

Glazunov A. A., Glazunov A. O., Ozernova M. S. Морфофункциональное состояние слизистой оболочки полости рта крыс под влиянием токсиканта в условиях оптимального и недостаточного поступления алиментарных полифенолов = Morphofunctional state of the oral mucosa of rats under the influence of toxicants in the optimality conditions and insufficient intake of alimentary polyphenols. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(11):427-432. ISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.34276>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%2811%29%3A427-432>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/672925>
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: 25.09.2015. Revised 25.10.2015. Accepted: 24.11.2015.

УДК: 591.4+616.311:616.-092.4+678.746.47

UDC: 591.4+616.311:616.-092.4+678.746.47

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ТОКСИКАНТА В УСЛОВИЯХ ОПТИМАЛЬНОГО И НЕДОСТАТОЧНОГО ПОСТУПЛЕНИЯ АЛИМЕНТАРНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE ORAL MUCOSA OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF TOXICANTS IN THE OPTIMALITY CONDITIONS AND INSUFFICIENT INTAKE OF ALIMENTARY POLYPHENOLS

**Глазунов О. А., Глазунов А. О., Озернова М. С.
Glazunov A. A., Glazunov A. O., Ozernova M. S.**

**Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine,
Major dental of the FPO,
Stomatologic polyclinic number 1 of the Krivoy Rog
Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины,
Кафедра стоматологического ФПО,
Стоматологическая поликлиника № 1 г. Кривой Рог**

Реферат

В опытах на 21 белых крысах изучено влияние перорального введения фторурацила на морфофункциональное состояние слизистой оболочки щеки в условиях диеты вивария и моделировании алиментарной полифенольной недостаточности. Фторурацил в условиях диеты вивария оказывал угнетающее воздействие на митотическую активность эпителиоцитов. Изменения пролиферации частично компенсировались увеличением числа двуядерных клеток. Фторурацил при хронической недостаточности алиментарных полифенолов усиливал в эпителии воспалительно-деструктивные изменения с превалированием деструктивного компонента. В шиповатом слое отмечалось уменьшение размеров клеток и объема их ядер. Воспалительные изменения в собственной пластинке соединительной ткани характеризовались нарастанием отека. Морфологические нарушения более выражены в группе крыс, получавших фторурацил на фоне бесполифенольного рациона.

Ключевые слова: фторурацил, алиментарная полифенольная недостаточность, функциональная активность эпителиоцитов, воспалительно-деструктивные изменения, слизистая оболочка щеки, белые крысы.

Glazunov A. A., Glazunov A. O., Ozernova M. S.

**Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine,
Major dental of the FPO,
Stomatologic polyclinic number 1 of the Krivoy Rog
MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE ORAL MUCOSA OF RATS UNDER THE
INFLUENCE OF TOXICANTS IN THE OPTIMALITY CONDITIONS AND
INSUFFICIENT INTAKE OF ALIMENTARY POLYPHENOLS**

Summary

The Aim of this research was to study assessment of morphofunctional state of the epithelium of the oral mucosa of rats under the action of fluorouracil in a vivarium full diet, as well as in experimental modeling the alimentary polyphenol deficiency

Materials and methods. The study was conducted on 21 th white rat. Intact animals (7) were kept on a standard diet of the vivarium (DV). In group 2 (7) on the background of rats were treated orally with DV 5% solution of the pyrimidine uracil antimetabolite fluorouracil at a dose of 12.5 mg / kg body weight of rats (DV + fluorouracil). Rats of 3 group were kept on the diet without polyphenols (BPR). The experiment lasted 70 days.

Results and conclusions Ftoruratsil in a vivarium diet had a depressing effect on the mitotic activity of epithelial cells. Changes of proliferation were partially offset by an increase in the number of dual-core cells. Fluorouracil in chronic alimentary polyphenol deficiency strengthened in the epithelium of inflammatory and destructive changes to the prevalence of destructive component. The thorny layer was a decrease in cell size and scope of their nuclei. Inflammatory changes in the lamina propria of connective tissue characterized by the increase of edema. Morphological disorders were more expressed in the group of rats treated with fluorouracil on background diet without polyphenols.

Key words: fluorouracil, alimentary polyphenolic insufficiency, functional activity of epithelial cells, inflammatory and destructive changes, buccal mucosa, white rats.

Поддержание нормального физиологического состояния слизистой оболочки полости рта (СОПР) обеспечивается постоянным обновлением активно функционирующего слоя эпителия. К патогенным факторам, оказывающим негативное влияние на СОПР, относятся токсиканты, в т.ч. лекарственные ксенобиотики. Фторурацил – противоопухолевое средство группы антиметаболитов, структурный аналог пиримидина. Он обладает высокой токсичностью. При применении фторурацила могут возникать угнетения кроветворения, язвенный стоматит.

