

Nikolaeva A. V. Влияние алиментарной полифенольной недостаточности на цитоморфологические изменения в слизистой оболочке полости рта крыс = Influence of alimentary deficiency of polyphenol on the cytomorphological changes in the oral cavity mucosa of rats. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(10):221-226. ISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.32798> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%2810%29%3A221-226> <https://pbn.nauka.gov.pl/works/662967>

Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014 <http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.

Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 05.08.2015. Revised 05.09.2015. Accepted: 20.10.2015.

УДК: 616.311:579.23 – 036.632: 599.323.4

UDC: 616.311:579.23 – 036.632: 599.323.4

ВЛИЯНИЕ АЛИМЕНТАРНОЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ПОЛОСТИ РТА КРЫС

INFLUENCE OF ALIMENTARY DEFICIENCY OF POLYPHENOL ON THE CYTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE ORAL CAVITY MUCOSA OF RATS

А. В. Николаева

A. V. Nikolaeva

Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной Академии Медицинских Наук Украины»

SE «The Institute of Stomatology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Реферат

В работе изучено влияние хронической недостаточности растительных полифенолов в рационе питания крыс на морфологические изменения в эпителии слизистой оболочки полости рта. Опыты проведены на 14 белых крысах-самках, которые были помещены в 2 группы по 7 особей в каждой. Крысы 1-й группы (интактные) содержались на стандартном рационе вивария, 2-я группа крыс содержалась на рационе, лишенном алиментарных растительных полифенолов. Длительность эксперимента составила 70 дней. Таким образом, впервые было изучено влияние длительной недостаточности растительных полифенолов в рационе животных на морфологические изменения в эпителии слизистой оболочки полости рта. Хроническое лишение крыс растительной пищи вызвало существенные нарушения в эпителиальном пласте слизистой оболочки щеки.

Ключевые слова: морфологические исследования, эпителиоциты, алиментарная недостаточность растительных полифенолов, слизистая оболочка щеки, белые крысы.

A. V. Nikolaeva

SE «The Institute of Stomatology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

INFLUENCE OF ALIMENTARY DEFICIENCY OF POLYPHENOL ON THE CYTOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE ORAL CAVITY MUCOSA OF RATS

Summary

The Aim of this research was to study the influence of chronic insufficiency of the plant polyphenols in the diet of rats on the morphological changes in the epithelium of the oral mucosa.

Materials and methods. The experiment was conducted on 14 white female rats, which were in 2 groups by 7 animals. The rats of first group (intact) were kept on a standard diet of the vivarium, the second – were kept on a diet devoid of alimentary plant polyphenols. The experiment lasted 70 days.

Results and conclusions. For the first time studied the value of alimentary plant polyphenols to morphofunctional state of the oral mucosa. It is found, that chronic deprivation the rats of the plant food caused significant disorders in epithelial layer - the violation of cell division, cell differentiation, the state of the microvasculature of the buccal mucosa.

Key words: morphological studies, epitheliocytes, chronic insufficiency of the plant polyphenols, buccal mucosa, white rats.

А. В. Николаева

**Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной Академии
Медицинских Наук Украины»**

ВЛИЯНИЕ АЛИМЕНТАРНОЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ПОЛОСТИ РТА КРЫС

От потребления растительной пищи в значительной степени зависит оптимальный уровень резистентности тканей ротовой полости к патогенным агентам (токсиканты, лекарственные ксенобиотики, стрессы), воздействие которых в значительной степени испытывает эпителий слизистой оболочки полости рта.

Полифенолы (ПФ) растительного происхождения (флавоноиды, фенольные кислоты и их производные) относятся к эффективным алиментарным адаптогенам, нормализующим системные и локальные регуляторные процессы. Клеточные и гуморальные регуляторы животных тканей имеют растительные аналоги, большинство из которых содержатся в растениях и являются пищевыми.

Цель исследования – изучение влияния хронической недостаточности растительных полифенолов в рационе экспериментальных животных на морфологические изменения эпителия в слизистой оболочке полости рта крыс.

Материалы и методы. Опыт был проведен на 14 белых крысах-самках по 7 особей в группе. Интактные животные содержались на стандартном рационе вивария. Во 2-й группе крысы содержались на рационе, лишенном растительных компонентов или бесполифенольном рационе (БПР) [1]. Экспериментальный БПР включал: непросеянную пшеничную муку – 30 %, цельный молочный порошок – 30 %, крахмал – 20 %, сахар – 15 %, хлористый натрий - 1%. Из рациона [1] была исключена мука люцерны, как содержащая растительные ПФ. Длительность эксперимента составила 70 дней.

По завершению эксперимента крыс умерщвляли путем тотального кровопускания из сердца под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).

