

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Сарф Е.А., Юнкинд К.С., Бельская Л.В.



<https://elibrary.ru/hklfuo>

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 14 АМИНОКИСЛОТ В СЛЮНЕ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», 644099, г. Омск, Россия

Актуальность. В настоящее время отсутствуют данные, которые бы однозначно устанавливали содержание аминокислот в слюне в норме, а также могли бы служить критериями той или иной патологии. Цель работы – апробация метода капиллярного электрофореза для количественного определения 14 свободных аминокислот в слюне и анализ вариабельности аминокислотного профиля слюны в норме.

Материал и методы. Проведено исследование аминокислотного состава слюны 114 добровольцев (69 женщин и 45 мужчин) методом капиллярного электрофореза. Для 25 образцов слюны было проведено параллельное определение аминокислотного состава методами ВЭЖХ со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием.

Результаты. Показано, что аминокислотный профиль слюны существенно зависит от пола добровольцев, а также от аналитического метода. Метод ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием показывает более высокие концентрации аминокислот в слюне, чем другие методы. При ВЭЖХ с постколоночной модификацией никгидрином и спектрофотометрическим детектированием оказались заниженными концентрации ряда аминокислот в слюне (метионин, треонин, серин).

Заключение. Значения «нормы» должны быть установлены в каждой лаборатории, где проводится анализ аминокислотного профиля слюны, чтобы исключить ошибочную интерпретацию результатов.

Ключевые слова: слюна; капиллярный электрофорез; ВЭЖХ; аминокислоты; референсные значения

Для цитирования: Сарф Е.А., Юнкинд К.С., Бельская Л.В. Количественное определение 14 аминокислот в слюне методом капиллярного электрофореза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (12): 831-836

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-12-831-836>

EDN: HKLFOU

Для корреспонденции: Бельская Людмила Владимировна, канд. хим. наук, зав. научно-исследовательской лабораторией биохимии Омского государственного педагогического университета, e-mail: belskaya@omgpu.ru

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российской научного фонда «Диагностическая и прогностическая значимость аминокислотного профиля слюны при раке молочной железы», проект 23-15-00188.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.08.2025

Принята к печати 14.11.2025

Опубликовано 01.12.2025

Sarf E.A., Yunkind K.S., Bel'skaya L.V.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF 14 AMINO ACIDS IN SALIVA BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Omsk State Pedagogical University, 644099, Omsk, Russia

Background. Currently, there are no data that would unambiguously establish the amino acid content in saliva in the norm, and could serve as criteria for a particular pathology. The purpose of the work is to test the capillary electrophoresis method for the quantitative determination of 14 free amino acids in saliva and analyze the variability of the amino acid profile of saliva in the norm.

Material and methods: The amino acid composition of saliva of 114 volunteers (69 women and 45 men) was studied using capillary electrophoresis. For 25 saliva samples, amino acid composition was determined in parallel using HPLC with spectrophotometric and mass spectrometric detection.

Results: It has been shown that the amino acid profile of saliva depends significantly on the sex of the volunteers, as well as on the method of analysis. The concentrations of amino acids in saliva by HPLC-MS showed higher results than other methods. During HPLC with post-column modification with ninhydrin and spectrophotometric detection, the concentrations of a number of amino acids in saliva (methionine, threonine, and serine) were underestimated.

Conclusion: Therefore, normal values should be established in each laboratory where salivary amino acid profiling is performed to avoid misinterpretation of results.

Key words: saliva; capillary electrophoresis; HPLC; amino acids; reference values

For citation: Sarf E.A., Yunkind K.S., Bel'skaya L.V. Quantitative determination of 14 amino acids in saliva by capillary electrophoresis.

Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2025; 70 (12): 831-836 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-12-831-836>

EDN: HKLFOU

For correspondence: Bel'skaya L.V., PhD in Chemistry, Head of Laboratory, Biochemistry Research Laboratory, Omsk State Pedagogical University; e-mail: belskaya@omgpu.ru

Information about authors:

Sarf E.A., <https://orcid.org/0000-0003-4918-6937>;

Yunkind K.S., <https://orcid.org/0009-0000-5074-9069>;

Bel'skaya L.V., <https://orcid.org/0000-0002-6147-4854>.

Acknowledgment. This research was funded by Russian Science Foundation, grant number 23-15-00188.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 28.08.2025
Accepted 14.11.2025
Published 01.12.2025

ВВЕДЕНИЕ

Аминокислоты (АМК) являются основными структурными элементами белков, которые участвуют в различных биохимических процессах, а также выполняют сигнальные функции [1]. АМК участвуют в синтезе нуклеиновых кислот, сигнальных молекул (цитокинов, хемокинов), нейромедиаторов, а также в углеводном и липидном метаболизме. АМК играют ключевую роль в иммунном ответе и экспрессии генов через участие в биохимических процессах, связанных с активацией иммунных клеток и регуляцией активности генов. В целом, определение аминокислотного состава биологических жидкостей имеет большое значение для изучения метаболических нарушений [2].

