

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК (616.314.17)–008.1–02 + 678.746.47): 599.323.4 – 018

*А. В. Николаева, к. мед. н.,
Е. К. Ткаченко, к. биол. н., В. Е. Бреус*

Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»

**ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ТРАВЫ *HYPERICUM PERFORATUM L.*
НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЩЕКИ КРЫС
В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАРОДОНТИТА**

*При моделировании пародонтита в слизистой оболочке щеки у крыс было обнаружено уменьшение содержания межклеточного матрикса и количества клеток, способных синтезировать компоненты соединительной ткани. Препарат из травы *Hypericum perforatum L.* (ПФЗв) увеличивал количество коллагеновых волокон и их расположение в ткани. В группе крыс, получавших препарат, количественно преобладали фиброциты – клетки, потерявшие способность к активному делению и биосинтезу белка.*

Ключевые слова: *слизистая оболочка щеки, моделирование пародонтита, межклеточный матрикс, полифенолы, фиброциты.*

А. В. Николаєва, Є. К. Ткаченко, В. Є. Бреус

Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

**ЦИТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ
ПРЕПАРАТУ ПОЛІФЕНОЛІВ ТРАВЫ *HYPERICUM PERFORATUM L.*
НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ЩОКИ ЩУРІВ
В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ПАРОДОНТИТУ**

*При моделюванні пародонтиту в слизовій оболонці щоки у щурів було виявлено зменшення вмісту міжклітинного матриксу та кількості клітин, здатних синтезувати компоненти сполучної тканини. Препарат з трави *Hypericum perforatum L.* (ПФЗв) збільшував кількість колагенових волокон і їх розташування в тканині. У групі щурів, які отримували препарат, кількісно переважали фіброцити - клітини, що втратили здатність до активного поділу та біосинтезу білка.*

Ключові слова: *слизова оболонка щоки, моделювання пародонтиту, міжклітинний матрикс, поліфеноли, фіброцити.*

A. V. Nikolaeva, E. K. Tkachenko, V. E. Breus

State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”

**CYTOLOGY OF MUCOUS MEMBRANE
OF CHEEKS UNDER PERIODONTITIS MODELING
AND INFLUENCE OF *HYPERICUM PERFORATUM L.* POLYPHENOLS**

*Under periodontitis modeling in mucous membrane of mouth cavity was found loss extracellular matrix. It was in consequence of decrease in number of cell's, which can synthesize components of tissue. Preparation of *Hypericum perforatum L.* was increase number of collagen's fibres and their positions in tissue. It was similar to pure group. In group, which obtained preparation, extracellular matrix prevail over fibroblastes more, then in pure group.*

Key words: *mucous membrane of cheeks, periodontitis modelling, extracellular matrix, polyphenols, fibrocytes.*

Особенности процессов метаболизма и катаболизма соединительной ткани связаны с особенностями ее строения. Как известно, характерным для соединительной ткани является наличие в ней межклеточного матрикса (МКМ), который в нормальных условиях занимает значительно больший объем, чем клетки.

Деструктивные изменения в МКМ играют существенную роль в развитии пародонтита. Нарушение метаболизма МКМ пародонта воспроизвели у крыс введением с питьевой водой ксенобиотика купренила (D – пеницилламина) [1]. Купренил – синтетический препарат, по структуре представляющий собой часть молекулы пенициллина, является диметильным производным аминокислоты цистеин. Основное свойство купренила – комплексообразующая активность в отношении ионов металлов (меди, ртути, свинца, железа, а также кальция и магния). Препарат применяется при острых и хронических отравлениях, в основном, ионами тяжелых металлов. Кроме того, купренил оказывает многостороннее действие на метаболизм коллагена, блокируя его синтез.

Разработанная нами экспериментальная модель пародонтита вызвала биохимические изменения метаболизма МКМ пародонта крыс. Коррекцию этих изменений осуществляли пероральным введением препарата полифенолов из травы *Hupericum perforatum L.* [2].

