

REMODELLING OF MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF THE GUMS UNDER THE INFLUENCE OF FOOD ADDITIVES COMPLEX

Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

vladoleksienko20@gmail.com

Today, food additives are widely used in the food industry. This is due not only to the fact that they significantly improve the taste of products but also extend their shelf life. However, their negative effects often become apparent only after some time. This experiment aimed to investigate the impact of various food additives on the gums and changes in their composition. The study was conducted on white rats, which were divided into six groups (control and 5 experimental groups), which were administered a solution of chemical food additives for 1, 4, 8, 12 and 16 weeks. The mean thickness of the epithelial lamina of the attached part, the thickness of the lamina propria and the mean thickness of the basal layer of the gums of rats were determined using the morphometric method. The results were analyzed statistically using Statistica 10 BiostatPro 6 software and Microsoft Excel 2019. The study showed that the combination of food additives (monosodium glutamate, sodium nitrite, and Ponceau 4R) causes irreversible disorders of the haemodynamics of the gingival mucosa and, as a result, hypoxic changes in the surrounding tissues. In addition, uneven thinning or thickening of the epithelial layer and the lamina propria, accompanied by destructive changes at the ultrastructural level and the formation of parietal dextrin slides of red blood cells, leads to a violation of metabolic processes in the tissue as a whole.

Key words: oral cavity, pathological changes, gums, mucous membrane, lamina propria, morphometry, periodontium, connective tissue.

Connection of the publication with planned research works.

The work is a fragment of the research project “Pathogenetic mechanisms of post-stress disorders under conditions of exogenous influences and wartime factors and the search for methods of its correction”, state registration number 0124U003313.

Introduction.

In today’s world, where the need for food is growing, manufacturers use various methods to speed up production and extend the shelf life of products. One of these methods is the use of chemicals. Some food additives have seemingly beneficial properties, such as preventing food spoilage, improving its taste and appearance, but the usefulness or harmfulness of their effects is highly controversial and poorly understood [1]. Their content in food products is strictly controlled by both national legislation and international standards. The use of certain additives may be allowed in one country but prohibited in another [2, 3].

However, even if the level of chemical additives does not exceed the permissible limits, their regular consumption can cause allergic reactions and pathological changes in the body. Studies conducted at the University of Southampton (UK) on the chronic and acute effects of artificial colors and preservatives on the behavior of more than 130 children (the mixture included the preservative sodium benzoate and dyes, including Ponceau 4R) showed that mixtures of this composition can affect the behavioral reactions of children, as well as other additives [4, 5, 6].

Of course, our body has a defense mechanism. A significant part of food additives of any nature is excreted from the body after oxidation, reduction, hydrolysis and conjugation processes, which occur mainly in the liver, and therefore, the liver is one of the main organs that suffer from ingestion of a significant amount of food additives or their combinations [7-10].

Today, there are many scientific papers analyzing the effects of individual supplements, but research on their combined effects remains limited.

Due to the lack of scientific trials in this area, the issue of studying morphological and functional changes in the body with the daily consumption of several food additives, even in permissible doses, is extremely relevant. This is an important issue for public health not only within our country but also around the world.

The aim of the study.

To determine the morphological and morphometric changes in the gums of rats under the influence of a complex of food additives in the experiment.

Object and research methods.

The study was conducted on white rats weighing (0.350±0.15) g, which were kept in standard conditions of the vivarium of Poltava State Medical University. The total number of animals is 90. The experimental studies were conducted in compliance with the biotic requirements and humane treatment of experimental animals regulated by the Law of Ukraine “On the Protection of Animals from Cruelty” (No. 3447-IV of February 21, 2006) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

The animals were divided into 6 groups (1 control group (n=15) and 5 experimental groups (n=75)). In the control group, rats were orally administered saline, with free access to drinking water. Rats from the experimental groups were orally administered at the same time a mixture of 10% sodium nitrite solution (E 250), sodium glutamate (E621) at a dose of 20 mg/kg in 0.5 ml of distilled water, Ponceau 4R at a dose of 5 mg/kg in 0.5 ml of distilled water once a day, also under the condition of free access to drinking water. The dosage of food additives was half that of the permissible norm of food additives in food products as defined by the legislation of Ukraine “On Standardization”. The rats were withdrawn from the experiment after 1, 4, 8, 12 and 16 weeks by an

overdose of thiopental anesthesia. Then, gingival fragments fixed in neutral formalin solution were embedded in paraffin.

The histological sections made from paraffin blocks were stained with hematoxylin and eosin for the overview sections. After examining the overview sections, immunohistochemical reactions were performed on them, and then microscopy was performed using a light microscope Viorhex with a digital microphotomount DSM 900. To obtain semi-thin and ultra-thin sections, the study material was fixed in glutaraldehyde in phosphate buffer and sealed in EPON-812. The finished sections were stained with toluidine blue and polychrome dye. For electron microscopic examination, epoxy blocks were used to make ultrathin sections on an ultramicrotome, which were then placed on copper grids and contrasted with a 1% aqueous solution of uranyl acetate and lead citrate according to the Reynoldsase method and examined using a PEM-125K electron microscope.

During the research, we used a system for visual analysis of histological specimens. The images were displayed using a microscope and a Vision CCD camera. Morphometric studies were performed using the programs VideoTest-5.0, KAAPA ImageBaseta Microsoft Excel. We determined the thickness of the gingival epithelium and lamina propria, and then processed the data using Statistica 10 BiostatPro 6 software and Microsoft Excel 2019. Verification of calculations and indicators in the samples was performed using the Shapiro-Wilk test. Quantitative data evaluation included the determination of the arithmetic mean of the variation series (M) and its standard error (m). To compare quantitative values in paired rows, we used Student's t-test. The difference was considered significant at $p < 0.05$.

