V (ml/min). Aktywność enzymu wyrażono w jednostkach stężeniowo-objętościowych (J/ml) jako aktywność właściwą w przeliczeniu na 1 mg białka (J/mgB) i w odniesieniu do jej sekrecji w czasie 1 minuty, tzw. wypływ (J/min). Wartości HbA<sub>1c</sub> w surowicy krwi dzieci chorych uzyskano z Poradni Kliniki Endokrynologii Wiekowej podczas okresowo przeprowadzanych badań kontrolnych. Dzieci chore podzielono na podgrupy w zależności od czasu trwania choroby – podgrupa A-1 (chorujące do 3 lat, n = 40) i podgrupa A-2 (chorujące 3 lata i dłużej, n = 40) oraz w odniesieniu do kontroli metabolicznej choroby, tj. stężenia glikozylowanej hemoglobiny we krwi (HbA<sub>1c</sub>) – podgrupa A-3 (HbA<sub>1c</sub> < 8,5%, n = 19) i podgrupa A-4 (HbA<sub>1c</sub> > 8,5%, n = 61).

Uzyskane dane poddano analizie statystycznej za pomocą testu *t*-Studenta. Korelacje między badanymi parametrami zbadano za pomocą współczynnika korelacji Pearsona. Za istotny statystyczny przyjęto poziom  $p < 0,05$ .

## Wyniki

U dzieci chorych w porównaniu ze zdrowymi zaobserwowano istotnie częstsze występowanie próchnicy ( $p < 0,05$ ) i większą liczbę zębów mlecznych lub/i stałych objętych procesem próchnicowym wynoszącą odpowiednio  $6,40 \pm 3,24$  i  $4,59 \pm 2,87$ , a także liczbę zębów z niewypełnionymi ubytkami ( $p < 0,001$ ) (tab. 1). Szybkość wydzielania śliny była mniejsza o około 45% ( $p < 0,01$ ) u dzieci chorych w porównaniu ze zdrowymi oraz wynosiła przeciętnie odpowiednio  $0,20 \pm 0,11$  ml/min i  $0,34 \pm 0,20$  ml/min (tab. 2). Zawartość białka była istotnie większa ( $p < 0,01$ ) u dzieci chorych niż zdrowych ( $1,47 \pm 0,62$  mg/ml vs.  $1,19 \pm 0,43$  mg/ml). Poziom aktywności  $\alpha$ -amylazy wyrażony w jednostkach stężeniowo-objętościowych był zmiennie większy ( $p < 0,01$ ) u dzieci chorych w odniesieniu do zdrowych (odpowiednio  $896,68 \pm 647,76$  J/ml i  $602,89 \pm 427,20$  J/ml). Aktywność właściwa enzymu natomiast (przeliczona w odniesieniu do zawartości białka) była tylko nieznacznie większa u dzieci chorych (o około 10%), a jej wypływ w jednostce czasu (w czasie 1 minuty) był nieco mniejszy (o około 17%). Anali-

**Tabela 1.** Frekwencja i intensywność próchnicy u dzieci chorych i zdrowych**Table 1.** Caries frequency and severity in ill and healthy children

Grupa (Group)	A	O	Poziom istotności różnic (Level of significant differences)
Frekwencja próchnicy (Caries frequency)	97,5% (78/80)	90,2% (46/51)	$p < 0,05$
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
puw/z + PUW/Z (dmf/t + DMF/T)	$6,40 \pm 3,24$	$4,59 \pm 2,87$	$p < 0,001$
p/z + P/Z (d/t + D/T)	$3,38 \pm 3,43$	$1,37 \pm 1,57$	$p < 0,001$

**Tabela 2.** Poziomy badanych parametrów śliny u dzieci chorych i zdrowych**Table 2.** Levels of studied salivary parameters in ill and healthy children