Слюна является одной из наиболее подходящих жидкостей организма для анализа АМК, поскольку характеризуется относительно стабильным содержанием АМК по сравнению с плазмой и мочой [3, 4]. В частности, после употребления богатой белком пищи в слюне наблюдались незначительные изменения аминокислотного состава в отличие от крови и мочи [5]. Аминокислоты могут попадать в слюну из крови за счет ультрафильтрации, пассивной диффузии и активного транспорта, а также из выводных протоков слюнных желез при биосинтезе белкового секрета в ацинарных клетках при помощи натрий-зависимых мембранных транспортеров [1]. Концентрации АМК в слюне можно рассматривать в качестве биомаркеров болезни Альцгеймера, а также ряда онкологических заболеваний [3, 6–9]. Диагностика и лечение широкого спектра метаболических расстройств, таких как фенилкетонурия, синдром кленнового сиропа и цистинурия, в значительной степени зависит от количественной оценки уровня свободных АМК в биологических жидкостях – слюне и плазме крови [10]. В настоящее время анализ уровня АМК в биологических жидкостях пока не нашел практического применения, что обусловлено высокой стоимостью, трудоемкостью и сложностью интерпретации данных. Отсутствуют референсные значения содержания АМК в слюне, отклонения от которых могли бы служить критериями той или иной патологии.

Целью работы явилась апробация метода капиллярного электрофореза для количественного определения 14 свободных АМК в слюне и анализ вариабельности аминокислотного профиля слюны в норме.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании случай – контроль приняли участие здоровые добровольцы (69 женщин, возраст $40,1 \pm 2,3$ лет; 45 мужчин, возраст, $45,9 \pm 2,0$ лет). Образцы слюны собирали утром натощак путем сплевывания в стерильные полипропиленовые пробирки после предварительного полоскания полости рта кипяченой водой. Образцы слюны центрифугировали при 10000 г в течение 10 минут при комнатной температуре (ЦЛн-16, Россия), отбирали надосадочную жидкость, переносили в пробирки типа Эплендорф и хранили при температуре -80°C до проведения анализа. Для всех образцов слюны был проведен анализ аминокислот методом капиллярного

пиллярного электрофореза. Параллельно в 25 образцах слюны было проведено определение аминокислотного состава методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием.

Определение аминокислотного состава слюны методом капиллярного электрофореза. Анализ проводили с использованием системы капиллярного электрофореза КАПЕЛЬ-105М с положительной полярностью источника высокого напряжения (Люмэкс, Санкт-Петербург). Ведущий электролит – фосфатный буферный раствор pH = 7,7–7,8 (фосфаты 30 ммол/л, β -циклогексстрин 4 ммол/л). Для проведения исследований использован кварцевый капилляр $L_{\text{эф}} / L_{\text{общ}} = 65/75$ см, внутренний диаметр 50 мкм. Ввод пробы в капилляр – пневматический (30 мбар, 5 с.), постоянное напряжение – 25 кВ, температура +30 °C, время разделения 17–18 минут, рабочая длина волны фотометрического детектора – 254 нм [11].

Для анализа содержания свободных АМК предварительно были получены их фенилизотиокарбамильные (ФТК) производные. Для этого исследуемый образец слюны объемом 300 мкл смешивали со 150 мкл раствора карбоната натрия (0,1 моль/л) и 300 мкл раствора фенилизотиоцианата (ФИТЦ) в изопропиловом спирте [11, 12], тщательно перемешивали до растворения осадка, оставляли на 35 мин¹ при комнатной температуре, после чего выпаривали досуха в струе теплого воздуха. Время экспозиции 35 минут обусловлено тем, что за это время достигается полное взаимодействие ФИТЦ с N-концевой аминокислотой пептида без избыточного модифицирования других участков молекулы и формируются стабильные ФТК-производные, которые можно выделить и идентифицировать, но при этом не происходит их деградации. Изопропиловый спирт обеспечивает достаточную растворимость ФИТЦ и его равномерное распределение в реакционной смеси именно в течение этого временного промежутка. Сухие остатки растворяли в 500 мкл дистиллированной воды и использовали для анализа в течение рабочего дня.

