

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК (616.311.2+616.314.17-008.1-02):599.323.4

А. В. Николаева, к. мед. наукГосударственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»**ВЛИЯНИЕ ФЕНИГИДИНА НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА
КРЫС ПРИ РАЗНОМ УРОВНЕ АЛИМЕНТАРНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ**

В опытах на 26 белых крысах-самцах 1,5-2мес. возраста изучено влияние индуктора воспаления слизистой оболочки полости рта – фенигидина в условиях разного уровня поступления алиментарных полифенолов. Фенигидин в условиях недостаточности полифенолов вызвал в эпителиальном пласте слизистой оболочки щеки снижение митотического индекса на 11 %, количество двуядерных клеток увеличилось в 1,3 раза. В зоне клеточных слоев наблюдались проявления вакуолярной дистрофии.

Ключевые слова: фенигидин, слизистая оболочка полости рта, алиментарная полифенольная недостаточность, митотический индекс, двуядерные клетки, вакуолярная дистрофия.

А. В. НіколаєваДержавна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»**ВПЛИВ ФЕНІГІДИНУ НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ
ПРИ РІЗНОМУ РІВНІ АЛІМЕНТАРНИХ ПОЛІФЕНОЛІВ**

В 20 білих щурах-самцях 1,5-2 міс. віку вивчено вплив індуктору запалення слизової оболонки порожнини рота – фенігидину в умовах різного рівня надходження аліментарних поліфенолів. Фенігидин в умовах недостатності поліфенолів викликав в епітеліальному пласті слизової оболонки щічки зниження митотичного індексу на 11 %, кількість двоядерних клітин збільшувалась у 1,3 рази. В зоні клітинних шарів спостерігались прояви вакулярної дистрофії.

Ключові слова: фенігидин, слизова оболонка порожнини рота, аліментарна поліфенольна недостатність, митотичний індекс, двоядерні клітини, вакуолярні дістрофія.

А. В. NikolaevaState Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”**THE INFLUENCE OF THE PHENIHIDIN ON THE STATE
OF RATS ORAL MUCOSA IN THE CONDITIONS OF DIFFERENT LEVELS OF ALIMENTARY
POLYPHENOLS**

In experiments on 26 white male rats 1,5-2 months old was studied the effect of the inductor of inflammation of the oral mucosa - phenihidin in the conditions of different levels of revenues of alimentary polyphenols. Phenihidin in the conditions of the insufficiency of polyphenols called in the epithelial layer of the buccal mucosa decrease of the mitotic index on 11 %, the number of binucleated cells increased by 1,3 times. In the area of the cell layers were observed manifestations of vacuolar degeneration.

Key words: phenihidin, oral mucosa, alimetarnary polyphenolic insufficiency, mitotic index, binucleated cells, vacuolar degeneration.

Из всех видов покровного эпителия клетки слизистой оболочки полости рта (СОПР) в значительной степени подвержены постоянным повреждающим воздействиям, к которым относят и лекарства-ксенобиотики. Известно, что антиангинальное средство фенигидин вызывает воспалительные явления в СОПР. Противовоспалительная защита СОПР определяется быстрым постоянным обновлением активно функциони-

рующих эпителиоцитов, темп размножения которых весьма высок. Для 80 % делящейся популяции эпителиоцитов СОПР длительность жизни 44-50 часов [1].

Характерной особенностью полифенолов (ПФ) как лигандов-белков является их важная роль для гомеостаза, а недостаточность поступления алиментарных растительных ПФ является

одной из причин снижения общей неспецифической резистентности организма.

Цель исследования. Изучение влияния фенигидина на состояние слизистой оболочки полости рта крыс при разном уровне поступления алиментарных полифенолов.