Grupa (Group)	A	O	Poziom istotności różnic (Level of significant differences)
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
V ml/min	$0,20 \pm 0,11$	$0,34 \pm 0,20$	$p < 0,001$
B ml/mg	$1,47 \pm 0,62$	$1,19 \pm 0,43$	$p < 0,01$
Amy J/ml	$896,68 \pm 647,76$	$602,89 \pm 427,20$	$p < 0,01$
Aktywność właściwa (Specific activity) Amy J/mgB	$658,54 \pm 506,41$	$597,44 \pm 502,51$	–
Wypływ (Output) Amy J/min	$170,55 \pm 132,24$	$200,12 \pm 174,15$	–

za korelacji rozpatrywanych wskaźników w odniesieniu do czasu trwania choroby nie wykazała istotnej współzmienności (tab. 3). U dzieci chorych zaobserwowano natomiast dodatnią korelację stężenia białka z aktywnością  $\alpha$ -amylazy, a ponadto pozytywną korelację stężenia białka z liczbą zębów dotkniętych procesem próchnicowym (puw/z + PUW/Z; p/z + P/Z).

Intensywność próchnicy rozpatrywana w odniesieniu do czasu trwania i poziomu kontroli metabolicznej choroby u dzieci chorych nie wykazała istotnych różnic; zaobserwowano nieznacznie mniejszą liczbę zębów dotkniętych próchnicą u dzieci chorujących krócej (podgrupa A-1 vs. A-2) i z lepszą kontrolą glikemiczną (podgrupa A-3 vs. A-4) (tab. 4). U dzieci chorujących do 3 lat w porównaniu z chorującymi powyżej 3 lat (podgrupa A-1 vs. A-2) zauważono istotnie mniejsze stężenie białka ( $p < 0,05$ ), a wyższe poziomy aktywności  $\alpha$ -amylazy wyrażone jako aktywność właściwa i wypływ ( $p < 0,05$ ). Aktywność enzymu natomiast wyrażona w jednostkach stężeniowo-objętościowych (J/ml) była tylko nieznacznie większa (brak istotności statystycznej) w podgrupie A-1, podobnie jak szybkość wydzielania śliny (tab. 5).

Rozpatrując badane parametry śliny w podgrupach dzieci chorych różniących się istotnie poziomem kontroli glikemicznej wyrażonym stężeniem  $HbA_{1C}$ , nie stwierdzono statystycznie znaczących różnic (tab. 6). Zauważono tylko w podgrupie A-3 w odniesieniu do A-4 nieznacznie większą szybkość wydzielania śliny oraz mniejsze stężenie białka i poziom aktywności  $\alpha$ -amylazy niezależnie od sposobu jej wyrażenia.

## Omówienie

W piśmiennictwie nie ma zgodności danych dotyczących intensywności próchnicy u dzieci chorych na cukrzycę. Jest to zrozumiałe, jeśli uwzględni się złożony etiopatomechanizm próchnicy i zróżnicowane oddziaływanie czynników związanych z przebiegiem choroby. Zdeterminowane chorobą niekariogenne nawyki żywieniowe (spożywanie mniejszej ilości rafinowanych węglowodanów) wprawdzie nie sprzyjają rozwojowi zmian próchnicowych, jednak nieprawidłowa kontrola metaboliczna choroby, powodująca zwiększenie glukozy nie tylko we krwi, ale także w ślinie, zwiększa tym samym dostępność substratu dla

**Tabela 3.** Wartości współczynników korelacji badanych parametrów śliny u dzieci chorych i zdrowych**Table 3.** Values of correlation coefficients of studied salivary parameters in ill and healthy children

	Grupa O (Group O)				
	V	B	Amy	p/z+P/Z	puw/z+PUW/Z
V	–	–0,20	–0,02	–0,07	0,04
B	–0,35*	–	–0,29*	0,18	0,09
Amy	–0,11	0,30*	–	0,02	0,02
p/z + P/Z (d/t + D/T)	0,00	0,05	0,02	–	
puw/z + PUW/Z (dmf/t + DMF/T)	–0,14	0,28*	0,01	0,65 ***	–
Czas trwania choroby (Duration of disease)	–0,14	0,24	–0,13	–0,14	0,12
Stężenie HbA <sub>1C</sub> (HbA <sub>1C</sub> concentration) %	–0,17	–0,02	0,00	0,017	0,10
	Grupa A (Group A)				