Research results and their discussion.

Morphological analysis showed that the gums of the rats in the control group were covered with a mucous membrane without a submucosal layer. It was directly connected to the gingival plate, and its surface layer formed high narrow papillae that penetrated the epithelial layer of the mucous membrane. The epithelium itself consisted of a multilayered squamous epithelium (fig. 1).

The surface layer of epithelial cells in areas of keratinization is called stratified, and in places where this process does not usually occur, the surface is represented by a layer of squamous cells. Below the stratum corneum is a granular layer, the cells of which are elongated and contain keratohyaline grains. In areas without keratinization, there are several rows of spindly polygonal cells under the flat layer.

The deepest layer of the epithelium is the basal layer, which consists of cylindrical or cubic cells arranged in a single row and adjacent to the basement membrane. It is this layer that provides epithelial renewal.

Using the morphometric method, it was found that the average thickness of the epithelial plate of the attached part of the gums of the control group rats is 61.15 ± 5.43 microns, its own 120.38 ± 11.35 microns. After 1 week of the experiment, the mean values of the thickness of the epithelial plate significantly decreased by 27.2% to 44.52 ± 5.94 microns ($p < 0.05$). The thickness of the own plate of the attached part of the gingiva in

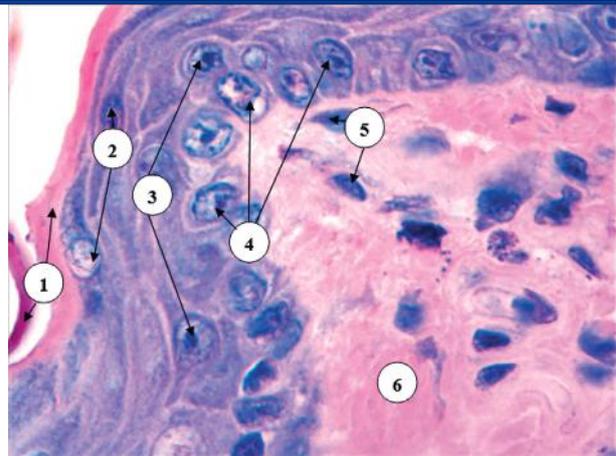


Figure 1 – Morphological structure of the attached part of the gums of rats of the control group. Staining with polychrome dye. Magnification: ok. 10, ob. 100. Designations: 1 – horny scales, 2 – nuclei of granular layer cells, 3 – cells of spinous layer, 4 – basal cells, 5 – fibroblasts, 6 – collagen fibers.

rats increased by 58.2% compared to the values in the control group of rats to 190.42 ± 6.12 microns ($p < 0.05$) due to edema and, accordingly, an increase in the amount of amorphous substance.

On the fourth week of the experiment, the average thickness of the epithelial laminae increased slightly compared to the previous period and amounted to 54.12 ± 6.32 μm .

As for the thickness of the lamina propria, there was a tendency to its decrease compared to the previous period (173.61 ± 7.81 μm), but this indicator remained significantly higher by 44.2% ($p < 0.05$) compared to control animals (fig. 2).

After the eighth week of the experiment and the use of food additives, the thickness of the epithelial plate of the mucous membrane of the attached part of the gums increased to 73.85 ± 6.62 μm , which was significantly more by 36.4% compared to the previous period ($p < 0.05$), but the difference with control rats remained statistically insignificant.

The average thickness of the own plate maintained a downward trend and reached 155.31 ± 6.33 μm , but was 29% higher than the value in the control group of rats.

By the 12th week of the experiment, the epithelial lamina continued to thicken: the average value was slightly higher than the previous one ($p < 0.05$), and significantly exceeded the control value by 37.9%.

Regarding the average thickness of the lamina propria, a slight decrease was observed, but it remained 23% higher compared to the control group of rats (fig. 3).

Under the influence of a complex of food additives during the first week, a decrease in the number of cell layers in the basal layer was found, but these changes were not significant and the index remained at the level of 1.25 ± 0.43 .

In the spinous and granular layers, there was a significant decrease in the average number of cell layers: in the spinous layer – from 3.61 ± 0.011 to 2.45 ± 0.05 , and in the granular layer – from 3.1 ± 0.04 to 1.7 ± 0.06 ($p < 0.05$). At the same time, an increase in the average number of cell layers was observed in the stratum corneum to 3.12 ± 0.04 ($p < 0.05$).

By the 4th week of the experiment, the average number of cell layers in the basal layer continued to decrease

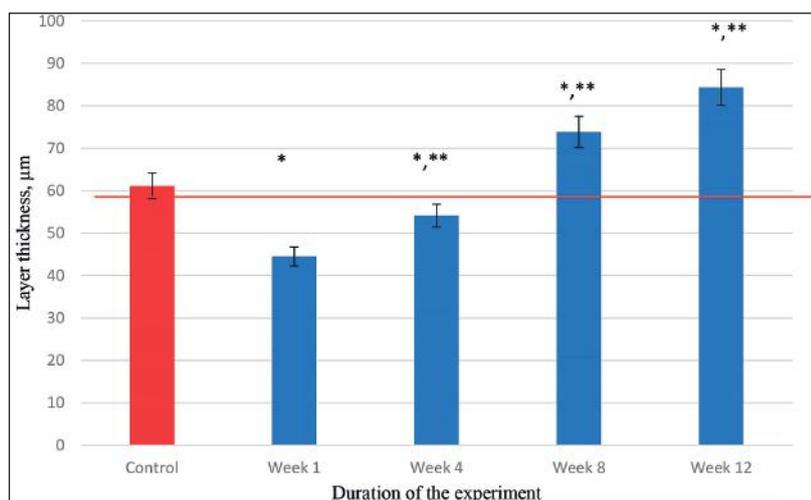


Figure 2 – Changes in the thickness of the gingival mucosa epithelium in rats in the dynamics of the experiment.