Материалы и методы. Белые крысы в количестве 26 особей-самцов были взяты в опыт в 1,5-2х-мес. возрасте: 12 крыс содержались на полноценном рационе вивария (ДВ), 14 – на рационе, лишенном растительных компонентов или бесполифенольном рационе (БПР) [2]. Интактные животные в количестве 5 особей содержались на общем рационе вивария (ДВ). Во 2-й группе 7 крыс на фоне ДВ получали *per os* суспензию фенигидина (производного 1,4-дигидропиримидина) в дозе 5 мг/кг массы тела крыс (производства ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Харьков, Украина). Крысы 3-й (7) и 4-й (7) групп содержались на бесполифенольном рационе (БПР) [61]. Рацион включал: пшеничную муку в.с. – 15 %, обезжиренное сухое молоко – 25 %, картофельный крахмал – 35 %, маргарин как источник жиров – 1,2 %, целлюлоза (фильтровальная бумага) – 5 %, смесь солей – 5%, дрожжи сухие как источник витаминов группы В – 1,5 %, витамины А – 20 000 ЕД/1кг и D₂ – 2000 ЕД на 1 кг корма. Крысы 4-й группы получали фенигидин (ФН) *per os* на фоне бесполифенольного рациона (БПР+ФН). После забоя у животных иссекали фрагменты слизистой оболочки щеки (СОЩ), фиксировали в формалине и заключали в парафин. Срезы толщиной около 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, обрабатывали по Эйнарсону [3, 4] и использовали для обзорных морфологических и морфометрических исследований. При малом увеличении микроскопа определяли коэффициент эрозии эпителия (КЭЭ). Для этого измеряли, какую долю составляет зона повреждения относительно всего исследованного эпителия (в усл. ед.). Это позволяло оценивать состояние эпителия в целом. Используя стереометрический метод «полей», определяли процентное соотношение слоев эпителия, состоящих из зоны клеточных слоев (ЗКС) и зоны рогового слоя (ЗРС) [5]. В ростковой зоне эпителия подсчитывали количество клеток с фигурами митоза в базальном и шиповатом слоях. Вычисляли митотический индекс (МИ) – процентное соотношение количества делящихся клеток к общему количеству учтенных клеток ростковой зоны. Подобным способом в слое шиповатых клеток определяли процентное содержание двуядерных клеток (ДК). Для оценки реакции соединительной ткани (СТ) собственной пластинки СОЩ рассчитывали коэффициент стеноза сосудов (КСС). Для этого опре-

деляли, какую часть (в усл. ед.) составляла площадь стенки сосуда микроциркуляторного русла (МЦР) к площади его просвета.

Результаты экспериментов обрабатывали общепринятыми методами с определением критериев достоверности различий по Стьюденту.

Результаты исследований. В группе крыс, получавших *per os* препарат фенигидин на фоне полноценного рациона вивария (ДВ+ФН) были отмечены особенности морфологической картины СОЩ, которая выглядела утолщенной за счет эпителия и собственной пластинки. Так, наблюдалась неоднородность структуры эпителиального слоя. Картина одних слоев эпителиального пласта внешне соответствовала таковой в интактной группе (ДВ), в других слоях встречались участки расслоения и частичного отсутствия рогового слоя. Глубина эрозий эпителия также варьировала в разных местах, но нигде не выходила за пределы зоны ороговения. Показатели КЭЭ в группе крыс, получавших ФН на фоне полноценного рациона вивария увеличивались и превышали в 3 раза ($p=0,03$): $0,18\pm 0,04$ усл.ед.) таковой в интактной группе (ДВ): $0,06\pm 0,01$ усл.ед. В базальном слое структурные компоненты клеточных ядер и цитоплазмы у некоторых клеток выглядели более размытыми и полиморфными, чем у интактных животных. Часть клеток базального слоя имела набухшие ядра и признаки начальной гидropической дистрофии в цитоплазме. Были видны делящиеся клетки в базальном и в шиповатом слоях. Картины митоза в основном типичные, патологические формы встречались редко. В шиповатом слое местами клетки отличались размерами, но находились на одном уровне от базальной мембраны. Встречались скопления укрупненных клеток с частично вакуолизированной цитоплазмой. Ядра таких клеток также увеличены, контуры их нечеткие. Встречались участки эпителия, где клетки были несколько раздвинуты за счет перицеллюлярного отека. Эти морфологические изменения свидетельствовали о появлении в эпителии проявлений очаговой вакуолярной дистрофии. Оценка состояния эпителиального пласта показала, что ЗКС составляла $40,2\pm 1,5$ % и достоверно не отличалась от данных интактной группы: $39,3\pm 1,4$ %. В то же время, показатели ЗРС снижались на 25,6 % ($p=0,03$): $13,1\pm 1,2$ % против $17,6\pm 0,8$ % в интактной группе. Митотическая активность эпителиоцитов существенно не изменялась, процентное содержание ДК имело тенденции к увеличению.

Так, МИ в группе животных, получавших ФН на фоне полноценного рациона вивария, составлял: $1,9\pm 0,04$ % против $1,8\pm 0,03$ в интактной группе. Процентное содержание ДК в группе

ДВ+ФН составило: $16,2 \pm 1,1$ % против $14,1 \pm 0,9$ % в группе интактных крыс.

Собственная пластинка СОЩ выглядела утолщенной. В ней наблюдались узкие соединительнотканые сосочки, вдающиеся в слой эпителия. Они глубоко внедрялись в эпителиальный пласт, некоторые разветвлялись. СТ отечна, что проявилось, в основном, вокруг сосудов и на расстоянии от них. Таким образом, клетки и пучки волокон выглядели разделенными.