**Tabela 4.** Intensywność próchnicy u dzieci chorych w odniesieniu do czasu trwania i kontroli metabolicznej choroby**Table 4.** Caries severity in ill children in relation to duration and metabolic control of the disease

Podgrupa (Subgroup)	A-1	Istotność różnic (Significant difference)	A-2	Istotność różnic (Significant difference)	Istotność różnic (Significant difference)	Grupa O (Group A)
	x $\pm$ SD	A-1 vs. A-2	x $\pm$ SD	A-1 vs. O	A-2 vs. O	
puw/z + PUW/Z (dmf/t + DMF/T)	6,20 $\pm$ 3,32	–	6,60 $\pm$ 3,19	p < 0,05	p < 0,01	4,59 $\pm$ 2,87
p/z + P/Z (d/t + D/T)	3,93 $\pm$ 3,72	–	2,83 $\pm$ 3,05	p < 0,001	p < 0,05	1,37 $\pm$ 1,57
	A-3	A-3 vs. A-4	A-4	A-3 vs. A-O	A-4 vs. A-O	
puw/z + PUW/Z (dmf/t + DMF/T)	6,32 $\pm$ 3,53		6,43 $\pm$ 3,18	p < 0,05	p < 0,001	4,59 $\pm$ 2,87
p/z + P/Z (d/t + D/T)	2,47 $\pm$ 2,57		3,66 $\pm$ 3,62	p < 0,05	p < 0,001	1,37 $\pm$ 1,57

bakteryjnych przemian metabolicznych. Obserwowane również w następstwie zmian patologicznych gruczołów ślinowych zmniejszenie wydzielania śliny obniża jej oddziaływanie modyfikujące proces próchnicowy. Tenovuo et al. [17] i Ben-Aryeh et al. [8] zaobserwowali jednakową podatność na próchnicę u osób chorych i zdrowych. Podobnie natomiast, jak w badaniach własnych (tab. 1), Lopez et al. [13] zaobserwowali u dzieci z cukrzycą większą intensywność próchnicy – większą liczbę zębów dotkniętych próchnicą niż u dzieci zdrowych. Karjalainen et al. [11] analizowali związek próchnicy z równowagą metaboliczną choroby. Dzieci chore na cukrzycę podzielili na trzy grupy: z dobrą (HbA<sub>1C</sub> < 10%), umiarkowaną (HbA<sub>1C</sub> 10,0–12,9%) i złą (HbA<sub>1C</sub> > 13%) kontro-

lę glikemiczną. Wykazali nieistotne zwiększenie powierzchni z próchnicą występujące wraz ze zwiększeniem stężenia HbA<sub>1C</sub> we krwi (odpowiednio 0,2  $\pm$  0,6; 0,3  $\pm$  0,7 i 0,7  $\pm$  1,8), a także istotne zmniejszenie liczby zębów wolnych od próchnicy oraz znamienne większe wartości wskaźnika PW/P w grupie dzieci ze złą kontrolą choroby w odniesieniu do dobrej (odpowiednio 4,1  $\pm$  6,9 i 7,5  $\pm$  9,2; p < 0,008). Dane własne wskazują również na nieco większą intensywność u dzieci z gorszą kontrolą glikemiczną choroby (tab. 4). Przeprowadzona przez Syrjälä et al. [23] za pomocą modelu negatywnej regresji dwumianowej analiza roli kontroli metabolicznej (dobra < 8,5% HbA<sub>1C</sub>, zła > 8,5% HbA<sub>1C</sub>) ujawniła, że nie jest z próchnicą ściśle związane stężenie glu-



**Tabela 5.** Poziomy badanych parametrów śliny u dzieci chorych w zależności od czasu trwania choroby**Table 5.** Levels of studied salivary parameters in ill children in relation to duration of the disease