Notes: * – statistically significant at $p < 0.05$ compared to the control group, ** – statistically significant at $p < 0.05$ compared to the previous observation period.

(from 1.12 ± 0.41 at week 1 to 1.03 ± 0.03), indicating inhibition of the proliferative activity of keratinocytes. However, it was significantly different from the values in the control group of rats (1.11 ± 0.03 and 0.9 ± 0.02 , respectively ($p < 0.05$).

The average number of cell layers in the spiny layer increased compared to the previous period of the experiment and exceeded the index in the control group of animals ($p < 0.05$).

The average number of cell layers in the granular layer increased from 1.7 ± 0.05 to 2.85 ± 0.14 ($p < 0.05$), but was less than the value in the control group of rats ($p < 0.05$).

In the stratum corneum, a progressive decrease in the average number of cell layers was observed from 3.26 ± 0.04 to 2.1 ± 0.06 , in the control group – to 2.68 ± 0.11 ($p < 0.05$), which is a morphological confirmation of increased desquamative processes in the epithelium of the attached part of the gums.

After 8 weeks from the beginning of the experiment, the average number of cell layers decreased, but did not differ significantly from the control group. The average

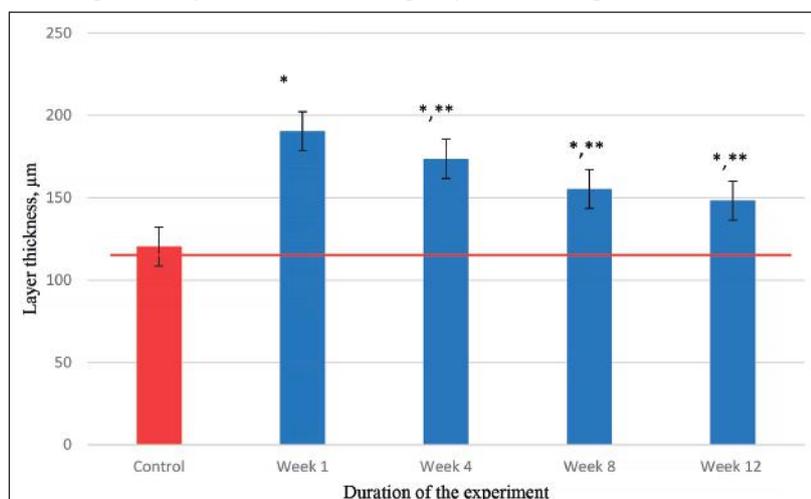


Figure 3 – Changes in the thickness of the gingival mucosa of rats in the dynamics of the experiment.

Notes: * – statistically significant at $p < 0.05$ compared to the control group, ** – statistically significant at $p < 0.05$ compared to the previous observation period.

number of cell layers in the spiny layer decreased significantly.

At the 12th week of the experiment, the average number of cell layers in the basal layer of the epithelial plate of the attached part of the gingiva decreased slightly, but did not differ significantly from the control group of animals.

Compared with the values in the control group of animals, the average number of layers of cells of the granular layer exceeded the value for the previous period

After finishing the experimental modeling of the effect of a complex of food additives on the gingival mucosa of rats, we have established regular reactions and structural changes in the gums.

It is noteworthy that after 1 week of the experimental study, the thickness of the epithelium decreases significantly, statistically significant, at $p < 0.05$. At the same time, the lamina propria, on the contrary, increases its thickness. Due to this process, there is a corresponding disruption of hemodynamic processes.

After 4 weeks of the experimental study, the average thickness of the epithelium and lamina propria changed in response to the restorative-compensatory reactions aimed at neutralizing the source of alteration and restoring the morphofunctional state of the surrounding microvessels. However, these processes do not fully lead to a complete restoration of normal indicators compared to similar indicators of the control group of animals, which indicates irreversible changes in the state of the loose connective tissue of the gingival mucosa of rats, and this in turn leads to decompensation of these processes, which in turn is manifested by signs of hypoxia [3].

After 12 weeks of observation, the morphometric parameters are not restored to similar indicators of the control group of animals. At the microscopic level, in the deep layers of the gingival mucosa, numerous groups of mastocytes in the stage of degranulation and in the stage of accumulation of secretory granules are visualized. In our opinion, mastocytes play a significant role in restoring the local epithelial condition to the control group due to degranulation of secretory granules containing heparin. Particularly noteworthy is the fact of changes in the rheological properties of blood with the formation of wall dextrin slides of erythrocytes, which, in our opinion, is associated with the entry into the systemic bloodstream of food additives containing glutamate and sodium nitrite and causing both allergic reactions and subsequent systemic inflammatory processes [4, 7].

Conclusions.

Prolonged use of a complex of food additives containing monosodium glutamate, sodium nitrite and Ponceau 4R

dye leads to irreversible disorders of hemodynamics of the gingival mucosa, causing hypoxic changes in the surrounding tissues.

Uneven thinning or thickening of the epithelial layer and the lamina propria, accompanied by destructive changes at the ultrastructural level and the formation of parietal dextrin slides of red blood cells, leads to a violation of metabolic processes in the tissue as a whole.

Recovery and compensatory reactions aimed at eliminating the source of damage and normalizing the morphological and functional state of tissues do not ensure their complete recovery. This is manifested at the later stages of the study in the form of an increase in the thickness of the epithelium and the lamina propria, which indicates decompensation of the recovery processes in the gingival mucosa.

The presence of numerous groups of mastocytes in the deep layers of the mucous membrane, both in the phase of degranulation and in the stage of accumulation

of secretory granules, indicates the restoration of local hemodynamics. This process occurs due to the release of heparin from secretory granules.

