

УДК 616.31-092.9:612.396.2:613.24:57.088.6

*О.Т. Письменна*

*Харківський національний медичний університет*

## **АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ ГЛІКОЛІЗУ В М'ЯКИХ ТКАНИНАХ ПОРОЖНИНИ РОТА В ПОТОМСТВА ЩУРІВ, ЩО ОТРИМУВАЛИ НЕЗБАЛАНСОВАНУ ДІЄТУ ПРОТЯГОМ ВАГІТНОСТІ**

Досліджено активність гексокінази й фосфофруктокінази в м'яких тканинах порожнини рота в потомства щурів-матерів, котрі знаходились на гіперкалорійній чи гіпокалорійній дієті протягом вагітності. Виявлено, що незбалансоване харчування щурів під час вагітності негативно впливає на активність ферментів гліколізу їхнього потомства. Зниження активності таких ферментів може призвести до розвитку гіпоергії тканин порожнини рота у тварини та викликати порушення розвитку й формування зубощелепного апарату і його патологію в майбутньому.

**Ключові слова:** гексокіназа, фосфофруктокіназа, м'які тканини порожнини рота, щури-матері, щурята, незбалансована дієта.

### **Актуальність**

Результати досліджень останніх років свідчать про підвищення рівня захворюваності дітей на ранній карієс [1, 2]. Незважаючи на те що основна робота стоматологів спрямована на профілактику раннього дитячого карієсу, поширеність цієї стоматологічної хвороби продовжує зростати. Багато уваги приділяється питанням харчування дитини в перші роки життя, проте доведено наявність впливу раціонального харчування вагітної на показники захворюваності твердих тканин зубів плода [3, 4], а дослідження впливу на розвиток м'яких тканин зубів плода досі залишається актуальним.

Загальновідомо, що гексокіназа й фосфофруктокіназа (ФФК) – це два ферменти, завдяки яким у клітинах проходить процес гліколізу, продуктом якого є утворення двох молекул пірувату й аденозинтрифосфату (АТФ). Біологічним значенням гліколізу є утворення макроергічних сполук і субстратів для подальшого окиснення в мітохондріях, де за наявності кисню запасується значна кількість енергії у вигляді АТФ. А за умов гіпоксії гліколіз дає можливість одержати енергію у вигляді двох молекул АТФ. Цей процес відбувається дуже швидко і забезпечує синтез АТФ у 10,5 разу

швидше, ніж аеробне окиснення органічних речовин [5].

Перша реакція гліколізу – фосфорилування глюкози з утворенням глюкозо-6-фосфату, що каталізується ферментом гексокіназою (глюкокіназою). Донором фосфатної групи є молекула АТФ. Реакція проходить тільки за наявності іонів  $Mg^{2+}$ . Унаслідок фосфорилування відбувається не лише активація молекули глюкози, а і її «ув'язнення» всередині клітини: плазматична мембрана має білки-переносники для глюкози, але не для її фосфорильованої форми. Як результат, велика заряджена молекула глюкозо-6-фосфату не може пройти крізь мембрану, хоча її концентрація в цитоплазмі більша, аніж у позаклітинній рідині.

Фруктозо-6-фосфат приєднує ще один фосфатний залишок від АТФ з утворенням фруктозо-1,6-дифосфату в незворотній реакції, яку каталізує ФФК – найбільш важливий регуляторний фермент гліколізу. Ця реакція першою, вірогідно, визначає розщеплення речовин за гліколітичним шляхом, оскільки глюкозо-6-фосфат і фруктозо-6-фосфат можуть вступати в інші метаболічні перетворення, а фруктозо-1,6-бісфосфат використовується лише для гліколізу. Саме утворення

© О.Т. Письменна, 2018

фруктозо-1,6-бісфосфату є визначальною стадією гліколізу.

Втім значення впливу характеру харчування матері на функціональну активність ключових ферментів гліколізу, таких як гексокіназа і ФФК, у м'яких тканинах порожнини рота плода залишається не до кінця вивченим та вимагає подальшого поглиблення знань.

**Метою** нашої роботи було дослідження активності деяких ферментів гліколізу, зокрема гексокінази і ФФК, у м'яких тканинах порожнини рота в потомства шурів-матерів, котрі знаходились на гіпер- і гіпокалорійній дієті протягом вагітності.