Количественное определение АМК проводили по калибровочным графикам, построенным с использованием готового стандартного раствора смеси АМК (Sigma-Aldrich), включающей 17 аминокислот (аргинин – Arg, лизин – Lys, тирозин – Tyg, фенилаланин – Phe, гистидин – His, лейцин – Leu, изолейцин – Ile, метионин – Met, валин – Val, пролин – Pro, треонин – Thr, серин – Ser, аланин – Ala, глицин – Gly, цистеин – Cys, глутаминовая кислота – Glu, аспарагиновая кислота – Asp). В выбранной схеме анализа возможно количественное определение 14 аминокислот (рисунок). Для Cys, Glu и Asp предусмотрена отдельная схема определения при давлении 50 мбар [12]. Триптофан, глутамин и аспарагин не входили в состав готового набора аминокислот, поэтому в рамках данной работы не были определены. Правильность и воспроизводимость результатов определения АМК в образцах слюны подтверждены методом «введенено-найдено» [13].

¹ ГОСТ Р 55569-2013 КОРМА, КОМБИКОРМА, КОМБИКОРМОВОЕ СЫРЬЕ Определение протеиногенных аминокислот методом капиллярного электрофореза

К одному и тому же исходному образцу слюны добавляли стандартные образцы АМК с известной концентрацией (не менее 3 различных концентраций), таким образом проверяли как правильность идентификации пика на электрофорограмме, так и точность расчета концентрации. Погрешность определения АМК во всех случаях не превышала 20 %.

Определение аминокислотного состава слюны методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. Исследование образцов осуществляли путем высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе 1260 Infinity II (Agilent, США) с детектированием на масс-спектрометре 6460 Triple Quad (Agilent, США). Разделение образцов осуществляли методом жидкостной хроматографии в колонке Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 2,1×100 мм с диаметром частиц 1,8 мкм (Agilent, США). Для расчёта концентраций использовали метод внутреннего стандарта, в качестве которого применяли аланин, меченный дейтерием (аланин-d4, sc-480386, Santa Cruz Bio technology Inc., США). Для построения калибровочной шкалы использовали 6-8 градуировочных смесей с разными концентрациями аминокислот (Jasem, Турция). Производилось автоматическое интегрирование хроматограмм с помощью программного обеспечения «Quantitative Quant-my-way» фирмы «Agilent».

Определение аминокислотного состава слюны методом ВЭЖХ. Анализ выполняли на автоматическом анализаторе LA8080 (Hitachi, Япония), оснащенным колонкой 80×4,6 мм с ионообменной смолой марки 2622 (Hitachi, Япония) и предколонкой для подавления аммонийного пика, постколоночным реактором для

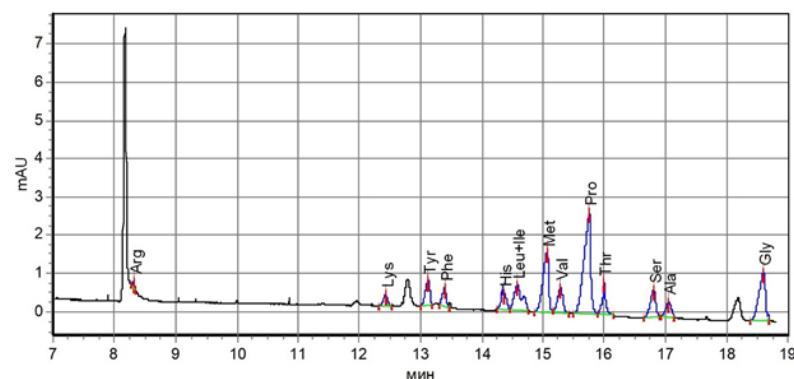


Рис. Пример электрофорограммы образца слюны (14 аминокислот). До пика Arg на электрофорограмме выходит метка электроосмотического потока. По оси ординат: mAU — milliAdsorbent Unit — оптическая плотность.

сорбента модификации аминокислот нингидрином и спектрофотометрическим детектором. Параметры работы блоков анализатора: температура колонки 20–90 °С, рабочее давление 1,6 МПа, поток элюента 0,2 мл/мин, измерительные каналы с длинами волн 440 нм и 570 нм. Анализ выполнялся на базе Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН по адаптированной программе, включающей подачу пяти элюентов с различным составом и pH при определенных значениях температуры и позволяющей добиться наилучшего разделения смеси аминокислот. Для количественной оценки непосредственно перед анализом серии проб в тех же условиях проводили анализ стандартной смеси АМК с известной концентрацией для калибровки (Pickering calibration standard, США).

