

ПОРУШЕННЯ У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ ПІСЛЯ СПОЖИВАННЯ НАДЛИШКУ ЦУКРУ І ХЛОРИДУ АЛЮМІНІЮ

Сергій СТРИЖАК¹, Наталя КИРИЛЕНКО¹, Ольга МАКАРЕНКО¹, Людмила ЦЕВУХ²

У роботі вивчали маркери запалення (активність еластази і кислій фосфатази), а також показник мікробної контамінації (активність уреаз) у слизовій оболонці порожнини рота щурів після споживання надлишку цукру і хлориду алюмінію. Досліджували вплив патогенних чинників на активність антиоксидантного захисту та ступінь пероксидації ліпідів у слизовій оболонці порожнини рота щурів. Результати дослідження свідчать про розвиток запальних процесів та розмноження умовно-патогенної мікробіоти у порожнині рота дослідних груп тварин, які у більшій мірі проявились при сукупному споживанні великої кількості цукру з надлишком алюмінію. Спостерігали пригнічення антиоксидантного захисту і, як наслідок – спалах перекисного окиснення ліпідів.

Ключові слова: патогенні чинники, маркери запалення, мікробне обсіменіння, антиоксидантний захист.

¹ Кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна; e-mail: kiril-ko@ukr.net

² Кафедра терапевтичної та дитячої стоматології, Одеський національний медичний університет, вул. Рішельєвська, 11, Одеса, 65026, Україна; e-mail: tsevh1960@gmail.com

Disturbances in the mucous membrane of the oral cavity of rats after consumption of excess sugar and aluminum chloride

Stryzhak S.¹, Kyrylenko N.¹, Makarenko O.¹, Tsevh L.²

The work studied inflammation markers (elastase and acid phosphatase activity), as well as an indicator of microbial contamination (urease activity) in the mucous membrane of the oral cavity of rats after consuming excess sugar and aluminum chloride. The influence of pathogenic factors on the activity of antioxidant protection and the degree of lipid peroxidation in the mucous membrane of the oral cavity of rats was studied. The results of the study indicate the development of inflammatory processes and the reproduction of opportunistic microbiota in the oral cavity of experimental groups of animals, which were more pronounced with the combined consumption of a large amount of sugar with an excess of aluminum. Suppression of antioxidant protection and, as a result, an outbreak of lipid peroxidation were observed.

Key words: pathogenic factors, markers of inflammation, microbial insemination, antioxidant protection.

¹ Odesa National University named after I. AND. Mechnikova; Department of Physiology, Human Health and Safety and Science Education, st. Dvoryanska, 2, 65082, Ukraine, e-mail: kiril-ko@ukr.net

² Odesa National Medical University, Department of Therapeutic and Pediatric Dentistry, str. Ryshelievskaya, 11, Odesa, 65026, Ukraine, e-mail: tsevh1960@gmail.com

Вступ

Дослідження впливу на організм людини чинників навколишнього середовища, серед яких важливе місце займає їжа та хімічні сполуки антропогенного і природного походження, на сьогодні вимагає особливої уваги. За сучасних умов існування все більшої актуальності набуває проблема, пов'язана з стрімким забрудненням довкілля різними екзогенними агентами, основними серед яких є важкі метали (Rahimzadeh et al. 2022). Рівень останніх у зв'язку з війною в Україні перевищує допустимі норми в багатьох регіонах.

Одним з таких токсичних елементів є алюміній. Даний мікроелемент виконує важливі функ-

ції в нашому організмі, але при надмірному накопиченні має токсичний вплив на такі органи і системи, як опорно-м'язова, шлунково-кишковий тракт, легені, печінка, нирки та головний мозок. Він має вплив на роботу ендокринної системи, зокрема на рівень гормонів, внаслідок чого спостерігаються порушення репродуктивної функції (Lukiw et al. 2019).