Исследованиями последнего времени установлено, что недостаточное поступление с пищей растительных полифенолов (ПФ) является одной из причин снижения общей неспецифической резистентности организма.

Целью исследования – оценка морфофункционального состояния эпителия слизистой оболочки полости рта крыс при действии фторурацила в условиях полноценного рациона вивария, а также при экспериментальном моделировании алиментарной полифенольной недостаточности.

Материалы и методы. Исследование проведено на 21-й белой крысе линии Вистар стадного разведения. Интактные животные (7 особей) содержались на стандартном рационе вивария (ДВ). Во 2-й группе 7 крыс на фоне ДВ получали

перорально 5 % раствор фторурацила (антиметаболит пиримидина урацила, производства фармацевтической фирмы «Дарница», Украина) в дозе 12,5 мг/кг массы тела крыс (ДВ+ фторурацил). Крысы 3-й группы содержались на бесполифенольном рационе (БПР). Экспериментальный БПР является модификацией рациона, приведенного в работе [1]. Рацион включал: непросеянную пшеничную муку – 30%, цельный молочный порошок - 30 %, крахмал – 20%, сахар – 15%, хлористый натрий – 1 %. Из рациона 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 СОЩ при увеличении 15×40. Митотический индекс (МИ) вычисляли, исходя из общего количества учтенных клеток (3000) и выражали в процентах. Двухядерные эпителиоциты определяли в шиповатом слое на ограниченной площади среза при таком же увеличении. Степень эрозирования эпителиального пласта учитывали с помощью шкалы микрометра при увеличении 8х20. Коэффициент эрозии эпителия (КЭЭ) вычисляли по соотношению протяженности: эпителий поврежденный/эпителий исследованный в условных единицах (усл. ед.).

На зарисовках кровеносных сосудов микроциркуляторного русла (МЦР), выполненных при увеличении 15х40, точечным методом определяли удельную площадь стенки кровеносного сосуда с образующими ее клетками и удельную площадь его просвета.

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

Результаты исследований

Слизистая оболочка щеки (СОЩ) 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– $1g\ 1,83 \pm 0,026$ (табл.1).

Таблица 1

Результаты кариометрии и интеркариометрии эпителиоцитов слизистой оболочки щеки крыс под влиянием фторурацила (%) ($M \pm m$; p; p_1)

Группы животных	Базалиоциты	Шиповатые клетки	Среднее межъядерное расстояние (мкм)
	Объем ядра в $1g$ (мкм ³)	Объем ядра в $1g$ (мкм ³)	
Интактная (ДВ)	$1,83 \pm 0,026$	$2,27 \pm 0,028$	$18,0 \pm 0,71$
ДВ+фторурацил	$1,86 \pm 0,04$	$2,12 \pm 0,024$ p=0,009	$14,1 \pm 0,63$ p=0,01
БПР+ фторурацил	$1,88 \pm 0,024$	$2,03 \pm 0,027$ p=0,002 $p_1=0,05$	$14,1 \pm 0,67$ p=0,01

Примечание. В табл. 1-3 показатель достоверности p рассчитан относительно интактной группы (ДВ); p_1 – относительно группы ДВ+фторурацил.

1 тип базалиоцитов составил 70% от общего количества клеток; 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: 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 под влиянием фторурацила ($M \pm m$; p ; p_1)

Группы животных	МИ, (%)	Количество двуядерных клеток, (%)
Интактная (ДВ)	$1,5 \pm 0,22$	$15,0 \pm 1,1$
ДВ+фторурацил	$0,75 \pm 0,14$ $p=0,04$	$19,0 \pm 1,2$ $p=0,05$
БПР+ фторурацил	$0,64 \pm 0,10$ $p=0,016$	$11,9 \pm 0,9$ $p=0,08$ $p_1=0,006$

Собственная пластинка слизистой оболочки 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

Коэффициенты сохранения просвета кровеносных сосудов МЦР и плотность их упаковки в слизистой оболочке щеки крыс под влиянием фторурацила ($M \pm m$; p ; p_1)

Группы животных	Коэффициент сохранения просвета сосудов ($K_{спс}$)	Плотность упаковки сосудов (%)
Интактная (ДВ)	$0,57 \pm 0,03$	$12,8 \pm 0,6$
ДВ+фторурацил	$0,44 \pm 0,03$ $p=0,03$	$7,3 \pm 0,5$ $p < 0,001$
БПР+ фторурацил	$0,37 \pm 0,015$ $p=0,005$ $p_1=0,08$	$5,2 \pm 0,4$ $p < 0,001$ $p_1=0,02$

В группе крыс, содержащихся на полноценном рационе вивария в сочетании с введением фторурацила (ДВ+фторурацил) в эпителии СОЩ развивался умеренно выраженный гиперкератоз. В базальном слое клеток были выявлены эпителиоциты 2-х типов: с мелкими ядрами и уплотненным хроматином, и клетки с крупными ядрами и более хрупким хроматином. Средний объём ядра эпителиоцитов этого слоя незначительно отличался от данных интактной группы. Соотношение клеток базального слоя 1 и 2 типов заметно изменились – 57 и 43 %, соответственно.