Podgrupa (Subgroup)	A-1	Istotność różnic (Significant difference) A-1 vs. A-2	A-2	Istotność różnic (Significant difference) A-1 vs. O	Istotność różnic (Significant difference) A-2 vs. O	Grupa O (Group O)
	x ± SD		x ± SD			x ± SD
V ml/min	0,20 ± 0,10		0,19 ± 0,11	p < 0,001	p < 0,001	0,34 ± 0,20
B ml/mg	1,34 ± 0,59	p < 0,05	1,59 ± 0,64		p < 0,001	1,19 ± 0,43
Amy J/ml	991,07 ± 708,81		802,30 ± 573,81	p < 0,001	p < 0,05	602,89 ± 427,20
Aktywność właściwa (Specific activity) Amy J/mgB	781,65 ± 583,09	p < 0,05	535,43 ± 385,20	–	–	597,44 ± 502,51
Wypływ (Output) Amy J/min	196,65 ± 145,80	p < 0,05	144,45 ± 112,99	–	p < 0,05	200,12 ± 174,15

**Tabela 6.** Poziomy badanych parametrów śliny u dzieci chorych w zależności od poziomu kontroli metabolicznej choroby**Table 6.** Levels of studied salivary parameters in ill children in relation to level of metabolic control of the disease

Podgrupa (Subgroup)	A-1	Istotność różnic (Significant difference) A-3 vs. A-4	A-2	Istotność różnic (Significant difference) A-3 vs. O	Istotność różnic (Significant difference) A-4 vs. O	Grupa O (Group O)
	x ± SD		x ± SD			x ± SD
V ml/min	0,22 ± 0,14	–	0,19 ± 0,10	p < 0,05	p < 0,001	0,34 ± 0,20
B ml/mg	1,43 ± 0,56	–	1,48 ± 0,65	p < 0,05	p < 0,01	1,19 ± 0,43
Amy J/ml	741,64 ± 446,79	–	944,98 ± 694,69	–	p < 0,01	602,89 ± 427,20
Aktywność właściwa (Specific activity) Amy J/mgB	584,64 ± 436,55	–	681,56 ± 527,46	–	–	597,44 ± 502,51
Wypływ (Output) Amy J/min	146,75 ± 100,37	–	177,96 ± 140,60	–	p < 0,05	200,12 ± 174,15
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,57 ± 0,51	p < 0,001	11,21 ± 2,14			

kozylowanej hemoglobiny, lecz duża liczba bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacilli* spp. w ślinie. U osób ze złą kontrolą choroby bowiem w przeciwieństwie do osób z dobrą kontrolą stwierdzono istotny związek z wyższymi poziomami tych bakterii. Autorzy zatem wnioskowali, że w wyniku nieprawidłowej kontroli glikemicznej zwiększa się zależność rozwoju próchnicy od liczby bakterii *Streptococcus mutans* i *Lactobacilli* spp.

Jak już wspomniano we wstępie pracy, jednym z pierwszych objawów cukrzycy typu 1 jest kserostomia, będąca wynikiem zwiększenia dehydratacji. Obserwacje kliniczne pacjentów ujawniają powiększone gruczoły ślinowe, zwłaszcza przyusznice [24]. Przeprowadzone przez Markopoulos i Belazi [25] badania histopatologiczne i immunohistochemiczne małych gruczołów ślino-

wych umiejscowionych na błonie śluzowej w obrębie wargi (tzw. wargowe gruczoły ślinowe) u dzieci chorych na cukrzycę wskazują na zmiany w postaci nacieczeń limfocytarnych podobnych do nacieków w trzustce. Sugeruje to wspólny lub bardzo podobny antygen docelowy procesu autoimmunologicznego występującego w obu organach charakteryzujących się wspólnym pochodzeniem rozwojowym. Inną przyczyną zmniejszenia sekrecji gruczołów ślinowych są powikłania choroby w postaci neuropatii i angiopatii w obrębie śliniasek oraz zmniejszenie się liczby receptorów na powierzchni komórek gruczołowych [26, 27].