Багато нинішніх продуктів харчування можна розцінювати як джерело можливих захворювань, що виникають у разі їх надмірного споживання. Це зокрема, надлишок цукрів, які надходять в організм людини (Hlukh et al. 2016). Цукор не тільки не несе в собі ніяких поживних речовин, але й збільшує

ризик розвитку серцево-судинних захворювань, викликає порушення роботи імунної системи, процес ожиріння, діабет. Так, основними проявами цукрового діабету у порожнині рота є множинний карієс зубів, пародонтит, стоматит, кандидоз, трофічні розлади слизової оболонки порожнини рота (Son et al. 2021; Haghdooost et al. 2023).

Метою нашої роботи було оцінити порушення у слизовій оболонці порожнини рота щурів після споживання надлишку цукру і хлориду алюмінію.

Матеріали і методики

Експеримент був проведений на 40 одномісячних самцях лабораторних щурів масою від 50 до 60 г. Щури знаходилися в стандартних умовах віварію, мали вільний доступ до корму та питної води. Тварини були розділені на чотири групи, по 10 щурів у кожній: 1 – інтактна на стандартному раціоні віварію; 2 – високосахарозна дієта; 3 – пероральне введення розчину хлориду алюмінію у дозі 26,7 мг Al/кг; 4 – поєднаний вплив високосахарозної дієти та хлориду алюмінію. Склад високосахарозної дієти наступний: 57 % цукру, 18,5 % сиру, 18,5 % сухарів із пшеничного хліба, 5 % соняшникової олії, 1 % солі, 5 драже «Ундевіта»/кг корма (Khodakov et al. 2023).

Інтоксикацію алюмінієм створювали тваринам 2-ї та 4-ї груп шляхом щоденного перорального введення 12%-го розчину хлориду алюмінію $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ об'ємом 0,2 мл на 100 г маси тіла щурів, що забезпечило надходження цієї форми хлориду алюмінію в організм щурів у дозі 240 мг/кг маси тіла щурів, або чистого алюмінію 26,7 мг/кг на добу. У виборі дози базувалися на інформації про токсичний вплив хлориду алюмінію на формування скелету зародків щурів (Hussein, Mahmoud 2013). У нашій роботі дозу хлориду алюмінію для посилення впливу на тварин збільшили до 240 мг/кг, таку ж дозу алюмінію використовували у попередніх наших дослідженнях (Khodakov et al. 2022).

Тварин виводили з експерименту шляхом тотального кровопускання з серця під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг). Виділяли слизову оболонку порожнини рота для приготування гомогенатів в 0,05 М трис-HCl буфері pH 7,6 з розрахунку 20 мг тканини на 1 мл буфера. В гомогенатах визначали вміст малонового діальдегіду, активність еластази, кислої фосфатази, уреазы та каталази. Активність кислої та лужної фосфатаз аналізували за гідролізом паранітрофенілфосфату, еластази – за гідролізом N-t-BOC-L-alanine-p-nitrophenyl ester, каталази – за реакцією перекису водню з молібдатом амонію, вміст малонового діальдегіду – за тіобарбітуровою кислотою (Makarenko et al. 2022).

Результати та обговорення

В таблиці 1 представлені результати дослідження маркерів запалення у слизовій оболонці порожнини рота експериментальних тварин всіх дослідних груп: активності еластази і кислої фосфатази (КФ), а також показника мікробної контамінації.

Проведений аналіз показав, що у групі щурів, які споживали високосахарозну дієту або отримували розчин хлориду алюмінію, показники досліджуваних маркерів запалення у ротовій порожнині достовірно збільшились. Так, активність еластази підвищилась у 2-ій групі на 65,1 % ($p < 0,001$), у 3-ій – на 61,3 % ($p < 0,001$) та у 4-ій – на 112,3 % ($p < 0,001$, $p_1 < 0,002$, $p_2 < 0,001$). Тканинна еластаза – фермент нейтрофільного походження, відноситься до групи серинових протеїназ. Вважається, що рівень її активності відображає ступінь розвитку запального процесу внаслідок скупченості лейкоцитів у тканинах.