Обработка результатов выполнена параметрическим методом с использованием программы Statistica

Таблица 1

Аминокислотный состав слюны (M ± δ), собственные и литературные данные

АМК, нмоль/л	Собственные данные	Литературные данные					
		Syrjänen et al., 1990 [14]	Brand et al., 1997 [15]	Cheng et al., 2015 [6]	Ishikawa et al., 2017 [16]	Kumari et al., 2020 [17]	Balci et al., 2021 [4]
		<i>n</i> = 114 (69/45*)	<i>n</i> = 5 (NA)	<i>n</i> = 18 (7/11)	<i>n</i> = 28 (28/0)	<i>n</i> = 44 (28/16)	<i>n</i> = 37 (23/14)
Arg	19,38 ± 5,89	29,0 ± 5,3	6,07 ± 0,78	7,14 ± 3,25	NA	NA	9,06 ± 6,33
Lys	55,87 ± 15,37	31,0 ± 18,4	NA	22,94 ± 15,83	103,5 ± 121,9	778,2 ± 415,5	36,71 ± 25,98
Tyr	37,83 ± 12,38	21,9 ± 12,5	56,49 ± 10,81	NA	NA	94,3 ± 119,3	15,66 ± 16,44
Phe	28,84 ± 4,97	11,3 ± 5,3	NA	2,97 ± 2,97	NA	79,9 ± 134,5	20,24 ± 24,63
His	34,85 ± 10,14	13,4 ± 4,6	NA	6,67 ± 5,97	NA	65,3 ± 86,5	28,88 ± 26,35
Ile	36,24 ± 7,98	16,0 ± 4,8	NA	8,17 ± 10,25	22,01 ± 26,32	NA	8,4 ± 10,59
Leu		5,1 ± 1,8	NA		8,73 ± 10,96	41,5 ± 22,8	4,37 ± 6,40
Met	99,45 ± 24,16	NA	NA	0,16 ± 0,43	2,11 ± 3,45	NA	0,03 ± 0,05
Val	28,37 ± 10,35	12,0 ± 3,1	5,84 ± 0,76	2,12 ± 1,77	19,85 ± 23,16	76,0 ± 124,6	27,06 ± 23,63
Pro	148,3 ± 57,10	49,3 ± 26,0	NA	47,03 ± 39,19	NA	NA	176,2 ± 175,2
Thr	22,45 ± 8,25	6,8 ± 6,5	6,53 ± 0,67	2,56 ± 1,86	10,89 ± 12,43	NA	5,11 ± 6,96
Ser	42,72 ± 12,85	13,6 ± 6,5	8,77 ± 1,94	7,74 ± 5,87	NA	NA	15,33 ± 20,76
Ala	76,50 ± 16,88	21,1 ± 15,2	12,43 ± 1,46	128,02 ± 137,95	69,62 ± 80,57	151,8 ± 115,4	57,67 ± 38,44
Gly	274,2 ± 77,33	76,6 ± 51,8	42,69 ± 7,15	NA	NA	150,6 ± 81,9	NA

Примечание. * - В числителе указано число женщин, в знаменателе – мужчин в соответствующей выборке, NA – не оценивалось.

13.3 EN software (StatSoft, Tulsa, OK, USA) после предварительной проверки характера распределения данных. Результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm \delta$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Методом капиллярного электрофореза определено содержание 14 свободных аминокислот в слюне, при этом пики лейцина и изолейцина на электрофореграмме полностью не разделялись, поэтому было рассчитано суммарное содержание этих АМК (табл.1). При анализе литературы показано, что ни в одном источнике не приведены данные о содержании всех 14 АМК в одной и той же пробе слюны в норме. При этом данные разных авторов по концентрации отдельных аминокислот в слюне существенно расходятся между собой.

Следует отметить, что размер выборок в проанализированных литературных источниках был небольшим, и выборки различались по соотношению мужчин и женщин (см. табл.1). Поэтому нами было проведено сравнение аминокислотного состава слюны в зависимости от пола (табл.2). Установлено, что концентрация АМК в слюне женщин статистически значимо выше, чем у мужчин, что может являться одной из причин расхождения литературных данных. Для соотношения АМК различия по полу выражены в меньшей степени. Например, соотношение Arg/Lys составило $0,38 \pm 0,18$ и $0,34 \pm 0,11$ для мужчин и женщин соответственно, статистически значимых различий между подгруппами по полу не установлено.

К другим вероятным факторам можно отнести различия в методах анализа (табл. 3). В частности, для одной и той же выборки данные, полученные разными методами, различались в разы. Например, концентрация Val в слюне, установленная методом капиллярного электрофореза и ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием, почти не различалась. В то же время концентрация, определенная методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием, была в 50 раз выше (табл.3). Поскольку для всех трех методов определения АМК проводилась предварительная калибровка и контроль качества, нет оснований предполагать наличие погрешностей при выполнении анализа. Однако такие большие расхождения результатов анализов АМК делают невозможным сравнение результатов, полученных разными методами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Методы определения АМК в биологических образцах включают этапы разделения анализов после экстракции и дериватизации [18]. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) используется в сочетании с масс-спектрометрическими, флуоресцентными, ультрафиолетовыми и многоволновыми детекторами [19–22]. Важной альтернативой для определения АМК в биологических образцах являются газовая хроматография с различными типами детекторов [23, 24] и капиллярный электрофорез [25–27], в том числе в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием [28]. В целом развитие аналитических методов идет в направлении одновременного определения максимально возможного количества анализов, в том числе АМК [4, 18].