Our study not only confirms the negative impact of food additives on the body, but also demonstrates their complex effect. Unlike other studies that focus on the effects of individual substances, our experiment shows the effects of the simultaneous use of several additives. This is important because most foods contain combinations of different additives. Thus, the results are valuable for both basic research and practical medicine, as they allow us to trace the time sequence of changes in tissues and develop effective approaches to their correction.

Prospects for further research.

The results of the research could be used in the future different experiments with food additives, mostly with other types or their combinations.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-1-176-444-451

УДК 616.311.2:616.5

Олексієнко В. В., Білаш С. М.

РЕМОДЕЛЮВАННЯ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ ЯСЕН ПРИ ДІЇ КОМПЛЕКСУ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК

Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

vladoleksienko20@gmail.com

На сьогоднішній день харчові добавки широко використовуються в харчовій промисловості. Це пов'язано не лише з тим, що вони значно покращують смак продуктів, але й подовжують термін їх зберігання. Однак їхній негативний вплив часто стає очевидним лише через деякий час. Цей експеримент мав на меті дослідити вплив різних харчових добавок на ясна та зміни в їхньому складі. Дослідження проведено на білих щурах, які були поділені на 6 груп (контрольну та 5 експериментальних груп, яким вводили розчин хімічних харчових добавок протягом 1, 4, 8, 12 та 16 тижнів. За допомогою морфометричного методу визначали середню товщину епітеліальної пластинки прикріпленої частини, товщину власної пластинки а також середню товщину базального шару ясен щурів. Отримані результати опрацьовували статистично за допомогою програмного забезпечення Statistica 10 BiostatPro 6, а також за допомогою Microsoft Excel 2019. Дослідження показало, що комбінація харчових добавок (глутамат натрію, нітрит натрію та Ponceau 4R) викликає незворотні порушення гемодинаміки слизової оболонки ясен і, як наслідок, гіпоксичні зміни в навколишніх тканинах. Крім того, нерівномірне стоншення або потовщення епітеліального шару та власної пластинки, що супроводжується деструктивними змінами на ультраструктурному рівні та утворенням пристінкових декстринових складів еритроцитів, веде до порушення обмінних процесів у тканині в цілому.

Ключові слова: ротова порожнина, патологічні зміни, ясна, слизова оболонка, власна пластинка, морфометрія, пародонт, сполучна тканина.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом НДР «Патогенетичні механізми постстресових розладів за умов дії екзогенних впливів і чинників воєнного часу та пошук методів її корекції», номер державної реєстрації 0124U003313.

Вступ.

У сучасному світі, де зростає потреба у продуктах харчування, виробники використовують різні методи для прискорення виробництва та подовження терміну зберігання продукції. Одним із таких методів є застосування хімічних речовин. Деякі харчові добавки мають, здавалося б, корисні властивості, такі як запобігання псуванню їжі, покращення її смаку та зовнішнього вигляду, але корисність чи шкідливість їхнього впливу є дуже суперечливою та маловивченою [1].

Їхній вміст у харчовій продукції суворо контролюється як національним законодавством, так і міжнародними нормами. Використання окремих добавок може бути дозволено в одній країні, але заборонено в іншій [2, 3].

Однак, навіть якщо рівень хімічних добавок не перевищує допустимі межі, їхнє регулярне споживання може спричинити алергічні реакції та патологічні зміни в організмі. Дослідження, які були проведені в університеті Саутгемптона (Великобританія), щодо хронічного і гострого впливу штучних фарб і консервантів на поведінку понад 130 дітей (суміш включала консервант бензоат натрію та барвники, в тому числі і Ponceau 4R) показали, що суміші подібного складу можуть впливати на поведінкові реакції дітей, як і інші добавки [4, 5, 6].

Звичайно, у нашого організму є механізм захисту. Значна частина харчових добавок будь-якої природи виводиться з організму після процесів окислення, відновлення, гідролізу і кон'югації, що протікають переважно в печінці, в зв'язку з чим, печінка є одним з основних органів, які страждають за умов потрапляння до організму значної кількості харчових добавок або їх комбінацій [7-10].

На сьогодні існує багато наукових праць, що аналізують наслідки вживання окремих добавок, проте дослідження щодо їхнього комбінованого впливу залишаються обмеженими.

Через нестачу наукових випробувань у цьому напрямку питання вивчення морфофункціональних змін в організмі при щоденному споживанні кількох харчових добавок, навіть у допустимих дозах, є надзвичайно актуальним. Це важлива проблема для забезпечення громадського здоров'я не лише в межах нашої країни, а й усього світу.

Мета дослідження.

Встановити морфологічні і морфометричні зміни в яснах щурів при дії на них комплексу харчових добавок в експерименті.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження було проведене на білих щурах, вагою (0,350 ± 0,15) г, які утримувалися у стандартних умовах віварію Полтавського державного медичного університету. Загальна кількість 90 тварин. Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням біотичних вимог і гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Тварини були розподілені на 6 груп (1 контрольна (n=15) і 5 експериментальних груп (n=75)). У контрольній групі щурам перорально вводився фізіологічний розчин, при умові вільного доступу до питної води. Щурам із експериментальних груп перорально, в один і той же час, вводили суміш з 10% розчин нітриту натрію (E 250), глутамату натрію (E621) в дозі 20 мг/кг в 0,5 мл дистильованої води, Понсо 4R – в дозі 5 мг/кг в 0,5 мл дистильованої води один раз на добу,