#### **Матеріал і методи**

Робота є фрагментом НДР «Патогенез ушкоджуючої дії на організм екзогенних факторів у сучасних умовах» кафедри патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету (№ 0115U000991 державної реєстрації). Експериментальне дослідження проведено на 127 рандомбредних щурах популяції WAG/G Sto із суворим дотриманням вимог Європейської конвенції (Страсбург, 1986) до утримання, годування та догляду за піддослідними тваринами, а також виведення їх з експерименту й подальшої утилізації. Вивчали активність ферментів гліколізу: гексокінази і ФФК – у м'яких тканинах порожнини рота в матерів-шурів ( $n=19$ ), їхнього новонародженого ( $n=41$ ), одномісячного ( $n=35$ ) та двомісячного ( $n=32$ ) потомства. Щури-матері, які знаходились на стандартному раціоні віварію, становили 1-шу групу (контрольну,  $n=7$ ), мали середню масу ( $180,9 \pm 4,7$ ) г, отримували на добу 4,13 г білків, 2,4 г жирів, 17,6 г вуглеводів, загальна калорійність раціону дорівнювала 104,5 ккал. Другу групу становили тварини ( $n=6$ ), які отримували харчування з надлишком поживних речовин, середня маса шурів – ( $191,4 \pm 5,6$ ) г, загальна калорійність їхнього добового раціону дорівнювала 300,4 ккал, із вмістом 9,11 г білків, 8,57 г жирів та 50,6 г вуглеводів. До 3-ї групи ввійшли щури ( $n=6$ ), які знаходились на дієті з нестачею поживних речовин, які мали середню масу ( $186,6 \pm 6,8$ ) г та отримували 1,38 г білків, 2,11 г жирів, 7,37 г вуглеводів, загальна добова калорійність – 57,4 ккал. Потомство матерів контрольної групи було розподілено на підгрупи 1-0, 1-1 та 1-2 (відповідно новонароджені, одномі-

сячні та двомісячні шурята); потомство матерів, які отримували протягом вагітності харчування з надлишком поживних речовин, – на підгрупи 2-0, 2-1 та 2-2 (відповідно новонароджені, одномісячні та двомісячні шурята); потомство матерів, які отримували гіпокалорійну дієту, – на підгрупи 3-0, 3-1 та 3-2 (відповідно новонароджені, одномісячні та двомісячні шурята).

Активність гексокінази і ФФК у гомогенаті м'яких тканин порожнини рота визначали з використанням спектрофотометричного методу, що заснований на зміні ультрафіолетового спектра хімічних речовин, які беруть участь у реакції. Ці зміни реєструвалися на спектрофотометрі типу СФ-46 [8]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми STATISTICA-10. Для оцінювання достовірності відмінностей використовували U-критерій Манна-Уїтні. Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

#### **Результати та їх обговорення**

У дослідженні активності ключових ферментів гліколізу у 2-й групі шурів-матерів, які протягом вагітності отримували незбалансоване харчування у вигляді гіперкалорійної дієти, встановлено тенденцію до підвищення активності гексокінази і ФФК (на 25,06 і 33,11 % відповідно,  $p > 0,05$ ). У групі 3 шурів-матерів, які протягом вагітності отримували незбалансоване харчування у вигляді гіпокалорійної дієти, було виявлено тенденцію до підвищення активності гексокінази на 22,03 % ( $p > 0,05$ ) та достовірне підвищення активності ферменту ФФК на 31,5 % відносно показника групи 1 (табл. 1).

Незбалансоване, як гіперкалорійне, так і гіпокалорійне, харчування шурів-матерів достовірно не впливало на активність гексокінази. При гіпокалорійній дієті в групі 3 спостерігалось підвищення активності ФФК відносно такої при збалансованому харчуванні групи 1.

У новонароджених шурят підгрупи 2-0 від шурів-матерів, котрі протягом вагітності отримували харчування з надлишком поживних речовин, спостерігається достовірне підвищення активності обох показників: гексокінази на 1,78 % ( $p < 0,05$ ) і ФФК на 8,92 % ( $p < 0,01$ ) – відносно таких у шурят контрольної групи. У новонароджених шурят, матері котрих отримували гіпокалорійну дієту протя-

Таблиця 1. Активність гексокінази і фосфофруктокінази в м'яких тканинах порожнини рота щурів-матерів, які протягом вагітності отримували незбалансоване харчування, мМ/с·г білка ( $M \pm m$ )

Показник	Групи тварин		
	1, контрольна (n=7)	2 (n=6)	3 (n=6)
Гексокіназа	34,33±3,2	42,93±4,37 $p > 0,05$	41,90±3,06 $p_2 > 0,05$
ФФК	2,27±0,15	3,02±0,49 $p > 0,05$	5,30±0,82* $p_3 < 0,05$

Примітка.  $p$  – порівняння показників 2-ї і 1-ї груп;  $p_2$  – активності гексокінази 3-ї і 1-ї груп;  $p_3$  – активності ФФК 3-ї і 1-ї груп.