В данной работе показано, что результаты опре-

Таблица 2
Аминокислотный состав слюны у обследованных лиц разного пола ($M \pm \delta$)

АМК, нмоль/л	Мужчины, n = 45	Женщины, n = 69	p-value
Arg	10,17 ± 2,74	25,11 ± 6,98	0,001160
Lys	27,02 ± 4,33	74,15 ± 18,22	0,000005
Тyr	19,58 ± 3,54	49,57 ± 15,12	0,000003
Phe	11,80 ± 1,82	31,59 ± 5,55	0,000000
His	22,57 ± 6,03	42,85 ± 12,10	0,002885
Leu+Ile	18,44 ± 2,39	47,69 ± 9,16	0,000001
Met	57,13 ± 14,74	126,3 ± 27,67	0,000018
Val	23,29 ± 5,82	31,59 ± 12,67	0,903045
Pro	48,00 ± 12,82	212,8 ± 68,68	0,000000
Thr	12,91 ± 10,17	28,36 ± 8,01	0,000005
Ser	21,17 ± 4,96	56,37 ± 15,30	0,000152
Ala	49,93 ± 11,46	93,34 ± 19,31	0,001680
Gly	144,8 ± 23,27	356,3 ± 92,86	0,000339

Таблица 3
Аминокислотный профиль слюны в зависимости от метода анализа

АМК, нмоль/л	ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором	ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором	Капиллярный электрофорез
Arg	30,82 ± 9,53	27,78 ± 6,28	25,11 ± 6,98
Lys	Нет данных	36,04 ± 9,08	74,15 ± 18,22
Тyr	115,6 ± 26,81	48,98 ± 6,95	49,57 ± 15,12
Phe	61,18 ± 23,58	59,62 ± 14,83	31,59 ± 5,55
His	89,66 ± 29,42	26,86 ± 4,26	42,85 ± 12,10
Leu+Ile	74,55 ± 44,69	20,18 ± 4,50 11,27 ± 2,19	47,69 ± 9,16
Met	36,79 ± 6,79	4,00 ± 1,01	126,3 ± 27,67
Val	1572,8 ± 1580,8	25,98 ± 8,48	31,59 ± 12,67
Pro	133,8 ± 41,68	85,25 ± 16,96	212,8 ± 68,68
Thr	251,1 ± 45,04	1,93 ± 0,23	28,36 ± 8,01
Ser	82,22 ± 30,64	10,29 ± 4,03	56,37 ± 15,30
Ala	127,3 ± 39,07	60,70 ± 13,18	93,34 ± 19,31
Gly	371,4 ± 207,4	172,6 ± 37,43	356,3 ± 92,86

деления концентрации АМК методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием выше, чем при использовании других методов. В качестве причин расхождения результатов можно рассматривать различные условия пробоподготовки, а также более низкое соотношение сигнал/шум для хроматографических методов по сравнению с электрофорезом, что может приводить к завышению результатов. Для капиллярного электрофореза характерен плоский профиль электроосмотического потока, а также большее число теоретических тарелок, что повышает эффективность разделения и снижает время выхода пика [29]. При ВЭЖХ с пост-

колоночной модификацией нингидрином и спектрофотометрическим детектированием оказались заниженными концентрации ряда АМК в слюне (метионин, треонин, серин). Таким образом, корректное сравнение данных между собой возможно только в случае использования одного и того же метода анализа, а установленные одним методом нормальные (референсные) значения могут не совпадать с аналогичными значениями, полученными другими методами. Значения «нормы» должны быть установлены в каждой лаборатории, где проводится анализ аминокислотного профиля слюны и его изменений при определенной патологии, чтобы исключить ошибочную интерпретацию результатов. Среди возможных причин расхождения результатов, полученных разными методами на одной выборке, можно отметить наличие матричных эффектов, взаимные влияния компонентов пробы, неполноту извлечения или концентрирования, различия в пробоподготовке, а также погрешности в хранении и транспортировке проб. В таких случаях даже соблюдение обязательной предварительной калибровки с использованием стандартной смеси АМК не гарантирует правильность анализа. В случае капиллярного электрофореза для каждой АМК нами проведена дополнительная проверка правильности определения методом «Введено-найдено» [13]. Поскольку точная причина расхождения результатов анализа АМК разными методами не установлена, сравнение результатов, полученных разными методами, не является корректным. Наиболее приемлемым является установление для каждого метода анализа своих референсных значений уровня АМК в биологических жидкостях и/или переход к относительным единицам при интерпретации данных (относительно контроля или внутреннего стандарта).