Стенки кровеносных сосудов МЦР утолщены за счет набухания присутствующих здесь клеток, однако значительной иммиграции клеток крови выявлено не было. Явных проявлений воспалительной реакции не наблюдалось. Внутренний просвет сосудов выглядел расширенным, что согласовалось со значениями КСС ($p=0,02$): $1,50 \pm 0,36$ усл.ед. против $3,10 \pm 0,32$ усл. ед. в интактной группе.

Таким образом, наблюдаемое внешне утолщение СОЩ обусловлено выраженной отеком её собственной пластинки, разрастанием ее сосочков, вдающихся в эпителий, и, частично, за счет самого эпителия, где основным фактором его утолщения является гидропическая дистрофия эпителиоцитов.

В дальнейших исследованиях в группе крыс, которые перорально получали суспензию ФН на фоне бесполифенольного рациона, изменения морфологической картины СОЩ носили более выраженный характер. Так, в эпителиальном пласте были видны участки расслоения и эрозии в зоне ороговевающих слоев. Часть эрозий захватывали ростковую зону, однако полного десквамирования эпителиального пласта при этом не наблюдалось. На этом фоне рост КЭЭ в группе БПР+ФН вырос на 33,3 %: $0,24 \pm 0,05$ усл.ед. по сравнению с группой ДВ+ФН: $0,18 \pm 0,04$ %. Процентное содержание ЗКС в условиях бесполифенольного рациона существенно не изменялось: $38,9 \pm 1,4$ % по сравнению с группой ДВ+ФН: $40,2 \pm 1,50$ %. Показатели ЗРС снижались на 4,6 %: $12,5 \pm 1,1$ % относительно группы ДВ+ФН: $13,1 \pm 1,2$ %. Среди клеток этой зоны значительно чаще наблюдались проявления вакуолярной дистрофии. Многие клетки были увеличены в размерах, имели мелкие плотные ядра, резко просветленную цитоплазму (отдельные вакуоли сливались вместе). Чаще встречались и

проявления перицеллюлярного отека. Одновременно с этим, постоянно наблюдались клетки с хорошо сохранившейся структурой, в т.ч. и двуядерные.

Под влиянием ФН и рациона, лишённого растительных ПФ, процентное содержание делящихся клеток в ростковой зоне (МИ) снижалось на 15,8 % ($p_1 < 0,001$): $1,6 \pm 0,05$ % по сравнению с данными группы ДВ+ФН: $1,9 \pm 0,04$ %, а также относительно интактной группы (ДВ) на 11 % ($p=0,02$): $1,8 \pm 0,03$ %. Патологические формы митозов практически не встречались. Процентное содержание ДК увеличивалось на 13 %: $18,3 \pm 1,3$ % по сравнению с группой ДВ+ФН: $16,2 \pm 1,1$ % и на 30 % ($p=0,04$) относительно интактной группы: $14,1 \pm 0,9$ %.

Собственная пластинка СОЩ выглядела утолщенной за счет более выраженной отеком. Сохранялась общая морфологическая картина, описанная в предыдущей группе (ДВ+ФН). При этом КСС имел тенденцию к увеличению: $1,8 \pm 0,42$ усл.ед. по сравнению с группой ДВ+ФН: $1,5 \pm 0,36$ усл.ед.

Таким образом, отсутствие выраженных изменений размера ростковой зоны связано с противоположно направленными процессами, отмеченными выше: снижение митотической активности клеток с одной стороны, с другой – с ростом размеров клеток этой зоны за счет вакуолярной дистрофии и увеличения количества двуядерных клеток.

Список литературы

1. **Hamilton A. I.** Cell renewal of oral mucosal epithelium of the rat / A. Hamilton, H. Blackwood // J. Anat. – 1974. – Vol. 117. – №2. – P. 313-327.
2. **Прохончуков А. А.** Руководство по терапевтической стоматологии / А. А. Прохончуков, Н. К. Жижина // Под ред. А. И. Евдокимова. – Москва : Медицина., 1967. – 572с.
3. **Пирс Э.** Гистохимия / Э. Пирс – Москва : ИЛ., 1962. – 962 с.
4. **Автандилов Г. Г.** Медицинская морфометрия. Руководство / Г. Г. Автандилов – Москва: Медицина, 1990. – 384 с.
5. **Wiseman S.** Tea flavonoids: Bioavailability in vivo and effects on cell signaling pathways in vitro / Wiseman S., Mulder T., Reitveld A. // Antioxidants & Redox signaling. – 2001. – Vol. 3. – №6. – P. 1009-1021.

Поступила 30.03.15