Активність кислої фосфатази (КФ) не змінилася у слизовій оболонці порожнини рота тварин, що отримували високосахарозну дієту ($p > 0,8$), але підвищилась після інтоксикації хлоридом алюмінію на 27,8 % ($p < 0,01$) та після впливу обох патогенних факторів – на 35,4 % ($p < 0,02$ і $p_1 < 0,002$, $p_2 > 0,5$). Фермент кисла фосфатаза, міститься у лізосомах і активується при порушенні цілісності мембран, що є ознакою запалення. Першим етапом запалення є альтерація – пошкодження тканини, а значить і мембран, і, як наслідок, вихід лізосомальних ферментів, зокрема кислої фосфатази, у вогнище запалення.

Таким чином, активація еластази і КФ у порожнині рота дослідних груп тварин під впливом шкідливих факторів свідчить про розвиток запальних процесів, які у більшій мірі проявились за сукупного споживання великої кількості цукру з надлишком алюмінію (Табл. 1).

Активність уреазы, яку вважають маркером мікробного обсіменіння, також зросла у слизовій оболонці порожнини рота щурів внаслідок моделювання патологічних умов. Так у 2-ій групі (високосахарозна дієта) активність уреазы збільшилась на 75,6 %, у 3-ій (розчин AlCl_3) – на 52,3 % і максимально у 4-ій групі (поєднання шкідливих факторів) – на 109,3 % ($p < 0,001$, $p_1 < 0,02$, $p_2 < 0,001$; таблиця 1).

Отримані результати говорять про розмноження умовно-патогенної мікробіоти у порожнині рота щурів після утриманні їх на високосахарозній дієті або після інтоксикації хлоридом алюмінію, а найбільший рівень мікробної контамінації зареєстровано у слизовій оболонці

Таблиця 1. Показники запалення та мікробної контамінації у слизовій оболонці порожнини рота щурів, які отримували дієту з високим вмістом цукру та хлорид алюмінію

Table 1. Indicators of inflammation and microbial contamination in the oral mucosa of rats fed a high-sugar diet and aluminum chloride

Групи щурів	Активність КФ, мккат/кг	Активність еластази, мккат/кг	Активність уреаз, мккат/кг
Дієта віварію	22,46 ± 1,43	72,93 ± 4,32	0,86 ± 0,06
Високосахарозна дієта (ВД)	22,48 ± 1,35 $p > 0,8$	120,4 ± 7,15 $p < 0,001$	1,51 ± 0,09 $p < 0,001$
Розчин AlCl ₃	28,70 ± 1,70 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	117,6 ± 8,24 $p < 0,001$ $p_1 > 0,8$	1,31 ± 0,07 $p < 0,001$ $p_1 > 0,1$
ВД + розчин AlCl ₃	30,42 ± 2,15 $p < 0,002$ $p_1 < 0,002$ $p_2 > 0,5$	154,8 ± 6,32 $p < 0,001$ $p_1 < 0,002$ $p_2 < 0,001$	1,80 ± 0,08 $p < 0,001$ $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$

Примітка: p – вірогідність відмінностей до показника у групі «Дієта віварію»; p_1 – вірогідність відмінностей до показника у групі «Високосахарозна дієта»; p_2 – вірогідність відмінностей до показника у групі «Розчин AlCl₃»

порожнини рота тварин з поєднанням шкідливих факторів.

На наступному етапі досліджували вплив патогенних чинників на активність антиоксидантного захисту та ступінь пероксидації ліпідів у слизовій оболонці порожнини рота щурів. Результати цього аналізу наведені у таблиці 2.

Активність каталази в слизовій оболонці порожнини рота тварин 2-ої групи, яких утримували на високосахарозному раціоні і у щурів 3-ої групи, яким вводили розчин хлориду алюмінію, знизилася приблизно однаково – на 24,2 % і 26,6 %, відповідно. А поєднання шкідливих чинників призвело до більш суттєвого зменшення активності каталази у слизовій оболонці щурів, а саме – на 33,9 % ($p < 0,001$, $p_1 < 0,002$, $p_2 < 0,05$, таблиця 2). Каталаза є представником антиокси-

дантної системи і приймає участь у нейтралізації перекису водню до кисню і води. Тому зниження активності цього ферменту може говорити про виснаження антиоксидантного захисту слизової оболонки.