Уровень большинства АМК в слюне относительно высок, что согласуется с данными литературы [30-32]. Тем не менее, уровни различных АМК, по литературным данным, варьируют в широких пределах (табл.1), что, среди прочего, обусловлено малым размером выборок и их неоднородностью. Это, в свою очередь, накладывает ограничения на критерии формирования выборки и расчета ее размера для получения корректных и воспроизводимых результатов. Одной из причин более высокого содержания АМК в слюне женщин можно считать более низкую скорость саливации по сравнению с мужчинами, что обусловлено меньшим размером слюнных желез [33]. Размер и функциональная активность слюнных желез влияют на объём и состав слюны, которая выделяется в ротовую полость. По мере прохождения первичного секрета по протокам происходят активные транспортные процессы, которые изменяют состав слюны. Концентрация АМК в слюне также меняется в зависимости от скорости саливации и вида стимуляции слюноотделения.

Поскольку данные о АМК-спектре слюны в норме и при патологии отрывочны и противоречивы, необходимо проведение полномасштабных исследований, которые подтвердили бы возможности и перспективы применения метода в клинике. Метод капиллярного электрофореза может быть полезным инструментом для реализации этой цели. В качестве примера можно привести анализ содержания АМК в слюне при онкологических заболеваниях [34]. Основная часть иссле-

дований, приведенных в литературе, относится к раку полости рта (38,1 %), молочной железы (19,0 %), желудка (14,3 %), легкого (9,5 %), глиобластоме (9,5 %); по одному исследованию касается колоректального рака (4,8 %), рака поджелудочной железы (4,8%), щитовидной железы (4,8 %) и печени (4,8%). Лидирующая роль в диагностике рака по слюне отведена аминокислотам Ala, Val, Phe, Leu и Ile. В самостоятельном варианте определение АМК проводится редко: авторы комбинируют АМК либо между собой, либо с другими метаболитами, что позволяет получить высокие значения чувствительности и специфичности. Нами ранее показано, что АМК состав слюны в норме, при раке молочной железы и при доброкачественных заболеваниях молочных желез статистически значимо различается [35]. Так, на основе данных о содержании в слюне гамма-аминомасляной кислоты (GABA), гидроксилизина (Hyl), Arg, His, Pro и карнозина (Car) можно построить дерево решений для выявления рака молочной железы с чувствительностью 85,3 % и специфичностью 72,0 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Апробирована методика количественного анализа 14 свободных аминокислот в слюне. Показано, что аминокислотный профиль слюны существенно зависит от пола, а также от метода исследования. Это накладывает определенные ограничения на критерии формирования выборки при проведении исследований, а также на сравнение полученных экспериментальных данных с литературными. Метод капиллярного электрофореза имеет ряд преимуществ, в числе которых низкая себестоимость анализа, простота выполнения и возможность автоматизации, что в сочетании с неинвазивностью получения биоматериала расширяет возможности применения анализа АМК в клинических целях. Для обеспечения корректности результатов анализа АМК необходимы дополнительные исследования аналитических и преаналитических характеристик используемых методов в сравнительном аспекте.



ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-10, 14-28, 30-35 см. REFERENCES)

11. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ». СПб: ООО «Веда»; 2006.
12. М-04-38-2009. Корма, комбикорма и сырье для их производства. Методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель». СПб, 2009.
13. Гармаш А.В., Сорокина Н.М. Метрологические основы аналитической химии. М.: Изд-во Московского университета; 2017.
29. Карцова Л.А., Макеева Д.В., Бессонова Е.А. Современное состояние метода капиллярного электрофореза. *Журнал аналитической химии*. 2020; 75 (12): 1059-1079. DOI: 10.31857/S0044450220120087



REFERENCES

1. Hasan M.M., Razu M.H., Akter S., Mou S.A., Islam M., Khan M. Development and validation of a non-invasive method for quantifying amino acids in human saliva. *RSC Adv.* 2024; 14 (31): 22292-303. DOI: 10.1039/d4ra01130a.
2. Harder U., Koletzko B., Peissner W.J. Quantification of 22 plasma