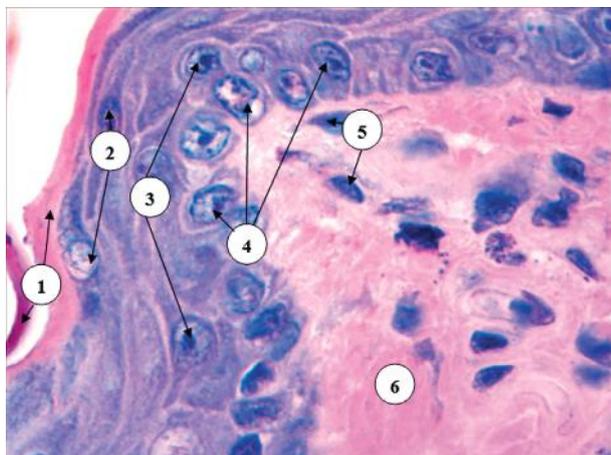


Рисунок 1 – Морфологічна будова прикріпленої частини ясен щурів контрольної групи. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100. Позначення: 1 – рогові лусочки, 2 – ядра клітин зернистого шару, 3 – клітини шипуватого шару, 4 – базальні клітини, 5 – фіброblastи, 6 – колагенові волокна.

теж при умові вільного доступу тварин до питної води. Дозування харчових добавок були вдвічі меншими, ніж допустима норма їх у харчових продуктах визначені законодавством України «Про стандартизацію». Щурів виводили із експерименту через 1, 4, 8, 12 та 16 тижнів шляхом передозування тіопенталового наркозу. Потім фіксовані у нейтральному розчині формаліну фрагменти ясен ущільнювали у парафін.

Виготовлені з парафінових блоків гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, для оглядових зрізів. Після вивчення оглядових зрізів на них проводили імунногістохімічні реакції, а потім мікроскопію за допомогою світлового мікроскопа Віогех з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900. Для отримання напівтонкі і ультра тонких зрізів досліджуванний матеріал фіксували у глутаровому альдегіді на фосфатному буфері і ущільнювали в ЕПОН-812. Готові зрізи фарбували толуїдиновим синім та поліхромним барвником. Для електронномікроскопічного дослідження використовувались епоксидні блоки з яких, на ультрамікромомі виготовляли ультратонкі зрізи, які потім розміщували на міднихпорних сітках і контрастували 1% водним розчином уранілацетату та цитратом свинцю згідно методу Рейнольдсазі змінами та вивчали за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-125К.

Під час дослідження ми використовували систему для візуального аналізу гістологічних зразків. Зображення виводили на екран за допомогою мікроскопа та CCD-камери Vision. Морфометричні дослідження проводили за допомогою програм VideoTest-5.0, KAAPA ImageBaseta Microsoft Excel. Визначали товщину епітелію ясен та власної пластинки, а потім обробляли дані за допомогою програм Statistica 10 BiostatPro 6 та Microsoft Excel 2019. Верифікацію розрахунків і показників у вибірках проводили за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Кількісна оцінка даних включала визначення середньої арифметичної величини варіаційного ряду (M) та її стандартної похибки (m). Для порівняння кількісних показників у парних рядах використовували t-критерій Стьюдента. Різницю вважали достовірною при p<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення.

Морфологічний аналіз показав, що ясна щурів у контрольній групі були покриті слизовою оболонкою без підслизового шару. Вона безпосередньо з'єднувалася з власною пластинкою, а її поверхневий шар утворював високі вузькі сосочки, які проникали в епітеліальний шар слизової оболонки. Сам епітелій складався з багатшарового плоского зроговілого епітелію (рис. 1).

Поверхневий шар клітин епітелію в зонах ороговіння називається ороговілим, а в місцях, де цей процес зазвичай не відбувається, поверхня представлена шаром плоских клітин. Під ороговілим шаром розташовується зернистий шар, клітини якого витягнуті та містять зерна кератогіаліну. У зонах без ороговіння під плоским шаром знаходиться кілька рядів шипуватих клітин полігональної форми.

Найглибшим шаром епітелію є базальний, який складається з клітин циліндричної або кубічної форми, розташованих в один ряд та прилеглих до базальної мембрани. Саме цей шар забезпечує оновлення епітелію.

За допомогою морфометричного методу встановлено, що середня товщина епітеліальної пластинки прикріпленої частини ясен щурів контрольної групи становить $61,15 \pm 5,43$ мкм, власної $120,38 \pm 11,35$ мкм.

Після 1 тижня експерименту середні значення товщини епітеліальної пластинки вірогідно зменшилися на 27,2% до $44,52 \pm 5,94$ мкм ($p < 0,05$). Показник товщини власної пластинки прикріпленої частини ясен у щурів збільшився на 58,2% проти значень у контрольній групі щурів до $190,42 \pm 6,12$ мкм ($p < 0,05$) за рахунок набряку і, відповідно, збільшення кількості аморфної речовини.

На четвертому тижні експерименту середня товщина епітеліальної пластинки несуттєво збільшилася порівняно з попереднім періодом і становила $54,12 \pm 6,32$ мкм.

Щодо товщини власної пластинки, спостерігалася тенденція до її зменшення порівняно з попереднім терміном ($173,61 \pm 7,81$ мкм), проте цей показник залишався достовірно вищим на 44,2% ($p < 0,05$) порівняно з контрольними тваринами (рис. 2).

Після восьмого тижня експерименту та вживання харчових добавок товщина епітеліальної пластинки слизової оболонки прикріпленої частини ясен зросла до $73,85 \pm 6,62$ мкм, що було достовірно більше на 36,4% порівняно з попереднім періодом ($p < 0,05$), однак різниця з контрольними щурами залишалася статистично незначущою.

Показник середньої товщини власної пластинки зберігав тенденцію до зменшення і сягав $155,31 \pm 6,33$ мкм, але був більшим, ніж значення в контрольній групі щурів, на 29%.

До 12-го тижня експерименту епітеліальна пластинка продовжувала потовщуватися: середній показник був дещо вищим за попередній ($p < 0,05$), а також достовірно перевищував контрольне значення на 37,9%.