гом вагітності, спостерігається достовірне зниження активності гексокінази і ФФК (на 8,38 %;  $p < 0,01$  та 23,88 %;  $p < 0,05$  відповідно) відносно показників у новонароджених щурят контрольної групи (табл. 2). Можливо, зни-

У одномісячного потомства щурів-матерів, які протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту (підгрупа 2-1), були достовірно знижені показники активності ферментів гліколізу: гексокінази на 10,3 % ( $p < 0,01$ ) і

Таблиця 2. Активність гексокінази і фосфофруктокінази в м'яких тканинах порожнини рота новонародженого потомства від щурів-матерів, які протягом вагітності отримували незбалансоване харчування, мМ/с·г білка ( $M \pm m$ )

Показник	Підгрупи тварин		
	1-0 (n=16)	2-0 (n=9)	3-0 (n=16)
Гексокіназа	37,84±0,22	38,51±0,19 $p < 0,05$	34,67±0,51 $p_2 < 0,01$
ФФК	4,87±0,13	5,3±0,1 $p < 0,05$	3,71±0,11 $p_3 < 0,05$

Примітка.  $p$  – порівняння показників 2-0 і 1-0 підгруп;  $p_2$  – активності гексокінази 3-ї і 1-ї груп;  $p_3$  – активності ФФК 3-ї і 1-ї груп.

ження цих показників може призвести до розвитку гіпоергії тканин порожнини рота й інших тканин у тварини та викликати порушення розвитку і формування зубощелепного апарату і його патологію в майбутньому.

Отже, харчування щурів-матерів достовірно впливає на активність ключових ферментів гліколізу їхнього новонародженого потомства, причому гіперкалорійна дієта підвищує активність гексокінази і ФФК, а гіпокалорійна – знижує.

ФФК на 34,63 % ( $p < 0,05$ ) – відносно показників контрольної групи одномісячного потомства щурів. У підгрупі 3-1 спостерігається значне ( $p < 0,01$ ) зниження показників активності ферментів гліколізу: гексокінази – на 27,19 % і ФФК – на 61,15 % (табл. 3).

Таким чином, незбалансоване, як гіперкалорійне, так і гіпокалорійне, харчування щурів-матерів достовірно знижує активність ключових ферментів гліколізу їхнього одномісячного потомства, причому гіпокалорійна ді-

Таблиця 3. Активність гексокінази і фосфофруктокінази в м'яких тканинах порожнини рота одномісячного потомства щурів-матерів, які протягом вагітності отримували незбалансоване харчування, мМ/с·г білка ( $M \pm m$ )

Показник	Підгрупи тварин		
	1-1 (n=11)	2-1 (n=14)	3-1 (n=10)
Гексокіназа	31,72±1,63	28,45±0,26 $p < 0,05$	23,10±0,09 $p_2 < 0,05$ $p_{2-1} < 0,05$
ФФК	3,56±0,36	2,33±0,06 $p < 0,05$	1,38±0,03 $p_2 < 0,05$ $p_{2-1} < 0,05$

Примітка.  $p$  – порівняння показників підгруп 2-1 і 1-1;  $p_2$  – підгруп 3-1 і 1-1;  $p_{2-1}$  – підгруп 3-1 і 2-1.

ета більшою мірою знижує активність цих ферментів.

При дослідженні активності ферментів гліколізу у двомісячного потомства щурів встановлено зміни, подібні до таких в одномісячного потомства. У підгрупі 2-2, де щур-матері протягом вагітності отримували гіперкалорійну дієту, спостерігається зниження показників активності гексокінази на 3,38 % ( $p < 0,05$ ) і ФФК на 11,71 % ( $p < 0,05$ ). У підгрупі 3-2, де щур-матері протягом вагітності отримували гіпокалорійну дієту, спостерігається значне ( $p < 0,05$ ) зниження активності обох показників: гексокінази на 25,44 % і ФФК на 28,17 % – відносно таких у двомісячного потомства контрольної групи (табл. 4).

впливає на активність гексокінази; тільки гіпокалорійна дієта підвищує активність фосфофруктокінази.

2. Незбалансоване харчування щурів під час вагітності негативно впливає на активність ферментів гліколізу їхнього потомства.

3. Харчування щурів-матерів достовірно впливає на активність ключових ферментів гліколізу їхнього новонародженого потомства, причому гіперкалорійна дієта підвищує активність гексокінази і фосфофруктокінази, а гіпокалорійна – знижує.

