

ВОЗДЕЙСТВИЕ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ПРОПОЛИСА НА КЛЕТКИ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Скуратовская И.В., Яковлев Д.А., Лантушенко А.О.
Севастопольский государственный университет
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ
e-mail: skuratovskaya95@mail.ru

Аннотация. В работе представлены результаты экспериментальных исследований влияния воспалительных процессов ротовой полости и воздействие водного экстракта прополиса на клетки буккального эпителия человека. Анализ проводился с помощью микроядерного теста. Показано, что воспалительные процессы проявляются в ряде большого количества ядерных нарушений, больше всего было найдено деструкционных показателей аномалий ядер. После недельного полоскания водным экстрактом прополиса были получены положительные результаты по состоянию клеток и общее количество аномалий клеток значительно снизилось. Для анализа результатов был проведён однофакторный дисперсионный анализ.

Ключевые слова: буккальный эпителий, микроядерный тест, клетки, ротовая полость, ядерные аномалии, водный экстракт прополиса.

EFFECT OF PROPOLIS WATER EXTRACT ON HUMAN BUCCAL EPITHELIUM CELLS IN CASE OF INFLAMMATORY DISEASES OF ORAL CAVITY

Skuratovskaya I.V., Yakovlev D.A., Lantushenko A.O.
Sevastopol State University
University str., 33, Sevastopol, 299053, Russia
e-mail: skuratovskaya95@mail.ru

Abstract. The results of experimental researches of the influence of oral cavity inflammatory processes and propolis water extract effect on the cells of human buccal epithelium are presented in the paper. The analysis was conducted by means of the micronucleus test. It is shown that inflammatory processes are manifested in some large quantity of nuclear violations, most destructive indicators of anomalies of nuclei were found. After a week of mouthwash with propolis water extract the positive results about the cells condition were obtained and the total number of cells abnormalities decreased significantly. To evaluate the analysis of the results one factor dispersion test was conducted.

Key words: buccal cells, micronucleus test, oral cavity cells, nuclear abnormalities, propolis water extract.

Человечество каждый день находится под воздействием внешних и внутренних факторов, которые влияют на организм. Одним из опасных последствий является нарушение целостности генетических структур клеток. Абсолютно любое влияние на структуру клеток: механическое воздействие, изменение температуры, действие ядов и токсинов и т.д., может вести к большому числу наследственных изменений, которые, в свою очередь, могут передаваться последующим поколениям. Благодаря микроядерному тесту, который появился в 80-х годах прошлого века, можно довольно быстро и с большой точностью отследить воздействие различных факторов на целостность генетического аппарата человека [1].

Существует множество разновидностей клеток и тканей, которые применяются в микроядерном исследовании [2]. К ним относятся эпителиальные клетки почек, шейки матки, толстого кишечника, ротовой полости, эритроциты костного мозга и крови, клетки эмбрионов.

Наибольшее внимание уделяется вопросу о проведении микроядерного теста в тканях, покрывающих слизистую оболочку ротовой полости человека, по той причине, что нет нужды в использовании специализированного лабораторного оборудования. Анализ является довольно простым, дешёвым и быстрым. Буккальный эпителий позволяет увидеть состояние всего организма, следовательно, может являться индивидуальным «зеркалом» [3].

Появление ядерных нарушений в пробе буккальных эпителиоцитов наблюдается не ранее чем через трое суток после воздействия с пиком около семи суток, и в течение двух-трёх недель идёт снижение до фонового уровня [4].

Под воздействием каких-либо факторов в клетке образуются аномалии ядра, которые делятся на: цитогенетические, пролиферативные и деструкционные [5]. К цитогенетическим относятся клетки с микроядрами, протрузиями типа «разбитое яйцо» и «язык», к пролиферативным – двуядерные клетки, насечка, а к деструкционным – клетки с перинуклеарной вакуолью, кариорексисом, кариолизисом и кариопикнозом.

В последнее время всё большую значимость обретают методы лечения заболеваний, которые используют природные лекарственные вещества. Такие методы не вызывают побочных эффектов, которые имеют место при использовании традиционных антибиотиков, и дают хороший терапевтический эффект. Поэтому изучение механизмов воздействия таких веществ на биологические объекты представляет существенный научный интерес.

Цель исследования: анализ воздействия водного экстракта прополиса (продукт ЭЙ-ПИ-ВИ фирмы «Тенториум») на состояние клеток буккального эпителия человека при воспалительных процессах.

Материалы и методы.