Щодо середньої товщини власної пластинки, спостерігалася її незначне зменшення, проте вона залишалася на 23% більшою порівняно з контрольною групою щурів (рис. 3).

Під впливом комплексу харчових добавок протягом першого тижня було встановлено зменшення кількості шарів клітин у базальному шарі, однак ці зміни не були достовірними й показник залишався на рівні $1,25 \pm 0,43$.

У шипуватому та зернистому шарах відбулося достовірне зменшення середньої кількості шарів клітин: у шипуватому – з $3,61 \pm 0,011$ до $2,45 \pm 0,05$, а в зернистому – з $3,1 \pm 0,04$ до $1,7 \pm 0,06$ ($p < 0,05$). Водночас у роговому шарі спостерігалася збільшення середньої кількості шарів клітин до $3,12 \pm 0,04$ ($p < 0,05$).

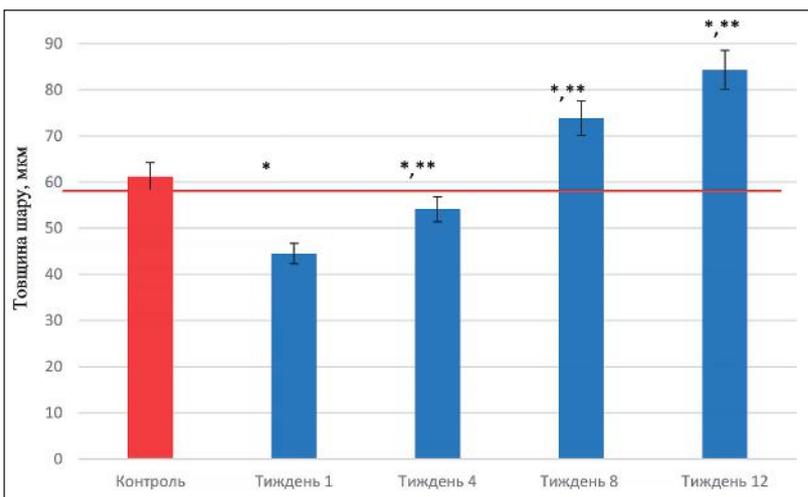


Рисунок 2 – Зміни товщини епітелію слизової оболонки ясен щурів у динаміці експерименту.

Примітки: * – статистично достовірні при $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою, ** – статистично достовірно при $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

До 4 тижня експерименту середня кількість шарів клітин базального шару продовжувала зменшуватися (з $1,12 \pm 0,41$ на 1 тижні до $1,03 \pm 0,03$), що свідчить про пригнічення проліферативної активності кератиноцитів. Але вона достовірно відрізнялася від показників у контрольній групі щурів ($1,11 \pm 0,03$ і $0,9 \pm 0,02$ відповідно ($p < 0,05$)).

Середня кількість шарів клітин у шипуватому шарі збільшилася порівняно з попереднім терміном експерименту і перевищувала показник у контрольній групі тварин ($p < 0,05$).

Показник середньої кількості шарів клітин у зернистому шарі збільшився з $1,7 \pm 0,05$ до $2,85 \pm 0,14$ ($p < 0,05$), але був меншим за значення в контрольній групі щурів ($p < 0,05$).

У роговому шарі спостерігалася прогресивне зменшення середньої кількості шарів клітин із $3,26 \pm 0,04$ до $2,1 \pm 0,06$, у контрольній групі – до $2,68 \pm 0,11$ ($p < 0,05$), що є морфологічним підтвердженням посилення десквамативних процесів у епітелії прикріпленої частини ясен.

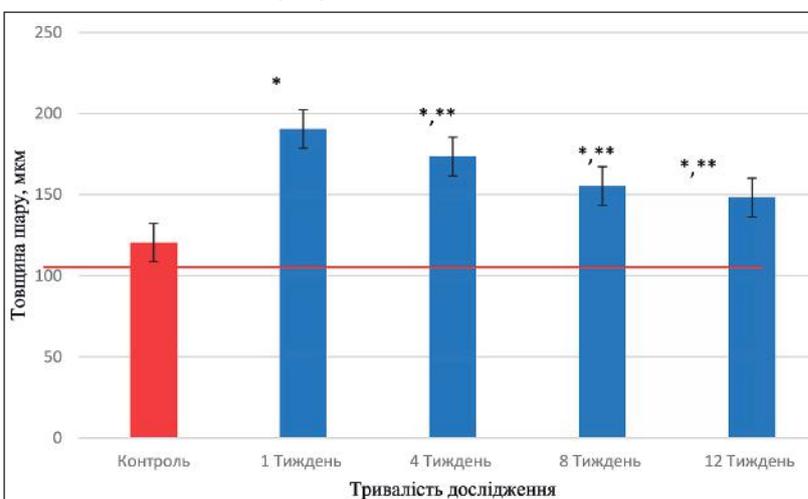


Рисунок 3 – Зміни товщини власної пластинки слизової оболонки ясен щурів у динаміці експерименту.

Примітки: * – статистично достовірні при $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою, ** – статистично достовірно при $p < 0,05$ порівняно з попереднім терміном спостереження.

Через 8 тижнів з початку експерименту середня кількість шарів клітин у зменшилася, але від показника в контрольній групі тварин вірогідно не відрізнялася. Середня кількість шарів клітин у шипуватому шарі значно зменшилась.

На 12 тиждень експерименту середня кількість шарів клітин базального шару епітеліальної пластинки прикріпленої частини ясен дещо зменшилась, однак від показника в контрольній групі тварин вірогідно не відрізнялася.

Порівняно зі значеннями в контрольній групі тварин середня кількість шарів клітин зернистого шару перевищувала показник на попередній термін.