Badania dotyczące oceny szybkości wydzielania spoczynkowej lub stymulowanej śliny mieszanej nie są całkowicie zgodne. Ben-Aryeh et al. [8] wykazali istotne zmniejszenie wydzielania spoczynko-

wej i stymulowanej śliny całkowitej u chorych. Podobne wyniki uzyskali w swojej pracy Iughetti et al. [14]. Mniejszą szybkość wydzielania niestymulowanej śliny mieszanej u dzieci chorych zaobserwowali Belazi et al. [9] i Lopez et al. [13]. Moore et al. [15] w ocenie epidemiologicznej zbadali częstość występowania kserostomii i szybkość wydzielania śliny u chorych na cukrzycę typu 1 z powikłaniami w postaci retinopatii, obwodowej i autonomicznej neuropatii, nefropatii oraz zmian w naczyniach obwodowych. Wykazali, że spośród rozpatrywanych powikłań tylko neuropatia była związana z kserostomią i zmniejszeniem wydzielania śliny. Dane własne potwierdzają przytoczone powyżej wyniki badań, gdyż stwierdzono istotnie mniejszą szybkość wydzielania śliny u dzieci chorych w porównaniu ze zdrowymi (tab. 2). Tenovuo et al. [7] oraz Aren et al. [28] natomiast nie stwierdzili istotnych różnic w szybkości wydzielania stymulowanej parafiną śliny całkowitej między chorymi na cukrzycę i zdrowymi. W badaniach własnych wykazano jedynie niewielkie różnice w sekrecji śliny między podgrupami dzieci różniącymi się stężeniem glukozyzowanej hemoglobiny we krwi (tab. 6). Obserwacja ta jest zgodna z wynikami Karjalainen et al. [11] i Syrjälä et al. [23] sugerującymi niewielkie zmniejszenie szybkości wydzielania śliny wraz z pogorszeniem kontroli glikemicznej chorych.

Nie ma również zgodności danych odnośnie do poziomu białka całkowitego w ślinie chorych na cukrzycę. Może to być związane z występowaniem zróżnicowanych indywidualnie zmian spowodowanych cukrzycą, a także zmniejszeniem szybkości wydzielania śliny. Dane własne wskazują na istotne zmniejszenie białka całkowitego w ślinie u dzieci chorych (tab. 2), co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez Yavuzylmaz et al. [12], Belazi et al. [9] i Lopez et al. [13]. Tenovuo et al. [7] i Ben-Aryeh et al. [8] nie wykazali natomiast istotnych różnic. Zaobserwowaną w wynikach własnych negatywną korelację poziomu białka z szybkością wydzielania śliny stwierdzili również Lopez et al. [13] oraz Moore et al. [15].

Uzyskano zróżnicowane wyniki poziomu aktywności  $\alpha$ -amylazy w ślinie dzieci chorych na cukrzycę. Tenovuo et al. [7] zaobserwowali nieznacznie mniejszą aktywność enzymu w ślinie osób chorych w porównaniu ze zdrowymi, a Ben-

-Aryeh et al. [8] brak istotnych różnic. Z prac innych autorów wynikają przeciwne rezultaty. Yavuzylmaz et al. [12], podobnie jak w badaniu własnym (tab. 2), wykazali istotnie wyższy poziom aktywności w ślinie mieszanej chorych w porównaniu ze zdrowymi. Nieznacznie wyższy poziom aktywności enzymu u dzieci chorych na cukrzycę w odniesieniu do zdrowych zanotowali Lopez et al. [13]. Reuterving et al. [29] nie wykazali związku między poziomem kontroli metabolicznej choroby a poziomem aktywności  $\alpha$ -amylazy w stymulowanej ślinie przyuszczej. Z kolei Dodds i Dodds [30] u nieprawidłowo kontrolowanych dorosłych chorych na cukrzycę typu 2 zaobserwowali zmniejszenie aktywności enzymu w ślinie wraz z poprawą kontroli glikemicznej. Podobną tendencję stwierdzono w wynikach własnych (tab. 6).