Слизистую оболочку щеки (СОЩ) иссекали, фиксировали в формалине и заключали в парафин. Срезы толщиной 6-8 мкм (тонкие использовали для фотометрии) окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону и

толуидиновым синим [2]. Подсчет митозов эпителиоцитов проводили в базальном и шиповатом слоях слизистой оболочки щеки при увеличении 15×40. Митотический индекс (МИ) вычисляли, исходя из общего количества учтенных клеток (3000) и выражали в процентах. Двухъядерные эпителиоциты определяли в шиповатом слое на ограниченной площади среза при таком же увеличении. Кариометрические исследования клеток шиповатого слоя осуществляли путем зарисовки ядер на листке бумаги с помощью рисовального аппарата при увеличении микроскопа 15×90. Объем ядра рассчитывали по формуле эллипсоида вращения $V = \frac{\pi}{6} \times d^2 \cdot D$, где: D- большой диаметр; d- малый диаметр. Полученные результаты выражали в мкм³, а также десятичных логарифмах для снятия асимметрии распределения, что необходимо для построения кариометрических кривых и статистического анализа. На зарисовках определяли средние межъядерные расстояния, полученные величины переводили в мкм. Последний параметр использовали в качестве критерия оценки размеров клеток [3,4]. Степень эрозирования эпителиального пласта учитывали с помощью шкалы микрометра при увеличении 8x20. Коэффициент эрозии эпителия ($K_{\text{эроз. эпит.}}$) вычисляли по соотношению протяженности: эпителий поврежденный/эпителий исследованный в условных единицах (усл. ед.).

На зарисовках кровеносных сосудов микроциркуляторного русла (МЦР), выполненных при увеличении 15x40, точечным методом определяли удельную площадь стенки кровеносного сосуда с образующими ее клетками и удельную площадь его просвета. По соотношению площадь стенки/площадь просвета рассчитывали коэффициент стеноза сосудов (КСС).

Результаты опытов обрабатывали с помощью критерия t достоверности различий по Стьюденту.

Результаты исследований. Слизистая оболочка щеки интактных крыс имела обычное строение. Многослойный плоский ороговевающий эпителий четко подразделялся на базальный и шиповатый слои клеток, которые переходили в роговой слой. Базалиоциты состояли из клеток двух типов с мелкими удлинёнными ядрами и крупным хроматином и с крупными округлыми светлыми ядрами и менее плотным хроматином. Средняя величина объёма ядра составляла– lg 1,83±0,026 (табл.1).

Таблица 1

Результаты кариометрии и интеркариометрии эпителиоцитов слизистой оболочки щеки крыс (M±m; p)

Группы животных	Базалиоциты	Шиповатые клетки	Средние межклеточные расстояния (мкм)
	Объем ядра в lg (мкм ³)	Объем ядра в lg (мкм ³)	
Интактная	1,83±0,026	2,27±0,028	18,0±0,71
БПР	1,75±0,028 p=0,07	2,09±0,023 p=0,004	13,5±0,54 p=0,003

Примечание. В табл. 1-3 показатель достоверности p рассчитан относительно интактной группы.

Основные классы ядерных объёмов имели размеры: 50-63-79 мкм³ (1 тип базалиоцитов – 70% от общего количества клеток) и 100-126-158 мкм³ (2-ой тип

базалиоцитов – 30%). Сопоставление полученных результатов показало, что основные классы ядерных объёмов базалиоцитов второго типа в 2 раза больше клеток 1-го типа. Шиповатый слой представлен клетками со светлой цитоплазмой и полиморфными светлыми ядрами: средний объём ядер в них – $lg 2,27 \pm 0,028$ мкм³, среднее межъядерное расстояние – $18,0 \pm 0,71$ мкм (табл. 1). В поверхностных рядах шиповатого слоя наблюдалось увеличение зёрен кератогиалина – результат активной кератинизации. Количественные параметры пролиферативных процессов эпителиоцитов таковы: митотический индекс (МИ) составлял $1,5 \pm 0,22\%$, количество двуядерных клеток – $15 \pm 1,1\%$ (табл.2).

Таблица 2

Соотношение количества митозов и двуядерных клеток в эпителии слизистой оболочки щеки крыс ($M \pm m; p$)

Группы животных	Митотический индекс (МИ) (%)	Количество двуядерных клеток (%)
Интактная	$1,5 \pm 0,22$	$15,0 \pm 1,1$
БФР	$0,39 \pm 0,10$ $p=0,01$	$23,0 \pm 1,4$ $p=0,006$

Собственная пластинка слизистой оболочки была представлена волокнистой соединительной тканью, содержащей клетки и межклеточные структуры. Основные встречающиеся виды клеток – фибробласты и гистиоциты. Тучные клетки, плазмоциты, макрофаги и лейкоциты встречались в единичных экземплярах. Слизистая оболочка была обильно васкуляризована. Кровеносные сосуды МЦР имели типичное строение. Объёмная плотность (плотность упаковки) сосудов МЦР составляла $12,8 \pm 0,6\%$ в тест-объёме; коэффициент сохранения просвета сосудов ($K_{спс}$) – $0,57 \pm 0,03$ (табл. 3).