Після проведення експериментального моделювання впливу комплексу харчових добавок на слизову оболонку ясен щурів ми встановили закономірні реакції, структурні зміни в яснах.

Звертає на себе увагу, що після 1 тижня експериментального дослідження достовірно, статистично значущо, при $p < 0,05$, зменшується товщина епітелію. В цей же час власна пластинка навпаки збільшує свою товщину. За рахунок цього процесу спостерігається відповідно порушення гемодинамічних процесів.

Після 4 тижня експериментального дослідження середні показники товщини епітелію та власної пластинки змінювались у відповідь на відновно-компенсаторні реакції, які були спрямовані на знешкодження джерела альтерації та відновлення морфологічного стану оточуючих мікросудини тканини. Але ці процеси у повній мірі не призводять до повного відновлення нормальних показників у порівнянні з аналогічними показниками контрольної групи тварин, що свідчить про незворотні зміни в стані пухкої сполучної тканини слизової оболонки ясен щурів, а це в свою чергу призводить до декомпенсаційних процесів, яке в свою чергу проявляється ознаками гіпоксії [3].

Після 12 тижня спостереження морфометричні показники не відновлюються до аналогічних показників контрольної групи тварин. На мікроскопічному рівні в глибоких шарах слизової оболонки ясен візуалізуються чисельні групи мастоцитів в стадії дегрануляції і в стадії накопичення секреторних гранул. На нашу думку мастоцити відіграють значну роль у відновленні місцевої стану епітелію до показників контрольної групи, за рахунок дегрануляції секреторних гранул, які містять гепарин. На особливу увагу заслуговує факт зміни реологічних властивостей крові з утворенням

пристінкових декстринових слайдів еритроцитів, що, на нашу думку, пов'язано з надходженням в системний кровотік харчових добавок, які містять глутамат і нітрит натрію і викликають як алергічні реакції, так і подальші системні запальні процеси [4, 7].

Висновки.

Тривале вживання комплексу харчових добавок, що містить глутамат натрію, нітрит натрію та барвник Понсо 4R, призводить до незворотних порушень гемодинаміки слизової оболонки ясен, викликаючи гіпоксичні зміни в навколишніх тканинах.

Нерівномірне стоншення або потовщення епітеліального шару та власної пластинки, що супроводжується деструктивними змінами на ультраструктурному рівні та утворенням пристінкових декстринових слайдів еритроцитів, веде до порушення обмінних процесів у тканині в цілому.

Відновно-компенсаторні реакції, спрямовані на усунення джерела пошкодження та нормалізацію морфологічного стану тканин, не забезпечують їхнього повного відновлення. Це проявляється на пізніх етапах дослідження у вигляді збільшення товщини епітелію та власної пластинки, що свідчить про декомпенсацію відновних процесів у слизовій оболонці ясен.

Наявність численних груп мастоцитів у глибоких шарах слизової оболонки, як у фазі дегрануляції, так і в стадії накопичення секреторних гранул, вказує на відновлення місцевої гемодинаміки. Цей процес відбувається за рахунок вивільнення гепарину з секреторних гранул.

Наше дослідження не лише підтверджує негативний вплив харчових добавок на організм, а й демонструє їх комплексний ефект. На відміну від інших досліджень, які зосереджені на впливі окремих речовин, наш експеримент показує наслідки одночасного використання кількох добавок. Це має важливе значення, оскільки більшість харчових продуктів містять комбінації різних добавок. Таким чином, отримані результати є цінними як для фундаментальних досліджень, так і для практичної медицини, оскільки дозволяють простежити часову послідовність змін у тканинах і розробити ефективні підходи до їх корекції.

Перспективи подальших досліджень.

Результати дослідження можуть бути використані в подальших експериментах з харчовими добавками, переважно з іншими типами або їх комбінаціями.

References / Література

1. Mustafina HM, Starchenko II, Koka VM, Lukachina YI, Chernyak VV. Suchasni uyavleniya pro vplyv okremykh kharchovykh dobavok na orhanizm lyudyny. Aktualni problem suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrainyoskoyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi. 2021;21(1):194-198. DOI: <https://doi.org/10.31718/2077-1096.21.1.194-198>. [in Ukrainian].
2. Nedashkivskij SM. Medikamento znozumovleni urazhennya pechinki: principy diagnostiki, patologichni zmini y pidhodi do likuvannya. MNS. 2019;2(97):63-70. [in Ukrainian].
3. Bilash SM, OleksienkoVV, Pronina OM, Koptev MM, Pirog-Zakaznikova AV, Donchenko SV, et al. Remodelling of morphological and functional parameters of the gums and elements of the haemomicrocirculatory bed under the influence of food additives complex. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2024;3(89):199-203. DOI: [10.26724/2079-8334-2024-3-89-199-203](https://doi.org/10.26724/2079-8334-2024-3-89-199-203).
4. Butnariu M, Sarac I. What is sodium glutamate and what effects it has on health. Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering. 2019;6(5):223-6. DOI: [10.15406/jabb.2019.06.00195](https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00195).
5. Food Standards Agency. Approved additives and E numbers; and related content. Wales: Food Standards Agency; 2020. Available from: <https://www.food.gov.uk/business-guidance/approved-additives-and-e-number>.
6. Kozaeva RS, Klymenko MO, Kostenko VO. Lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory response enhances the development of oxidative-nitrosative stress in salivary glands of rats under alcohol damage. Fiziologichniy Zhurnal. 2021;67(6):60-67. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz67.06.060>.
7. Kramer NI, Hoffmans Y, Wu S, Thiel A, Thatcher N, Allen TEH, et al. Characterizing the coverage of critical effects relevant in the safety evaluation of food additives by AOPs. Arch. Toxicol. 2019;93(8):2115-2125. DOI: [10.1007/s00204-019-02501-x](https://doi.org/10.1007/s00204-019-02501-x).
8. US Food and Drug Administration (FDA). Food: Food Ingredients & Packaging. Maryland: US Food and Drug Administration; 2020. Available from: <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging>.
9. Vilas-Boas V, Gijbels E, Jonckheer J, De Waele E, Vinken M. Cholestatic liver injury induced by food additives, dietary supplements and parenteral nutrition. Environment International. 2020;136:105422. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105422>.
10. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. Wiad Lek. 2020;73(10):2127-2132. DOI: [10.36740/WLek202010104](https://doi.org/10.36740/WLek202010104).