W podsumowaniu można stwierdzić, że otrzymane wyniki potwierdzają rezultaty wcześniej przeprowadzonych badań. Wskazują na istotne zwiększenie aktywności  $\alpha$ -amylazy w spoczynkowej ślinie mieszanej dzieci chorych na cukrzycę przemawiające za zmianami w syntezie lub/i wydzielaniu enzymu spowodowanymi chorobą. Sugerują również, że nieprawidłowa kontrola glikemiczna przyczynia się do zwiększenia aktywności tego enzymu w ślinie. Ślina, będąca łatwym do pobrania w sposób nieinwazyjny materiałem biologicznym, może służyć jako pomoc w rozpoznaniu lub monitorowaniu cukrzycy. Badane parametry śliny wskazują, że ich poziom jest związany raczej z ogólnym stanem zdrowia niż ze zdrowiem jamy ustnej. Zatem oznaczanie poziomu aktywności  $\alpha$ -amylazy może być przydatne jako pomocniczy marker kontroli metabolicznej cukrzycy.

## Wnioski

U dzieci chorych na cukrzycę istotnie wzrasta intensywność próchnicy, maleje szybkość wydzielania śliny i wzrastają poziomy białka i  $\alpha$ -amylazy. Nieprawidłowa kontrola glikemiczna choroby zwiększa intensywność próchnicy i aktywność  $\alpha$ -amylazy. Oznaczanie aktywności  $\alpha$ -amylazy może być przydatne jako pomocniczy marker w kontroli metabolicznej cukrzycy.

## Piśmiennictwo

- [1] Report of a WHO Consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization, Geneva 1999, 8–13.
- [2] TUOMILEHTO J., VIRTALA E., KARVONEN M., LUONAMAA R., PITKANIEMI J., REUMANEN A., TUOMILEHTO-WOLF E., TOIVANEN L.: The Dime Study Group: Increase in incidence of insulin-dependent diabetes mellitus among children in Finland. *Int. J. Epidemiol.* 1995, 24, 984–992.
- [3] CHAREMSKA D.: Współczesne poglądy na temat etiopatogenezy cukrzycy typu 1. *Rocz. Med.* 2000, 8, 83–91.