- amino acids combining derivatization and ion pair LC-MS/MS. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2011; 879 (7–8): 495–504. DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.01.010.
- Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Loginova A.I. Diagnostic Value of Salivary Amino Acid Levels in Cancer. *Metabolites.* 2023; 13 (8): 950. DOI: 10.3390/metabo13080950.
 - Balci N., Kurgan S., Çekici A., Çakır T., Serdar M.A. Free amino acid composition of saliva in patients with healthy periodontium and periodontitis. *Clin. Oral. Investig.* 2021; 25 (6): 4175–83. DOI: 10.1007/s00784-021-03977-7.
 - Rajda C., Taiti J., Komoróczy R., Seres E., Klivényi P., Vécsei L. Amino acids in the saliva of patients with migraine. *Headache* 1999; 39 (9): 644–9. DOI: 10.1046/j.1526-4610.1999.3909644.x.
 - Cheng F., Wang Z., Huang Y., Duan Y., Wang X. Investigation of salivary free amino acid profile for early diagnosis of breast cancer with ultra-performance liquid chromatography-mass specrometry. *Clin. Chim. Acta* 2015; 447: 23–31. DOI: 10.1016/j.cca.2015.05.008.
 - Shi M., Sui Y.T., Peskind E.R., Li G., Hwang H., Devic I., Ginghina C., Edgar J.S., Pan C., Goodlett D.R., Furay A.R., Gonzalez-Cuyar L.F., Zhang J. Salivary tau species are potential biomarkers of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2015; 27 (2): 299–305. DOI: 10.3233/jad-2011-110731.
 - Chen Y., Cheng S., Zhang A., Song J., Chang J., Wang K. et al. Salivary analysis based on surface enhanced Raman scattering sensors distinguishes early and advanced gastric cancer patients from healthy persons. *J. Biomed. Nanotechnol* 2018; 14: 1773–84. DOI: 10.1166/jbn.2018.2621.
 - Reddy I., Sherlin H.J., Ramani P., Premkumar P., Natesan A., Chandrasekar T. Amino acid profile of saliva from patients with oral squamous cell carcinoma using high performance liquid chromatography. *J. Oral Sci.* 2012; 54(3): 279–83. DOI: 10.2334/josnusd.54.279.
 - Liappis N., Pohl B., Weber H.P., el-Karkani H. Free amino acids in the saliva of children with phenylketonuria. *Klin. Padiatr.* 1986; 198 (1): 25–8. DOI: 10.1055/s-2008-1026847.
 - Komarova N.V., Kamentsev Ya.S. Practical guide to the use of capillary electrophoresis systems "KAPEL". St. Petersburg: Veda; 2006. (in Russian)
 - M-04-38-2009. Feed, compound feed and raw materials for their production. Methodology for measuring the mass fraction of amino acids by capillary electrophoresis using the KAPEL capillary electrophoresis system. St. Petersburg; 2009. (in Russian)
 - Garmash A.V., Sorokina N.M. Metrological foundations of analytical chemistry. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta; 2017. (in Russian)
 - Syrjänen S.M., Alakuijala L., Alakuijala P., Markkanen S.O., Markkanen H. Free amino acid levels in oral fluids of normal subjects and patients with periodontal disease. *Arch. Oral. Biol.* 1990; 35(3): 189–93. DOI: 10.1016/0003-9969(90)90054-e.
 - Brand H.S., Jörning G.G., Chamuleau R.A., Abraham-Inpijn L. Effect of a protein-rich meal on urinary and salivary free amino acid concentrations in human subjects. *Clin. Chim. Acta.* 1997; 264(1): 37–47. DOI: 10.1016/s0009-8981(97)00070-3.
 - Ishikawa S., Sugimoto M., Kitabatake K., Tu M., Sugano A., Yamamori I., Iba A., Yusa K., Kaneko M., Ota S., Hiwatari K., Enomoto A., Masaru T., Iino M. Effect of timing of collection of salivary metabolomic biomarkers on oral cancer detection. *Amino Acids.* 2017; 49 (4): 761–70. DOI: 10.1007/s00726-017-2378-5.
 - Kumari S., Goyal V., Kumaran S.S., Dwivedi S.N., Srivastava A., Jagannathan N.R. Quantitative metabolomics of saliva using proton NMR spectroscopy in patients with Parkinson's disease and healthy controls. *Neurol. Sci.* 2020; 41 (5): 1201–10. DOI: 10.1007/s10072-019-04143-4.
 - Martín Santos P., Del Nogal Sánchez M., Pérez Pavón J.L., Moreno Cordero B. Non-separative method based on a single quadrupole mass spectrometer for the semi-quantitative determination of amino acids in saliva samples. A preliminary study. *Talanta.* 2020; 208: 120381. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120381.
 - Alagendran S., Rameshkumar K., Palanivelu K., Puspha N., Ranjani M., Arulmozhi N., Archunan G. Salivary amino acids quantification using RP-HPLC during normal menstrual cycle. *Afr. J. Biochem. Res.* 2009; 3 (5): 185–9.