Перед исследованием испытуемые прополаскивают рот водой. Делается соскоб слизистой оболочки щеки выше линии смыкания зубов стерильным шпателем, который предварительно был обработан спиртом (спиртовой

салфеткой). Взятую пробу буккальных эпителиоцитов помещают в буферный раствор, а затем их осаждают центрифугированием (три раза на 5000 об/с). После последнего промывания, пипеткой аккуратно убирают надосадочную жидкость и в эппендорфе оставляют 0,1мл. Клетки перемешивают и добавляют каплю красителя азур-эозина по Романовскому-Гимза. Окрашивают в течение 15 минут. Образец помещают на предметное стекло и накрываем покровным стеклом.

Исследование проводилось на восьми взрослых испытуемых, которые имели воспалительные процессы в ротовой полости: воспаления и кровоточивость дёсен, повреждения из-за брекетов. Эти воспалительные процессы проявились в виде большого количества ядерных нарушений (см. рис. 1). По каждому донору было рассмотрено по 1000 отдельно лежащих клеток с непрерывными краями. В исследовании применялся водный экстракт прополиса продукт ЭЙ-ПИ-ВИ фирмы «Тенториум». Испытуемым предлагалось полоскать ротовую полость два раза в день в течение недели. Микроядерный тест применялся для анализа клеток буккального эпителия человека при воспалительных процессах, после применения водного экстракта прополиса и месяц спустя после недельного полоскания.

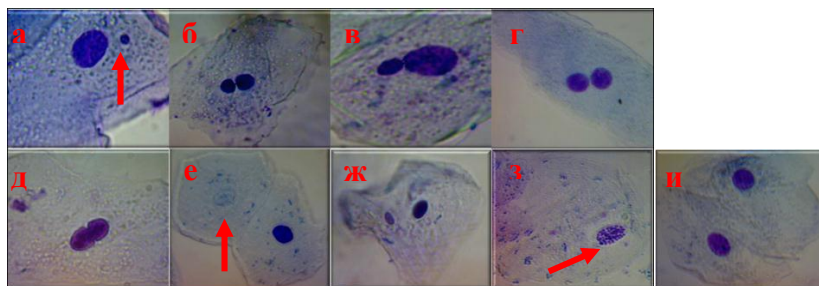


Рисунок 1 – Фотографии ядерных аномалий в клетках с воспалительных процессов, полученные во время исследования: а – микроядро, б – протрузия типа «разбитое яйцо», в – протрузия типа «язык», г – двуядерная клетка, д – насечка, е – кариолизис, ж – кариопикноз, з – кариорексис, и – здоровые клетки

При проведении микроядерного теста для анализа воспалительных процессов было обнаружено большое количество ядерных нарушений (см. таблицу 1). Больше всего было найдено деструкционных показателей аномалий ядер (кариопикноз, кариолизис, кариорексис). Данные три ядерные аномалии считаются последними стадиями гибели ядра. После недельного полоскания водным экстрактом прополиса были получены положительные результаты, как по состоянию клеток, так и, по отзывам испытуемых. Общее количество аномалий значительно снизилось по каждому донору (см. рис. 2).

Таблица 1 – Результаты исследования

	Донор 1								Всего
	Цитогенетические			Проллиферационные		Деструкционные			
	Микро-ядра	Язык	Яйцо	Дву-ядерные	Насечка	Карио-пикноз	Карио-лизис	Карио-рексис	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
До прополиса	0,47%	0,09%	0,19%	0,76%	0,28%	0,57%	3,69%	0,66%	6,71%
После прополиса	0	0	0,09%	1,04%	0,19%	0,19%	0,66%	0	2,17%
Контроль	0,10%	0	0,30%	0,40%	0,10%	0,40%	1,20%	0,40%	2,9%
Донор 2									
До прополиса	0,20%	0	0	0,79%	0,50%	0,60%	4,37%	0	6,46%
После прополиса	0	0,10%	0	0,40%	0,10%	0,20%	1%	0	1,8%
Контроль	0	0	0	0	0	0,10%	0,90%	0	1%
Донор 3									
До прополиса	0,29%	0,29%	0	0,58%	0,38%	0,19%	1,53%	0,29%	3,55%
После прополиса	0,10%	0	0,10%	0	0,10%	0,20%	0,40%	0,30%	1,2%
Контроль	0,19%	0	0,19%	0	0	0	0	0,10%	0,48%
Донор 4									
До прополиса	0	0	0	0,30%	0	0	0,20%	1,49%	1,99%
После прополиса	0	0	0	0	0	0,10%	0,20%	0,20%	0,50%
Контроль	0	0	0	0	0	0,098%	0,098%	0	0,196%