- [4] SYMONIDES-ŁAWECKA A.: Cukrzyca u dzieci. Biblioteka Pediatryczna Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2000, 12–63.
- [5] MATTHEWS D. C.: The relationship between diabetes and periodontal disease. *J. Can. Dent. Assoc.* 2002, 68, 161–164.
- [6] KRZYMIEŃ J.: Hemoglobina glikowana – podstawowy parametr kontroli metabolicznej cukrzycy. *Bad. Diag.* 2001, 7, 65–69.
- [7] TENOVUO J., ALANEN P., LARJAVA H., VIKARI J., LEHTONEN O. P.: Oral health of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand. J. Dent. Res.* 1986, 94, 338–346.
- [8] BEN-ARYEH H., SEROUYA R., KANTER Y., SZRGEL R., LAUFER D.: Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J. Diabetes Complications* 1993, 1, 57–62.
- [9] BELAZI M. A., GALLI-TSINOPOULOU, DRAKOULAKOS D., FLEVA A., PAPANAYIOTOU P. H.: Salivary alternations in insulin-dependent diabetes mellitus. *Int. J. Pediatr. Dent.* 1998, 8, 29–33.
- [10] GUVEN Y., SATMAN I., DINCCAG N., ALPTEKIN S.: Saliva peroxidase activity in whole saliva of patients with insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J. Clin. Periodontol.* 1996, 23, 879–881.
- [11] KARJALAINEN K. M., KNUUTTI M. L., KAAR M. L.: Salivary factors in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Pediatr. Dent.* 1996, 18, 306–311.
- [12] YAVUZYILMAZ E., YUMAK O., AKDOGANLI T., YAMALIK N., OZER N., ERSOY F., YENIAY I.: The alternation of whole saliva constituents in patients with diabetes mellitus. *Aust. Dent. J.* 1996, 41, 193–197.
- [13] LOPEZ M. E., COLLOCA M. E., PAEZ R. G., SCHALLMACH J. N., KOSSSS M. A., CHERVO A.: Salivary characteristics of diabetic children. *Braz. Dent. J.* 2003, 14, 26–31.
- [14] IUGHETTI L., MARINO R., BERTOLANI M. F., BERNASCONI S.: Oral health in children and adolescents with IDDM – a review. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 1999, 12, Suppl 2, 603–610.
- [15] MOORE P. A., GUGGENHEIMER J., ETZEL K. R., WEYANT R. J., ORCHARD T.: Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2001, 92, 281–291.
- [16] KACZMAREK U.: O właściwościach amylaz ślinowych. *Wrocł. Stomat.* 1990, 201–208.
- [17] BATES J. F.: Some observations on the relationships between the concentration of parotid amylase and dietary carbohydrate in human subjects. *Br. Dent. J.* 1962, 112, 114–117.
- [18] WESLEY-HADZIZA B., PIGON H.: Effect of diet in West Africa on human salivary amylase activity. *Archs. Oral Biol.* 1972, 17, 1415–1418.
- [19] MAKINEN K. K., SCHEININ A.: Turku sugar studies. VII. Principal biochemical findings on whole saliva and plaque. *Acta Odont. Scand.* 1976, 34, 241–248.
- [20] LARMAS M., MAKINEN K. K., SCHEININ A.: Studies on dog saliva. IV. The effect of carbohydrate diet on the activity of some hydrolytic enzymes. *Acta Odont. Scand.* 1972, 30, 629–633.
- [21] KACZMAREK U.: Aktywność alfa-amylazy w ślinie osób odpornych i podatnych na próchnicę z rejonów różnej zawartości fluoru w wodzie do picia. *Czas. Stomat.* 1991, 44, 585–589.
- [22] PŁOCICA I., BECK B., NYTKO Ł., WIENCH R.: Aktywność  $\alpha$ -amylazy ślinowej a stan zaawansowania infekcji w przyzębiu. *Czas. Stomat.* 1998, 50, 319–324.
- [23] SYRJALA A.-M. H., NISKANEN M., YLOSTALO P.: Metabolic control as a modifier of the association between salivary factors and dental caries among diabetic patients. *Caries. Res.* 2003, 37, 142–147.
- [24] RUSSOTTO S. B.: Asymptomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1981, 52, 594–598.
- [25] MARKOPOULOS A. K., BELAZI M.: Histopathological and immunohistochemical features of the labial salivary glands in children with type I diabetes. *J. Diab. Complic.* 1998, 12, 39–42.
- [26] LAMEY P. J., FISHER B. M., FRIER B. M.: Salivary gland function in diabetic patients with autonomic neuropathy. *Diabetic Med.* 1986, 3, 537–540.
- [27] WITEK E., BOGUSŁAWSKI-KAPAŁA A., ŻÓŁTOWSKA A., ZEDLER E., JAWOROWSKA G.: Niektóre zmiany patologiczne w jamie ustnej w przebiegu cukrzycy. Wpływ cukrzycy na strukturę i czynność gruczołów ślinowych oraz na ilość i jakość wydzielanej śliny. *Czas. Stomat.* 1999, 52, 528–533.
- [28] AREN G., SEPET E., OZDEMIR D., DINCCAG N., GUVENER B., FIRATLI E.: Periodontal health, salivary status, and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J. Periodontol.* 2003, 12, 1789–1795.
- [29] REUTERVING C. O., REUTERVING G., HAGG E., ERICSON T.: Salivary flow rate and salivary glucose concentration in patients with diabetes mellitus influence of severity of diabetes. *Diabetes Metab.* 1987, 13, 457–462.
- [30] DODDS M. W. J., DODDS B. D. S.: Effects of glycemic control on saliva flow rates and protein composition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1997, 83, 465–470.

### Adres dla korespondencji:

Urszula Kaczmarek  
Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej AM  
ul. Kuźnicza 43/45  
50-138 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 9.05.2005 r.  
Po recenzji: 25.05.2005 r.  
Zaakceptowano do druku: 25.05.2005 r.

Received: 9.05.2005  
Revised: 25.05.2005  
Accepted: 25.05.2005