Цель настоящего исследования

Изучение цитоморфологических изменений в структуре соединительной ткани слизистой оболочки щеки (СОЩ) крыс при моделировании у них пародонтита, а также коррекция этих нарушений препаратом растительных полифенолов (ПФ).

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 23 белых крысах-самцах 1,5-2-х мес. возраста, которые содержались на стандартном рационе вивария. Интактную группу составили 7 особей. Модель пародонтита воспроизвели введением с питьевой водой купренила (АТ ТЕВА, Польша) в дозе 20 мг/кг массы тела крыс 7 дней в неделю на протяжении 55 дней (8 крыс).

На фоне введения купренила 8 крыс 5 раз в неделю получали рег ос препарат надземной части Зверобоя продырявленного (*Hupericum perforatum L.*), полученный в лабораторных условиях (рабочее название ПФЗв) в дозе 0,1 мг/100 г массы тела крыс, а также комплекс минералов Дуовит (КРКА, Словения) – 1 табл./8крыс. Длительность проведения эксперимента составила 55 дней.

После окончания экспериментов кусочки СОЩ иссекали, фиксировали в формалине и заключали в парафин. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по Ван Гизону и проводили дифференцированную окраску клеточных ядер по методу А.Н. Яцковского [3]. Полученные препараты использовали для обзорных цитоморфологических исследований, оценивая изменения в структуре соединительной ткани СОЩ. Для этого анализировали общую картину соединительной ткани, оценивали особенности ее клеточного состава и компонентов межклеточного вещества.

Полученные данные подвергали статистической обработке в соответствии с t-критерием достоверности различий по Стьюденту.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование проводили в 3-х сериях опытов. Прежде всего изучали состояние СОЩ в интактной группе. Слой соединительной ткани слизистой и подслизистой оболочек в данной группе по толщине превышал слой эпителия. Ткань выглядела умеренно рыхлой, отечности не отмечалось. Клетки располагались как одиночно, так и в форме скоплений, по 2-3. Клеточный состав представлен, в основном, клетками фибробластического дифферона. Клетки других видов (макрофаги, лейкоциты) встречались редко. Среди фибробластических клеток преобладали (около 70 %) дифференцированные и малодифференцированные клетки, у которых выявляли относительно крупные овальные ядра, заполненные эухроматином, на фоне которого четко были видны ядрышки. Цитоплазма таких клеток без четких границ переходила в межклеточное вещество. Остальные клетки фибробластического ряда – фиброциты – имели более четкие клеточные границы. Их ядра, меньшие по размеру, более вытянуты, содержали преимущественно гетерохроматин и поэтому выглядели более темными. Ядрышки были видны слабо и непостоянно.

Изредка встречались иммигрировавшие из сосудов лейкоциты.

Межклеточное вещество занимало большую по объему часть по сравнению с клетками. Коллагеновые волокна относительно тонкие, собраны в изгибающиеся пучки, которые сетевидно переплетаются между собой. Отечность соединительной ткани выражена не была.

Соединительные сосочки, вдающиеся в слой эпителия, расположены сравнительно равномерно вдоль границы контакта тканей. Высота сосочков, в основном, небольшая (практически не превышала половину толщины эпителия).

Эндомизий выражен достаточно хорошо, поэтому границы отдельных мышечных волокон

видны четко. Хорошо видна и поперечная исчерченность отдельных волокон. Картина межмышечной соединительной ткани практически не отличалась от аналогичной ткани в слизистой и подслизистой оболочках.

В группе крыс, которые получали с питьевой водой купренил (модель пародонтита), были отмечены некоторые особенности цитоморфологической картины СОПР. В целом, общий слой соединительной ткани слизистой и подслизистой оболочек выглядел истонченным. Мышцы располагались ближе к эпителию, чем в интактной группе.