 - Tang W., Li X., Wu X., Wang Y., Kang X. Salivary amino acids determination and their changes in vision stress experiments. *Open J. Soc. Sci.* 2013; 1 (6): 23–5. DOI: 10.4236/jss.2013.16005.
 - Masoudi Rad H., Rabiei M., Sobhani A., Sadegh Khanjani M., Rahbar Taramsari M., Kazemnezhad Leili E. Free amino acids in stimulated and unstimulated whole saliva: advantages or disadvantages. *J. Oral. Rehabil.* 2014; 41 (10): 759–767. DOI: 10.1111/joor.12197.
 - Nithya V., Alagendran S., Archunan G., Anusha Bhaskar B.X., Miller Samson S., Anusha R. et al. Evaluation of amino acids profiles in human saliva using reverse phase high performance liquid chromatography. *Int. J. Biol. Technol.* 2010; 1 (1): 84–9.
 - Zhao L., Ni Y., Su M., Li H., Dong F., Chen W., Wei R., Zhang L., Guiraud S.P., Martin F.P., Rajani C., Xie G., Jia W. High throughput and quantitative measurement of microbial metabolome by gas chromatography/mass spectrometry using automated alkyl chloroformate derivatization. *Anal. Chem.* 2017; 89 (10): 5565–77. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b00660.
 - González Paredes R.M., García Pinto C., Pérez Pavón J.L., Moreno Cordero B. Derivatization coupled to headspace programmed-temperature vaporizer gas chromatography with mass spectrometry for the determination of amino acids: application to urine samples. *J. Sep. Sci.* 2016; 39 (17): 3375–83. DOI: 10.1002/jssc.201600186.
 - Coufal P., Zuska J., van de Goor T., Smith V., Gaš B. Separation of twenty underivatized essential amino acids by capillary zone electrophoresis with contactless conductivity detection. *Electrophoresis.* 2003; 24 (4): 671–7. DOI: 10.1002/elps.200390079.
 - Deng Y.H., Wang H., Zhang H.S. Determination of amino acid neurotransmitters in human cerebrospinal fluid and saliva by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *J. Sep. Sci.* 2008; 31 (16–17): 3088–97. DOI: 10.1002/jssc.200800339.
 - Pobozny E., Czarkowska W., Trojanowicz M. Determination of amino acids in saliva using capillary electrophoresis with fluorimetric detection. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2007; 69 (3): XIII–XXIII.
 - Tanaka S., Sakagami H., Sugimoto M. Age- and Periodontal Disease Independent Correlation of Salivary Amino Acids. *In Vivo.* 2025; 39 (3): 1237–50. DOI: 10.21873/invivo.13928.
 - Kartsova L.A., Makeyeva D.V., Bessonova Ye.A. Current state of the capillary electrophoresis method. *Journal of Analytical Chemistry.* 2020; 75 (12): 1059–1079. DOI: 10.31857/S0044450220120087. (in Russian)
 - Campanella B., Lomonaco T., Benedetti E., Onor M., Nieri R., Bramanti E. Validation and application of a derivatization-free RP-HPLC-DAD method for the determination of low molecular weight salivary metabolites. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020; 17(17): 6158. DOI: 10.3390/ijerph17176158.
 - Takeda I., Stretch C., Barnaby P., Bhatnager K., Rankin K., Fu H., Weljie A., Jha N., Slupsky C. Understanding the human salivary metabolome. *NMR Biomed.* 2009; 22(6): 577–84. DOI: 10.1002/nbm.1369.
 - Tanaka S., Machino M., Akita S., Yokote Y., Sakagami H. Changes in salivary amino acid composition during aging. *In Vivo.* 2010; 24 (6): 853–6.
 - Inoue H., Ono K., Masuda W., Morimoto Y., Tanaka T., Yokota M., Inenaga K. Gender difference in unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland sizes. *Arch. Oral Biol.* 2006; 51(12): 1055–60. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2006.06.010.
 - Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Loginova A.I. Diagnostic Value of Salivary Amino Acid Levels in Cancer. *Metabolites.* 2023; 13(8):950. DOI: 10.3390/metabo13080950.
 - Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Solomatkin D.V. Free Salivary Amino Acid Profile in Breast Cancer: Clinicopathological and Molecular Biological Features. *Current Issues in Molecular Biology.* 2024; 46 (6): 5614–5631. DOI: 10.3390/cimb46060336

КОЛАБ
красота и здоровье

5НТР + Mg ЭКОлаб



- Снижает тревожность и раздражительность
- Способствует повышению настроения
- Улучшает качество сна

покупайте на маркетплейсах 

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНАЯ ДОБАВКА. НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