РЕМОДЕЛЮВАННЯ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ ЯСЕН ПРИ ДІЇ КОМПЛЕКСУ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК

Олексієнко В. В., Білаш С. М.

Резюме. Сьогодні харчові добавки широко застосовуються в харчовій промисловості, оскільки не лише покращують смакові властивості продуктів, а й продовжують їхній термін зберігання. Водночас їхній негативний вплив часто проявляється лише з часом. Метою цього експерименту було вивчення впливу різних харчових добавок на стан ясен та зміни в їхній структурі. Дослідження проводили на білих щурах, яких розподілили на шість груп: контрольну (що отримувала фізіологічний розчин) і п'ять експериментальних. Останнім вводили суміш, що містила 10% розчин нітриту натрію (E250), глутамат натрію (E621) у дозі 20 мг/кг у 0,5 мл дистильованої води, а також Понсо 4R у дозі 5 мг/кг у 0,5 мл дистильованої води один раз на добу протягом 1, 4, 8, 12 та 16 тижнів. Після завершення експерименту тварин виводили з досліду шляхом передозування тіопенталового наркозу. Гістологічні дослідження проводили відповідно до загальноприйнятих методик. Морфометричний метод використовували для визначення середньої товщини епітеліальної пластинки прикріпленої частини, товщини власної пластинки, а також середньої товщини базального шару ясен щурів. Отримані дані аналізували статистично за допомогою програмного забезпечення Statistica 10, BiostatPro 6 та Microsoft Excel 2019. Дослідження виявило, що поєднання харчових добавок (глутамат натрію, нітрит натрію та Понсеау 4R) спричиняє незворотні порушення гемодинаміки слизової оболонки ясен, що, у свою чергу, призводить до гіпоксичних змін у навколишніх тканинах. Окрім цього, нерівномірне стоншення або потовщення епітеліального шару та власної пластинки, яке супроводжується деструктивними змінами на ультраструктурному рівні та утворенням пристінкових декстринових складів еритроцитів, порушує обмінні процеси в тканинах загалом. Наше дослідження не лише підтверджує негативний вплив харчових добавок на організм, а й демонструє їх комплексний ефект, а отримані результати можуть бути використанні для пошуку шляхів корекції цього впливу.

Ключові слова: ротова порожнина, патологічні зміни, ясна, слизова оболонка, власна пластинка, морфометрія, пародонт, сполучна тканина.

REMODELLING OF MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF THE GUMS UNDER THE INFLUENCE OF FOOD ADDITIVES COMPLEX

Oleksiienko V. V., Bilash S. M.

Abstract. Today, food additives are widely used in the food industry, as they not only improve the taste of products but also extend their shelf life. At the same time, their adverse effects often become apparent only over time. The aim of this experiment was to study the impact of various food additives on gum health and changes in gum structure. The study was conducted on white rats, which were divided into six groups: a control group (receiving saline) and five experimental groups. The latter were injected with a mixture containing a 10% solution of sodium nitrite (E250), monosodium glutamate (E621) at a dose of 20 mg/kg in 0.5 ml of distilled water, and Ponceau 4R at a dose of 5 mg/kg in 0.5 ml of distilled water once daily for 1, 4, 8, 12 and 16 weeks. After completion of the experiment, the animals were withdrawn from the experiment by an overdose of thiopental anaesthesia. Histological studies were performed in accordance with generally accepted methods. The morphometric method was used to determine the average thickness of the epithelial lamina of the attached part, the thickness of the intrinsic lamina, as well as the average thickness of the basal layer of the rat gums. The data obtained were analysed statistically using Statistica 10, BiostatPro 6 and Microsoft Excel 2019 software. The study showed that the combination of food additives (monosodium glutamate, sodium nitrite and Ponceau 4R) causes irreversible disorders of the gingival mucosa's haemodynamics, leading to hypoxic changes in the surrounding tissues. In addition, uneven thinning or thickening of the epithelial layer and the lamina propria, accompanied by destructive changes at the ultrastructural level and the formation of parietal dextrin slides of red blood cells, disrupts metabolic processes in the tissues in general. Our study not only confirms the negative impact of food additives on the body but also demonstrates their complex effect, and the results obtained can be used to find ways to correct this impact.

Key words: oral cavity, pathological changes, gums, mucous membrane, lamina propria, morphometry, periodontium, connective tissue.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Oleksiienko V. V.: <https://orcid.org/0000-0003-1616-8724> ^{ABCDE}

Bilash S. M.: <https://orcid.org/0000-0002-8351-6090> ^{ABCEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Oleksiienko Vladyslav Vitaliyovych / Олексієнко Владислав Віталійович

Poltava State Medical University / Полтавський державний медичний університет

Ukraine, 36011, Poltava, 23 Shevchenko str. / Адреса: Україна, 36011, м. Полтава, вул. Шевченка 23

Tel.: +380678940485 / Тел.: +380678940485

E-mail: vladoleksienko20@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 17.09.2024 / Стаття надійшла 17.09.2024 року

Accepted 27.02.2025 / Стаття прийнята до друку 27.02.2025 року