Таблица 3

Состояние кровеносных сосудов микроциркуляторного русла слизистой оболочки щеки крыс ($M \pm m; p$)

Группы животных	Плотность упаковки сосудов (%)	Коэффициент сохранения просвета сосудов $K_{спс}$
Интактная	$12,8 \pm 0,60$	$0,57 \pm 0,03$
БФР	$8,9 \pm 0,50$ $p=0,004$	$0,48 \pm 0,03$ $p=0,07$

В группе крыс, содержащихся на бесполифенольном рационе (БФР), эпителий слизистой оболочки щеки отличался некоторой неоднородностью по толщине. В нём обнаруживались очажки гиперкератоза, паракератоза и акантоза шиповатого слоя. В то же время большая часть эпителиального пласта имела обычное строение и толщину. Папилломатозные структуры в эпителии встречались в виде единичных экземпляров. На границе с ороговевшими клетками возникали небольшие очаги гидропически изменённых эпителиоцитов. Они подвергались деструкции и превращались в пузырьки, однако существенных повреждений эпителия выявлено не было.

Рацион, лишенный растительных полифенолов вызвал на поверхности эпителиального пласта небольшие эрозии рогового слоя. Базалиоциты, подобно таковым у интактных крыс, состояли из двух типов клеток с мелкими и крупными ядрами. Средний объём ядер базалиоцитов снижался в них на 4,4 % ($p = 0,07$), однако соотношение количества типов названных клеток существенно не отличалось от данных интактной группы (табл. 2). Среднее межъядерное расстояние клеток снизилось под действием рациона на 25 % ($p=0,003$), объём ядер шиповатого слоя снизился на 8 % ($p=0,004$; табл. 1).

Под действием рациона резко изменились показатели пролиферативных процессов в слизистой оболочке щеки. Митотическая активность клеток снизилась на 74 % ($p=0,01$) ; количество двуядерных эпителиоцитов при этом увеличилось на 53 % ($p=0,006$) по сравнению с данными интактных групп (табл. 2). 7 % делящихся митозом клеток, имели атипичную форму, ассиметричные митозы.

В соединительной ткани собственной пластинки был умеренно выражен отёк коллагеновых волокон и межклеточного вещества. В кровеносных сосудах МЦР выявлено набухание эндотелиоцитов. Показатели состояния микроциркуляторного русла изменились в сторону уменьшения: $K_{\text{снс}}$ на 16 % (тенденция, $p=0,07$), а плотность упаковки сосудов снизилась на 30 % ($p = 0,004$; табл.3).

Выводы:

Впервые изучено значение алиментарных растительных полифенолов для морфофункционального состояния слизистой оболочки полости рта (СОПР). Установлено, что хроническое лишение крыс растительной пищи вызывало существенные нарушения в эпителиальном пласте слизистой оболочки полости рта. Эти нарушения могут быть сгруппированы следующим образом.

1. Нарушения клеточного деления. Проявлялись трехкратным снижением числа митозов в базальном слое, значительным возрастанием числа двуядерных клеток, т.е. числа незавершенных митозов (прерванных цитокинезов).
2. Нарушения дифференцировки клеток. Проявлялись в шиповатом слое уменьшением объема ядер, появлением очагов дискератоза и акантоза.
3. Нарушения состояния микроциркуляторного русла, которые проявлялись умеренным отеком межклеточных структур, уменьшением плотности упаковки сосудов.

Список литературы:

1. Прохончуков А. А. Руководство по терапевтической стоматологии / А. А. Прохончуков, Н. К. Жижина // Под ред. А. И. Евдокимова. – М.: Медицина, 1967 – 572 с.
2. Меркулов Г. А. Курс патологической техники / Г.А. Меркулов. – Л.: Ленгис, 1969. – 423 с.
3. Ташке К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию / К. Ташке. – Изд. Акад. Соц. Республ. Румынии, 1980. – 191 с.
4. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.

REFERENCES:

1. Prokhonchukov A.A., Zhizhina N.K. *Rukovodstvo po terapevticheskoy stomatologii* [Manual of the therapeutic dentistry], Moscow: Meditsina, 1967, 572 p.
2. Merkulov G. A. *Kurs patologicheskoy tekhniki* [The course of the pathological technology], Leningrad: Lengis, 1969, 423 p.

3. Tashke K. *Vvedenie v kolichestvennuyu tsito-gistologicheskuyu morfologiyu* .[Introduction to the quantitative cyto-histological morphology], Izd. Akad. Sots. Respubl. Rumynii, 1980, 191 p.
4. Avtandilov G. G. *Meditinskaya morfometriya* [Medical morphometry] – Moscow: Meditsina, 1990, 384 p.