Ослаблення антиоксидантної системи у слизовій оболонці порожнини рота щурів під впливом високого вмісту цукру у дієті, надходження надлишку хлориду алюмінію або сукупність цих факторів викликало інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів, про що свідчило збільшення вмісту кінцевого продукту цього процесу – малонового діальдегіду (МДА). Так, у слизовій оболонці щурів 2-ої групи цей показник зріс на 35,9 % ($p < 0,002$), у 3-ій групі – на 46,6 % ($p < 0,002$) і у 4-ій – на 73,9 % ($p < 0,001$; таблиця 2).

Таблиця 2. Стан антиоксидантно-прооксидантної системи у слизовій оболонці порожнини рота щурів, які отримували дієту з високим вмістом цукру та хлорид алюмінію

Table 2. The state of the antioxidant-prooxidant system in the mucous membrane of the oral cavity of rats that received a diet with a high content of sugar and aluminum chloride

Групи щурів	Активність каталази, мкат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг	Індекс АПІ
Дієта віварію	9,20 ± 0,34	14,39 ± 1,0	6,39
Високосахарозна дієта (ВД)	6,97 ± 0,18 $p < 0,001$	19,55 ± 1,1 $p < 0,002$	3,56
Розчин AlCl ₃	6,75 ± 0,21 $p < 0,001$ $p_1 > 0,4$	21,09 ± 1,5 $p < 0,002$ $p_1 > 0,4$	3,20
ВД + розчин AlCl ₃	6,08 ± 0,22 $p < 0,001$ $p_1 < 0,002$ $p_2 < 0,05$	25,03 ± 1,4 $p < 0,001$ $p_1 < 0,002$ $0,05 < p_2 < 0,1$	2,42

Примітки: p – вірогідність відмінностей до показника у групі «Дієта віварію»; p_1 – вірогідність відмінностей до показника у групі «Високосахарозна дієта»; p_2 – вірогідність відмінностей до показника у групі «Розчин AlCl₃»

Розрахунок антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) більш наочно демонструє встановлені порушення. Якщо у слизовій оболонці щурів 2-ої і 3-ої груп показник АПІ зменшився у 1,8–2,0 рази, то у тварин 4-ої групи під впливом двох шкідливих факторів АПІ знизився у 2,6 рази. Отримані результати свідчать про зрушення балансу у антиоксидантно-прооксидантній системі у бік активації процесів пероксидації.

Таким чином, можна констатувати про негативний вплив як надлишку цукру у дієті, так і алюмінію, а у більшій мірі, сукупності цих чинників, на антиоксидантно-прооксидантну систему слизової оболонці ротової порожнини тварин, а саме – пригнічення антиоксидантного захисту і, як наслідок, спалах перекисного окиснення ліпідів. Останній процес є дуже небезпечним, оскільки є лавиноподібним та руйнує усі структурні компоненти клітин та тканини, що може бути підставою для розвитку запальних і деструктивних явищ у слизовій оболонці ротової порожнини.

Висновки

У слизовій оболонці порожнини рота щурів, які вживали високосахарозну дієту або отримували розчин хлориду алюмінію, достовірно збільшилися маркери запалення: активність еластази – на 61,3–112,3 %, а кислій фосфатази – на 27,8–35,4 %. Також під впливом патологічних умов зріс і маркер мікробного обсіменіння (активність уреаз) у порожнині рота щурів на 52,3–109,3 %. Максимальне збільшення показників запалення і мікробної контамінації зареєстровано після сукупного впливу шкідливих факторів на тварин.