Эпителиоциты шиповатого слоя, напротив, характеризовались уменьшением размеров; среднего межъядерного расстояния на 22 % ($p=0,01$) и объема ядер на 7 % ($p=0,009$; табл.1). Величина МИ уменьшалась на 50 % ($p=0,04$), а количество двуядерных клеток увеличивалось на 27 % ($p=0,05$; табл.2). Патологические формы митозов составляли 7 %. В собственной пластинке слизистой был умеренно выражен отек межклеточных структур. В кровеносных сосудах МЦР наблюдалась отечность их стенки и набухание эндотелиоцитов. Уменьшились структурные показатели МЦР: $K_{СПС}$ снижался на 23 % ($p=0,03$), плотность упаковки сосудов – в 1,8 раза ($p<0,001$; табл.3).

У крыс, содержащихся на БПР в сочетании с фторурацилом (БПР+фторурацил) эпителий СОЩ отличался значительной неоднородностью по толщине. Наиболее типичными патологическими изменениями эпителия являлись очаги гиперкератоза, акантоз шиповатого слоя, уменьшение образования кератогиалина и папилломатозные образования в нем. Обнаруживались крупные очаги клеток с гидропической дистрофией, на их месте формировались пузырьки, приводившие к локальным отслойкам рогового слоя. Характерно было наличие эрозий и афт, иногда глубоких, с обнажением базального слоя клеток. Роговой слой расслаивался и источался в некоторых участках эпителиального пласта. Клетки базального слоя характеризовались полиморфизмом ядер и сравнительно слабой активностью деления. Средняя величина объема ядер достоверно не отличалась от данных интактной группы, однако соотношение количества клеток с мелкими и крупными ядрами изменилось существенно – 44 % и 56 %, соответственно.

По результатам морфометрии в клетках шиповатого слоя среднее межъядерное расстояние уменьшилось на 22 % ($p=0,01$), объем ядер – на 11% ($p=0,002$; табл. 1). Значения величины МИ снижались более существенно (в 2,3 раза ; $p=0,005$) по сравнению с интактной группой. Количество патологических митозов увеличивалось до 13 %. Количество двуядерных клеток снизилось по сравнению с интактной группой на 21 % (тенденция; $p=0,08$; табл.2). Следует отметить, что количество двуядерных клеток в данной группе существенно снижалось также по сравнению с группой крыс, получавших фторурацил на фоне диеты вивария – количество двуядерных клеток снизилось на 37 % ($p_1=0,06$; табл.2). В собственной пластинке воспалительные явления характеризовались увеличением отека ткани. Инфильтраты наблюдали в основном в периваскулярных зонах. Уменьшалось количество лимфоцитоподобных и тучных клеток. Наблюдался отек межклеточного вещества, коллагеновые волокна подвергались набуханию. Показатели $K_{СПС}$ в сосудах МЦР снижались на 35 % ($p=0,005$); плотность упаковки сосудов – на 59 % ($p<0,001$; табл.3) по сравнению с данными интактных групп. Указанные показатели снижались также относительно группы (ДВ+фторурацил): на 16 % (тенденция; $p_1=0,08$) и на 29 % ($p_1=0,02$; табл. 3), соответственно.

Заключение

Фторурацил в условиях полноценного рациона вивария оказывал угнетающее воздействие на митотическую активность эпителиоцитов, появлялись атипичные формы митозов, однако изменения пролиферации частично компенсировались увеличением количества двуядерных клеток.

Фторурацил при хронической недостаточности алиментарных полифенолов в эпителии слизистой оболочки щеки усиливал воспалительно-деструктивные изменения с превалированием деструктивного компонента. Значительно возрастало число патологических митозов. В шиповатом слое отмечалось уменьшение размеров клеток, а также объема их ядер, что свидетельствовало о снижении функциональной активности эпителиоцитов. Воспалительные изменения в собственной пластинке и подслизистой основе характеризовались нарастанием отека.

Таким образом, морфологические нарушения более выражены в группе крыс, получавших фторурацил на фоне бесполифенольного рациона.

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. – 1969. – 423 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.