

## Структурно-метаболичні зміни слизової оболонки порожнини рота щурів із порушеною толерантністю до глюкози

Гуранич С.П., Воронич-Семченко Н.М., Гуранич Т.В.\*

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

\*E-mail: guranichtanja@ukr.net

### Ключові слова:

- слизова оболонка
- глюкоза
- ферменти

### Анотація

Метою роботи було вивчення структурно-метаболических змін слизової оболонки порожнини рота (СОПР) у щурів із порушеною толерантністю до глюкози. Дослідження проведене на 60 щурах-самках, які були розділені на дослідну (тварини з інсулінорезистентністю – ІР) та контрольну (інтактні щури) групи. Вуглеводневий обмін оцінювали за рівнем імунореактивного інсуліну у сироватці крові, вмістом глікозильованого гемоглобіну та концентрацією глюкози у крові, індексом НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance) та Caro. Систему енергозабезпечення характеризували за активністю сукцинатдегідрогенази, малатдегідрогенази та лактатдегідрогенази у сироватці крові. Гістологічне дослідження фрагментів СОПР проводили на світлооптичному мікроскопі Leica DME із наступною комп'ютерною морфометрією об'єктів у гістологічних препаратах за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500. У результаті дослідження встановлено, що розвиток ІР призвів до різнонаправлених змін активності ферментів енергосинтезу (зниження активності сукцинат- і лактатдегідрогенази на тлі зростання активності малатдегідрогенази). Метаболическі зміни у досліджуваних тканин щурів супроводжувалися структурною перебудовою СОПР, що підтверджено морфометричними даними. Таким чином, за умов порушеної толерантності до глюкози виникають не лише функціональні зміни ензимів дихального ланцюга, а й структурні зміни СОПР.

## Вступ

Порушення вуглеводневого обміну є вагомим фактором ризику розвитку стоматологічної патології. Характерним є те, що зміни органів ротової порожнини часто бувають першими маркерами метаболических порушень діабету та нерідко передують появі його класичних клінічних симптомів [?]. Оскільки, першою лінією контакту із середовищем порожнини рота є слизова оболонка, зміни її захисних, бар'єрних і сенсорних властивостей негативно впливають на функціональний стан інших тканин пародонту. Вважають, що діабетичні зміни слизової оболонки порожнини рота (СОПР) зумовлені хронічною гіперглікемією. Зокрема, глюкозо-опосередковане ураження ендотеліоцитів капілярів сприяє гіперсекреції прозапальних цитокінів і накопиченню білків екстрацелюлярного матриксу. Дані зміни призводять до гіперфільтрації плазми з судинного русла, крововиливів, гіпоксії та розвитку метаболического ацидозу [?]. У свою чергу, розлади мікроциркуляції поглиблюються виникненням імунозапальної відповіді. Внутрішньоклітинні зміни СОПР безпосередньо пов'язані з функціональними властивостями мітохондрій. Ці органели реагують на негативні впливи зміною активності мембранозв'язаних ферментів, які є

важливими маркерами енергетичного обміну та перебігу гіпоксії [?, 7]. Розвиток інсулінорезистентності (ІР) може порушувати структурно-функціональну організацію ензиматичних комплексів дихального ланцюга мітохондрій, що потенціє ураження органів ротової порожнини.

## Матеріали та методи

Дослідження проведені на 60 щурах-самках масою 150-180 г, які були розділені на дослідну та контрольну групи по 30 тварин у кожній. До дослідної групи ввійшли щури з ІР, яку моделювали додаванням до питної води тварин 10 %-й розчин фруктози впродовж 8 тижнів [?]. Контрольну групи склали інтактні тварини, яких утримували в умовах стандартного харчового раціону, звичайного температурного та світлового режиму віварію. Вуглеводневий обмін оцінювали за рівнем імунореактивного інсуліну (ІРІ) у сироватці крові, вмістом глікозильованого гемоглобіну та концентрацією глюкози у крові. Ступінь ІР встановлювали за індексом НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance) та Саго [?]. Систему енергозабезпечення характеризували за активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ), малатдегідрогенази (МДГ) і лактатдегідрогенази (ЛДГ) у сироватці крові [?].

Для здійснення гістологічних досліджень фрагменти СОПР фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну (рН – 7,0). Гістологічні зрізи СОПР забарвлювали гематоксиліном та еозинном, альціановим синім за Стідменом та проводили PAS-забарвлення. Дослідження проводилися на світлооптичному мікроскопі Leica DME. З метою об'єктивізації кількісних даних проводили комп'ютерну морфометрію об'єктів у гістологічних препаратах за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500. У подальшому цифрові копії зображення аналізували за допомогою комп'ютерної програми Image Tool 3.0 for Windows. Морфометричний аналіз СОПР здійснювали з урахуванням товщини епітелію та його шарів (базального, шипуватого, зернистого, рогового); глибини та ширини акантозу; периметра й площі клітин та ядра клітин усіх шарів епітелію; оптичної щільності основної речовини сполучної тканини [?].