Встановлено пригнічення антиоксидантного захисту (активності каталази), і як наслідок – спалах перекисного окиснення ліпідів (вміст малнового діальдегіду) у слизовій оболонці ротової порожнини тварин під впливом дієти, також при введенні надлишку алюмінію, а у більшій мірі – сукупності цих чинників. Активність каталази була зниженою на 24,2–33,9 %, а вміст малнового діальдегіду зріс на 35,9–73,9 %.

- HAGHDOOST, A., BAKHSHANDEH, S., TOHIDI, S., GHORBANI, Z., NAMDARI, M. (2023) Improvement of oral health knowledge and behavior of diabetic patients: an interventional study using the social media. *BMC Oral Health*, 23(1), 359–362.
- HLUKH, O. S., SYMKANYCH, O. I., BESKID, A. M., MOLNAR, D. I. (2016) Bezpeka vykorystannya alyuminiyevoho posudu pid chas pryhotuvannya kharchovykh produktiv [Safety of using aluminum utensils during food preparation]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seriya: Khimiia*, 35(1), 84–86. (in Ukrainian).
- HUSSEINH, H., MAHMOUD, M. (2013) Effects of maternal administration of aluminum chloride on the development of the skeletal system of albino rat fetuses-protective role of saffron. *European Journal of Anatomy*, 17(2), 63–71.
- KHODAKOV, I. V., KHROMAGINA, L. M., MAKARENKO, O. A., MUDRYK, L. M. (2023) Modyfikatsiya kazeyino-sakharoznoyi diyety M. S. Buhayovoyi ta S. A. Nikitina (1954) dlya modelyuvannya kariyesu zubiv u shchuriv [Modification of casein-sucrose diet M. S. Bugaiova and S. A. Nikitin (1954) for modeling dental caries in rats]. *Visnyk stomatolohii*, 1 (122), 47, 71–76. (in Ukrainian).
- KHODAKOV, I. V., MAKARENKO, O. A., KOLOMIYCHUK, T. V., SOKOLOV, D. V., BATURIN, D. S. (2022) Doslidzhennya mozhlyvosti profilaktyky Minerolom toksychnoho efektu yoniv alyuminiyu na kistkovu tkanynu shchuriv [Research on the possibility of prevention of the toxic effect of aluminum ions on the bone tissue of rats by Mineralom]. *Visnyk ONU, Biolohiya*, 2(51), 88–101. (in Ukrainian).
- LUKIW, W. J., KRUCK, T. R., PERCY, M. E., POGUE, A. I., ALEXANDROV, P. N., WALSH, W. J., SHARFMAN, N. M., JABER, V. R., ZHAO, Y., LI, W., BERGERON, C., CULICCHIA, F., FANG, Z., MCLACHLAN, D. R. C. (2019) Aluminum in neurological disease – a 36 year multicenter study. *Journal Alzheimer's Disease. Parkinsonism*, 8(6), 457–459.
- MAKARENKO, O. A., KHROMAGINA, L. M., KHO-DAKOV, I. V., MAIKOVA, H. V., MUDRYK, L. M., KIKI, V. V., MOHILEVSKA, T. V. (2022) *Metody doslidzhennia stanu kyshechnyku ta kistok u laboratornykh shchuriv. Dovidnyk* [Methods of researching the state of intestines and bones in laboratory rats. Handbook]. Publisher S. L. Nazarchuk, Odesa. (in Ukrainian).
- RAHIMZADEH, M. R., RAHIMZADEH, M. R., KAZEMI, S., AMIRI, R. J., PIRZADEH, M., MOGHADAMNIA, A. A. (2022) Aluminum Poisoning with Emphasis on Its Mechanism and Treatment of Intoxication. *Emergency Medicine International*, 11, 480–553.
- SON, Y. B., KANG, Y. H., LEE, H. J., JANG, S. J., BHARTI, D., LEE, S. L., JEON, B. G., PARK, B. W., RHO, G. J. (2021) Evaluation of odonto/osteogenic differentiation potential from different regions derived dental tissue stem cells and effect of 17 β -estradiol on efficiency. *BMC Oral Health*, 21(1), 15–18.