Продолжение таблицы 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Донор 5									
До прополиса	0	0	0	0,49%	0,098%	0,20%	1,37%	0,10%	2,26%
После прополиса	0,093%	0	0	0	0	0	0,19%	0	0,28%
Контроль	0	0	0	0,20%	0,10%	0,10%	0,39%	0	0,79%
Донор 6									
До прополиса	0	0,49%	0,10%	0	0,20%	0,78%	1,18%	0	2,75%
После прополиса	0	0	0	0,098%	0,20%	0	0,29%	0	0,59%
Контроль	0	0	0	0,70%	0,10%	0	0,40%	0,10%	1,3%
Донор 7									
До прополиса	0,29%	0,098%	0	0,39%	0	0	0,39%	0,69%	1,86%
После прополиса	0	0	0	0,099%	0,20%	0	0,30%	0,30%	0,899%
Контроль	0	0,40%	0	0,20%	0	0,20%	0,50%	0	1,3%
Донор 8									
До прополиса	0,098%	0,10%	0	0,49%	0	0,69%	1,18%	0,59%	3,15%
После прополиса	0	0	0	0,40%	0	0,40%	0,40%	0	1,2%
Контроль	0	0,39%	0	0,19%	0	0,68%	0,10%	0	1,36%

Микроядерный тест спустя месяц после применения прополиса показал, что количество ядерных нарушений в основном возросло, по сравнению с результатами полученных после применения водного экстракта прополиса.

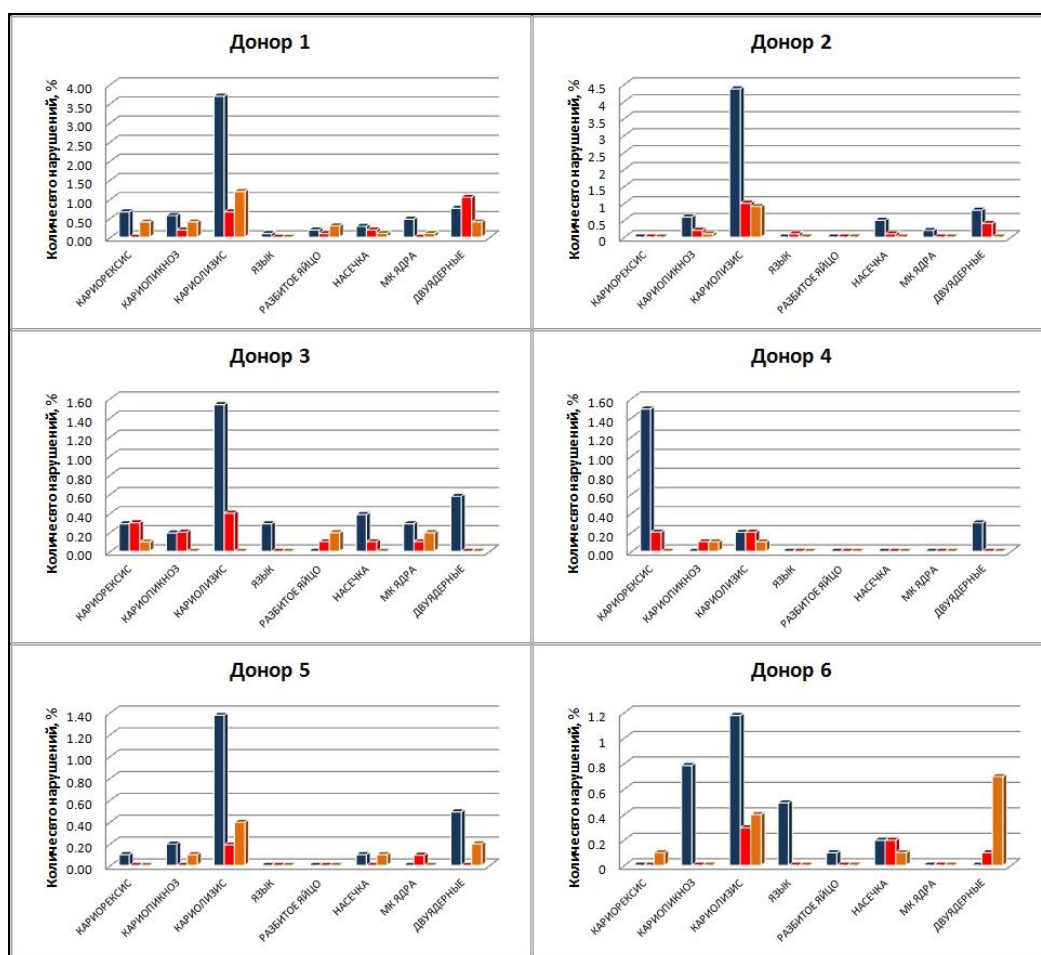
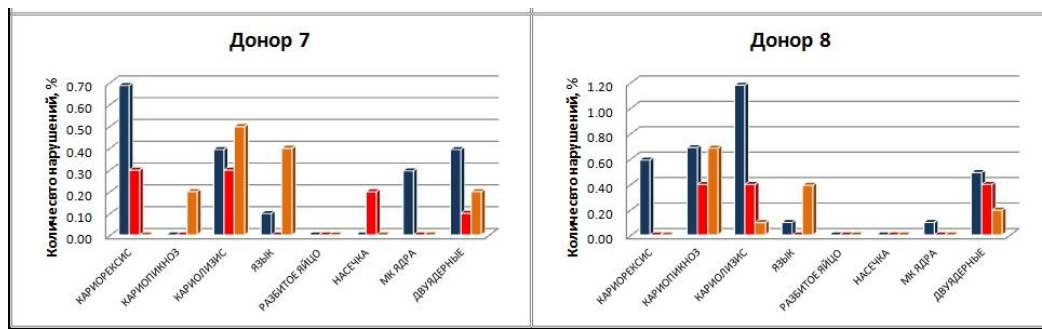