Утримання, вигодовування та евтаназію тварин проводили відповідно до законодавства України (Закон України # 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження 2006), правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Страсбург, 1986). Статистичне опрацювання результатів дослідження проводили з використанням пакета математичних програм StatisticSoft 7.0. Статистично достовірною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

## Результати та обговорення

У щурів, які перебували на фруктозній дієті відмічали порушення вуглеводневого обміну, на що вказувало збільшення в крові вмісту глюкози у 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), глікозильованого гемоглобіну – на 45,7 % ( $p < 0,05$ ) та рівня ІРІ у сироватці крові – на 30,3 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з аналогічними показниками тварин контрольної групи. Порушення толерантності до глюкози у дослідних щурів підтверджувало зростання індексів НОМА-ІР та Саго у 3,2 раза ( $p < 0,001$ ) і на – 87,5 % ( $p < 0,001$ ) відповідно щодо значень у інтактних тварин. На розвиток метаболічних порушень за умов ІР вказували різнонаправлені зміни активності ферментів енергосинтезу. Так, активність СДГ і ЛДГ зменшилася на 66,3 % ( $p < 0,02$ ) і на – 97,6 % ( $p < 0,02$ ) відповідно на тлі збільшення активності МДГ на 62,8 % ( $p < 0,02$ ) щодо відповідних показників у щурів контрольної групи. Зниження активності даних ферментів може вказувати на порушення обміну біосубстратів на клітинному рівні та збільшення ризику розвитку гіпоксичних змін тканин організму, у тому числі, СОПР.

Метаболічні зміни у щурів із порушеною толерантністю до глюкози супроводжувалися структурною перебудовою СОПР. Так, епітелій нерівномірної товщини за рахунок гіперпластичних змін із формуванням невиражених акантотичних тяжів, зумовлених епітеліальною базальною гіперклітинністю, що підтверджувалося морфометричними даними. Зокрема, товщина базального шару епітелію дослідних тварин зросла на 53,4 % ( $p < 0,05$ ) щодо відповідних показників у інтактних щурів. Варто зазначити, що відповідно до морфометричного дослідження параметри епітеліоцитів більшості шарів СОПР зменшилися. Зокрема, площа клітин шипуватого та зернистого шарів стала меншою на 11,3 % ( $p < 0,05$ ) і на 20,5 % ( $p < 0,05$ ) відповідно до контрольних значень. Аналогічні зміни спостерігалися в ядрах клітин. Так, периметр і площа ядер клітин шипуватого та зернистого шарів зменшилася

на 11,0-37,0 % ( $p < 0,05$ ) щодо аналогічних показників у інтактних тварин. Разом із цим, у капілярах і артеріолах відзначалося звуження просвіту. Причиною даних змін можна вважати плазматичне просякання з розпушенням стінки судин із одночасною гіперплазією ендотеліоцитів.

## Висновки

Розвиток ІР призвів до дисбалансу компенсаторно-приспосувальних механізмів енергетичного гомеостазу клітин і тканин організму, зокрема, органів порожнини рота. Метаболічні порушення синтезу макроергів супроводжувалися структурною перебудовою СОПР. Визначення активності ферментів енергосинтезу та змін органів ротової порожнини може покращити своєчасну діагностику ІР і цукрового діабету на ранніх стадіях порушень вуглеводного обміну.

## Література

- [1] Антонишин ІВ, Марущак МІ, Бржиський АВ. Гістологічні зміни твердих тканин зубів білих щурів за умов аліментарного ожиріння. Світ медицини та біології. 2015; 2 (49): 70-3.
- [2] Багрій ММ, Діброва ВА. Методики морфологічних досліджень. Вінниця: Нова книга. 2016: 328.
- [3] Беловол АН, Бобронникова ЛР, Аль-Травнех ЕВ. Биомаркер инсулинорезистентности у пациентов с предиабетом, сахарным диабетом 2 типа в сочетании с артериальной гипертензией и повышенной массой тела. Український терапевтичний журнал. 2017; 1: 15-20.
- [4] Біла АЮ, Красносельський МВ, Граматюк СМ. Стан біоенергетичного обміну та ферментів антиоксидантного захисту у хворих на рак молочної залози. Вісник проблем біології і медицини. 2015; 2 (4): 77-80.
- [5] Кімак ГБ, Мельничук ГМ. Вплив комплексного лікування на показники вуглеводного обміну у хворих на генералізований пародонтит осіб молодого віку. Клінічна та експериментальна патологія. 2018; 17 (1: 63): 56-60.
- [6] Шупрович АА, Гуріна НМ, Корпачева-Зінич ОВ. Порушення обміну сечової кислоти у щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою. Фізіологічний журнал. 2011: 57 (1): 72-81.
- [7] Onopchenko OV, Kosiakova GV, Goridko TM, Klimashevsky VM, Hula NM. The effect of N-stearoylethanolamine on liver phospholipid composition of rats with insulin resistance caused by alimentary obesity. Ukr Biochem J. 2014; 86 (1): 101-10. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj86.01.101> [PMid:24834723]