Соединительнотканые клетки, представленные, в основном, фибробластическим рядом, расположены более компактно, чем в интактной группе. Чаше, чем в интактной группе, отмечалось групповое расположение клеток. Среди фибробластических клеток преобладали фиброциты, ядра которых уплотнены и при этом часто имели веретеновидную форму.

Объем межклеточного вещества в этой группе меньший, чем в интактной группе. Коллагеновых волокон также меньше. Они выглядели более грубыми, лежали более компактно, пучки мало переплетались. Относительно часто между пучками волокон лежали одиночные фиброциты с веретенообразно вытянутыми плотными ядрами.

Признаки отека соединительной ткани не выражены. Соединительнотканые сосочки на границе с эпителием расположены относительно равномерно вдоль границы тканей. Глубина проникновения в слой эпителия местами превышала половину толщины эпителиального пласта.

В группе животных, получавших препарат растительных ПФ (ПФЗв) с комплексом минералов Дуовит толщина слоя соединительной ткани в слизистой и подслизистой оболочках соответствовала таковой у интактных животных, что свидетельствует о нормализации изученного показателя. Плотность расположения клеточных элементов внешне также не отличалась от интактной группы. В основном, это клетки фибробластического ряда, среди которых незначительно встречались активные фибробласты, что подтверждалось типичной картиной их ядер (крупные размеры, преобладание эухроматина, четкое выявление ядрышек). Количество неактивных клеток – фиброцитов встречалось в меньшем количестве, чем в контрольной группе (модель пародонтита). Клетки вне фибробластического дифферона встречались редко.

Межклеточное вещество по объему преобладало над клетками. Волокна располагались четко сетевидно, были собраны в извивающиеся пучки,

окрашены сравнительно равномерно. Признаков отека в межклеточном веществе не наблюдалось.

Сосочки, проникающие в эпителий мало различались по величине, не углублялись в слой эпителия более, чем на половину его толщины, лежали сравнительно равномерно вдоль границы с эпителием. Картина эндомизия внешне была сходной с отмеченной в интактной группе.

Таким образом, основное отличие морфологической картины в данной экспериментальной группе – присутствие значительного числа фиброцитов – неактивных клеток, потерявших способность к активному делению.

Проведенные биохимические исследования по влиянию комплекса препарата ПФЗв с минералами Дуовит выявили пародонтопротекторные свойства в костных структурах, но не в полной мере оказали защитные эффекты в мягких тканях пародонта [2].

Выводы

1. В СОЩ крыс при моделировании пародонтита выявлено снижение объема межклеточного вещества и количества коллагеновых волокон, а также числа фибробластов, способных синтезировать компоненты межклеточного вещества.

2. Использование препарата ПФ из травы *Hypericum perforatum L.* в целом позволяет сделать вывод о его положительном влиянии на морфологическую картину СОЩ. В то же время неполнота защиты слизистой оболочки полости рта растительными полифенолами (препарат ПФЗв) в условиях действия купренила объяснима в связи с преобладанием в основном веществе соединительной ткани фиброцитов – клеток, потерявших способность к активному делению и синтезу белков.

Список литературы

1. Пат. 67897 Україна, МПК 2012.01 А 62 Р 31/00 Спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонту / Ткаченко Є. К., Косенко К. М., Новосельська Н. Г., Мокшина О. Г.; заявник та патентовласник ДУ «ІС НАМН». – № u201109837; заявл. 29.07.00; опубл. 12.03.12, Бюл. № 5.

2. Пародонтопротекторные свойства комплекса водного экстракта полифенолов травы Зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum L.*) с минералами / Косенко К. Н., Ткаченко Е. К., Новосельская Н. Г. [и др.] // Вісник стоматології. – 2011. – № 2 (75). – С. 133-134.

3. Яцковский А. Н. Оценка активности клеточных ядер. / А. Н. Яцковский // Архив АГЭ. – 1987. – № 1. – С. 76-79.