4. При використанні незбалансованого (гіпер- і гіпокалорійного) харчування у щурів-матерів їхнє двомісячне потомство, як і одномісячне, має достовірно знижену актив-

Таблиця 4. Активність гексокінази і фосфофруктокінази в м'яких тканинах порожнини рота двомісячного потомства щурів-матерів, які протягом вагітності отримували незбалансоване харчування, мМ/с·г білка ( $M \pm m$ )

Показник	Підгрупи тварин		
	1-2 (n=9)	2-2 (n=15)	3-2 (n=8)
Гексокіназа	27,25±0,25	26,33±0,16 $p < 0,05$	20,69±0,33 $p_2 < 0,05$ $p_{2-2} < 0,05$
ФФК	1,42±0,07	1,25±0,02 $p < 0,05$	1,02±0,03 $p_2 < 0,05$ $p_{2-2} < 0,05$

Примітка.  $p$  – порівняння показників підгруп 2-2 і 1-2;  $p_2$  – підгруп 3-2 і 1-2;  $p_{2-2}$  – підгруп 3-2 і 2-2.

При використанні незбалансованого (гіперкалорійного і гіпокалорійного) харчування у щурів-матерів їхнє двомісячне потомство, як і одномісячне, має достовірно знижену активність ключових ферментів гліколізу (гексокінази і ФФК), причому гіпокалорійна дієта так само значно більше знижує активність цих ферментів, ніж гіперкалорійна.

#### Висновки

1. Незбалансоване, як гіперкалорійне, так і гіпокалорійне, харчування щурів-матерів не

впливає на активність гексокінази і фосфофруктокінази), причому гіпокалорійна дієта так само значно більше знижує активність цих ферментів, ніж гіперкалорійна.

5. Зниження активності таких ключових ферментів гліколізу, як гексокінази і фосфофруктокінази, може призвести до розвитку гіпоергії тканин порожнини рота та інших тканин у тварини і викликати порушення розвитку й формування зубощелепного апарату та його патологію в майбутньому.

#### Список літератури

1. Задорожна І. В. Особливості показників мінеральної щільності кісткової тканини в дітей з різною інтенсивністю карієсу зубів / І. В. Задорожна // Проблеми остеології. – 2016. – Т. 19, № 2. – С. 15–21.

2. Якубова І. І. Впровадження схеми диспансеризації вагітних жінок у стоматолога – перший крок до збереження стоматологічного здоров'я матері і формування його у дитини / І. І. Якубова // Новини стоматології. – 2012. – № 2 (71). – С. 56–59.

3. Кузьміна В. А. Санітарна освіта вагітних щодо гігієни порожнини рота як важлива ланка в антенатальній профілактиці карієсу зубів / В. А. Кузьміна, І. І. Якубова, Г. М. Коркач // Новини стоматології. – 2016. – № 4 (89). – С. 49–55.

4. Терапевтическая стоматология детского возраста / [Хоменко Л. А., Чайковский Ю. Б., Савичук А. В. и др.]; под. ред. Л. А. Хоменко. – К. : Книга плюс, 2007. – 813 с.

5. Комаров Ф. И. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. – Элиста : АПП «Джангар», 1998. – 250 с.

6. Пат. 80979 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання надмірної ваги / Николаєва О. В., Ковальцова М. В., Євтушенко Т. Г. ; заявник та патентовласник Харківський національний медичний університет. – № u 2013 01221 ; заявл. 01.02.13 ; опубл. 10.06.13, Бюл. № 11.

7. Пат. 81453 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). G 09B 23/34 (2006.01). Спосіб моделювання аліментарної недостатності / Николаєва О. В., Ковальцова М. В., Євтушенко Т. Г. ; заявник та патентовласник Харківський національний медичний університет. – № u 2013 01910 ; заявл. 18.02.13 ; опубл. 25.06.13, Бюл. № 12.

8. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований / В. С. Камышников. – М. : Медипресс-информ, 2016. – 736 с.

### References

1. Zadorozhna I.V. (2016). Osoblyvosti pokaznykiv mineralnoi shchilnosti kistkovoї tkanyny v ditei z riznoiu intensyvniatu kariiesu zubiv [Features of indicators of mineral density of bone tissue in children with different intensity of caries of teeth]. *Problemy osteolohii – Problems of Osteology*, vol. 19, № 2, pp. 15–21 [in Ukrainian].

2. Yakubova I.I. (2012). Vprovadzhennia skhemy dyspanseryzatsii vahitnykh zhinok u stomatoloha – pershyi krok do zberezhenntia stomatolohichnoho zdorovia materi i formuvannia yoho u dytyny [Implementation of the scheme for the diagnosis of pregnant women in the dentist – the first step to maintaining the dental health of the mother and forming it in the child]. *Novyny stomatolohii – Dental News*, № 2, pp. 56–59 [in Ukrainian].