Рисунок 2 – Результаты исследования, полученные в процентах, где ■ – результаты до применения прополиса, ■ – результаты после применения прополиса, ■ – результаты спустя месяц



Продолжение рисунка 2

Для определения статистической связи между полученными данными, был проведен однофакторный дисперсионный анализ. Зависимой переменной были выбраны категории: тип аномалии, количество аномалий в процентах, доноры. Предиктором (фактором) было выбрано время (до прополиса, после прополиса, месяц после прополиса). Дисперсионный анализ (One-Way ANOVA) проводился в программе STATISTICA 7. Из таблицы 2 следует, что фактор времени оказывает наибольшее влияние (критерий Фишера F – максимален), следовательно, на количество ядерных аномалий влияет продолжительность использования водного экстракта прополиса (см. рис. 3).

Таблица 2 – Результаты однофакторного дисперсионного анализа ANOVA

Dependent Variable	Test of SS Whole Model vs. SS Residual (Spreadsheet1)										
	Multiple R	Multiple R ²	Adjusted R ²	SS Model	df Model	MS Model	SS Residual	df Residual	MS Residual	F	p
Количество аномалий в процентах	0.303789	0.092288	0.082682	4.314676	2	2.157338	42.438	189	0.224538	9.607881	0.000106
Тип аномалии	0.000000	0.000000	-0.010582	0.000000	2	0.000000	1008.000	189	5.333333	0.000000	1.000000
Донор	0.000000	0.000000	-0.010582	0.000000	2	0.000000	1008.000	189	5.333333	0.000000	1.000000

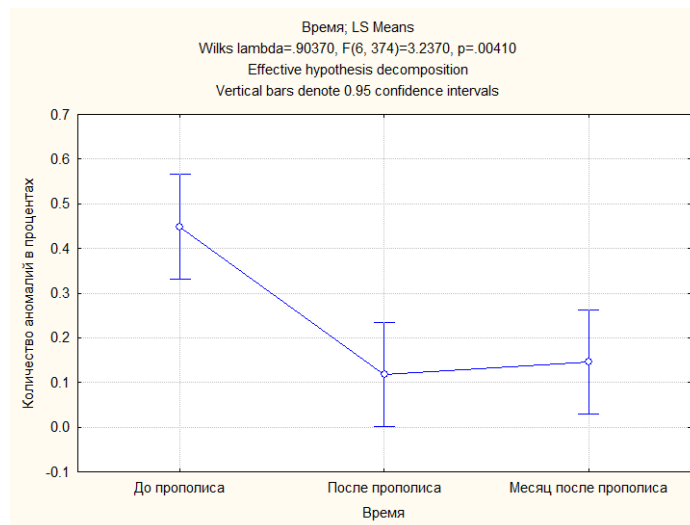


Рисунок 3 – Результаты однофакторного дисперсионного анализа ANOVA

Список литературы / References:

1. Калаев В.Н., Нечаева М.С., Калаева Е.А. *Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: монография*. Воронежский государственный университет, Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016, 136 с. [Kalaev V.N., Nechaeva M.S., Kalayev E.A. *Micronuclear test of buccal epithelium of the human mouth: monograph*. Voronezh State University, Voronezh: Publishing house VSU, 2016, 136 p. (In Russ.)]
2. Ильинских Н.Н., Ксенц А.С., Ильинских Е.Н., Васильев С.А., Манских В.Н., Ильинских И.Н. *Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности*. Томск: ТГПУ, 2011, 312 с. [Il'inskikh N.N., Ksents A.S., Il'inskikh E.N., Vasiliev S.A., Manskih V.N., Il'inskikh I.N. *Micronuclear analysis in the assessment of cytogenetic instability*. Tomsk: TSPU, 2011, 312 p. (In Russ.)]
3. Гемонов В.В. *Морфология и гистохимия слизистой оболочки полости рта в норме и при некоторых патологических состояниях в эксперименте: автореф. дис. ... докт. мед. наук, М., 1969, 39 с.* [Gemonov V.V. *Morphology and histochemistry of the oral mucosa in normal and with some pathological conditions in the experiment: autoref. dis. ... Doct. Med. Sciences, M., 1969, 39 p. (In Russ.)*]

4. Юрченко В.В. *Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах человека. Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях.* М.: Гениус, 2007, 312 с. [Yurchenko V.V. *The micronuclear test on buccal epitheliocytes of a man. The multi-organ micronuclear test in ecological and hygienic studies.* Moscow: Genius, 2007, 312 p. (In Russ.)]

5. Майер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальном эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса. *Цитология*, 2010, т. 52, № 4, с. 305- 310. [Mayer A.V., Druzhinin V.G., Larionov A.V. Genotoxic and cytotoxic effects in buccal epitheliocytes of children living in ecologically distinct areas of Kuzbass. *Cytology*, 2010, vol. 52, no. 4, pp. 305-310. (In Russ.)]

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КПД ФОТОБИОСИНТЕЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПЛОТНОСТЯХ КУЛЬТУРЫ *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS*

Чекушкин А.А.¹, Лелеков А.С.²

¹Севастопольский государственный университет
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ
e-mail: anatoliy chekushkin@mail.ru

²Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ
e-mail: a.lelekov@yandex.ru

Аннотация. В работе был получен КПД фотобиосинтеза при разных плотностях культуры *Spirulina platensis*. По спектру поглощения культуры и спектру излучения световой решетки рассчитаны коэффициенты поглощения энергии. Показано, что КПД фотобиосинтеза увеличивается с ростом плотности культуры, достигая максимального значения 5,09 % на линейном участке. Недостатком проведенных расчетов является априори постоянное значение калорийности биомассы.

Ключевые слова: закон Бугера-Ламберта-Бера, коэффициент поглощения энергии, калорийность биомассы.

DETERMINATION OF PHOTOBIOSYNTHESIS EFFICIENCY IN VARIOUS DENSITY *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS* CULTURE

Chekushkin A.A.¹, Lelekov A.S.²

¹Sevastopol State University
Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia
e-mail: anatoliy chekushkin@mail.ru

²Institute of Marine Biological Research. A.O. Kovalevsky
Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia
e-mail: a.lelekov@yandex.ru

Annotation. The efficiency of photobiosynthesis at various densities of *Spirulina platensis* culture was obtained. The energy absorption coefficients were calculated from the absorption spectrum of the culture and the emission spectrum of the light grid. It was shown that the photobiosynthesis efficiency increases with the growth of the culture density, reaching a maximum value of 5.09% in the linear section. The drawback of the calculations is a priori constant value of caloric value of the biomass.

Key words: Buger-Lambert-Beer law, energy absorption coefficient, caloric value of biomass.

Основным фактором среды, который определяет скорость роста микроводорослей, является свет. В литературе приводится множество работ, посвящённых влиянию облучённости на скорость фотобиосинтеза, где под фотобиосинтезом следует понимать согласованный синтез всех компонентов организма, т. е. биологический синтез живой структуры. Однако немало важным параметром является эффективность утилизации световой энергии. Эту величину можно выразить через КПД фотобиосинтеза [1]. Величина КПД фотобиосинтеза определяется количеством поглощённой клетками энергии, т. е. спектральными характеристиками культуры микроводорослей, а также приростом биомассы с учётом её калорийности. Несмотря на то, что исследования зависимости КПД фотобиосинтеза микроводорослей начаты еще с 70-ых 80-ых годах прошлого века [2], до сих пор нет чёткого ответа на вопрос, где теряется большая часть запасенной при фотосинтезе энергии. Исследования зависимости КПД фотобиосинтеза от внешних условий среды позволят получить новые знания о внутренней организации биосинтетических процессов, протекающих в клетках микроводорослей. Кроме того знание КПД фотобиосинтеза позволит дать рекомендации по выбору источников световой энергии [3] с целью оптимизации процесса культивирования микроводорослей, а также по организации промышленных производств микроводорослей.

Целью работы являлась определение КПД фотобиосинтеза при различных плотностях культуры микроводорослей.