3. Kuzmina V.A., Yakubova I.I., Korkach H.M. (2016). Sanitarna osvita vahitnykh shchodo hihieny porozhnyny rota yak vazhlyva lanka v antenatalnii profilaktytsi kariiesu zubiv [Sanitary education of pregnant women regarding oral hygiene as an important link in antenatal prophylaxis of caries of teeth]. *Novyny stomatolohii – Dental News*, № 4 (89), pp. 49–55 [in Ukrainian].

4. Khomenko L.A., Chaikovskii Yu.B., Savichuk A.V., Savichuk N.O., Ostapko Ye.I., Shmatko V.I. (2007). *Terapevticheskaia stomatolohiia detskoho vozrasta* [Pediatric dentistry]. L.A. Khomenko (Ed.). Kyiv: Kniha plius, 813 p. [in Russian].

5. Komarov F.I., Korovkin B.F., Menshikov V.V. (1998). *Biokhimicheskie issledovaniia v klinike* [Biochemical researches in clinic]. Elista: APP «Dzhangar», 250 p. [in Russian].

6. Nikolaieva O.V., Kovaltsova M.V., Yevtushenko T.H.; zaiavnyk ta patentovlasnyk Kharkivskiy natsionalnyi medychnyi universytet. (2013). *Patent 80979 Ukraine, MPK G09B 23/28 (2006.01). Sposib modeliuvannia nadmirnoi vahy* [Patent 80979 Ukraine, MPK G09B 23/28 (2006.01). The method of overweight modeling]. № u2013 01221, stated 01.02.13, published by 10.06.13, newsletter № 11 [in Ukrainian].

7. Nikolaieva O.V., Kovaltsova M.V., Yevtushenko T.H.; zaiavnyk ta patentovlasnyk Kharkivskiy natsionalnyi medychnyi universytet. (2013). *Patent 81453 Ukraine, MPK G09B 23/28 (2006.01) G09B 23/34 (2006.01). Sposib modeliuvannia alimentarnoi nedostatnosti* [Method of modeling alimentary deficiency]. № u2013 01910, stated 18.02.13, published by 25.06.13, newsletter № 12 [in Ukrainian].

8. Kamyshnikov V.S. (2016). *Metody klinicheskikh laboratornykh issledovaniy* [Clinical laboratory research methods]. Moscow: Medipress-inform, 736 p. [in Russian].

### О.Т. Письменная

#### АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ГЛИКОЛИЗА В МЯГКИХ ТКАНЯХ ПОЛОСТИ РТА У ПОТОМСТВА КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ НЕСБАЛАНСИРОВАННУЮ ДИЕТУ В ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Исследована активность гексокиназы и фосфофруктокиназы в мягких тканях полости рта у потомства крыс-матерей, которые находились на гиперкалорийной или гипокалорийной диете в течение беременности. Обнаружено, что несбалансированное питание крыс во время беременности негативно влияет на активность ферментов гликолиза их потомства. Снижение активности

таких ферментов может привести к развитию гипозергии тканей полости рта у животного и вызвать нарушения развития и формирования зубочелюстного аппарата и его патологии в будущем.

**Ключевые слова:** гексокиназа, фосфофруктокиназа, мягкие ткани полости рта, крысы-матери, крысята, несбалансированная диета.

### ***О.Т. Письменная***

#### **THE ACTIVITY OF CERTAIN GLYCOLYSIS ENZYMES IN THE SOFT TISSUES OF THE ORAL CAVITY IN THE OFFSPRING OF RATS FED AN UNBALANCED DIET DURING PREGNANCY**

The hexokinase and phosphofructokinase activity was investigated in the soft tissues of the oral cavity in the offspring of rats whose mothers were on a hypercaloric and hypocaloric diet during pregnancy. It was found, that unbalanced nutrition of rats during pregnancy negatively affects the activity of the glycolysis enzymes of their offspring. Decrease in such enzymes activity may lead to the development of hypoergy of the tissues of the oral cavity in an animal and cause disturbances in the development and formation of the tooth-jaw apparatus and its pathology in the future.

**Keywords:** hexokinase, phosphofructokinase, soft tissues of the oral cavity, mother rats, rat pups, unbalanced diet.

*Надійшла 28.02.18*

### **Відомості про автора**

*Письменная Ольга Тарасівна* – аспірант кафедри патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, ХНМУ.

Тел.: +38(050)576-27-36.

E-mail: olechkapysmennaya@gmail.com.

ORCID: 0000-0002-9115-9150.