

УДК: 616.311.2 – 002.2

Н. В. Гасюк*, Т.Н. Мошель, И.Ю. Попович

ОСОБЕННОСТИ КАЧЕСТВЕННОЙ И КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ В УСЛОВИЯХ НИКОТИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

* ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины», г. Тернополь, Украина

ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

Актуальность исследования

Чрезвычайный научный и практический интерес на сегодняшний день вызывают особенности перестройки клеточного состава буккального эпителия у лиц молодого возраста в условиях воздействия на слизистую оболочку полости рта ряда экзогенных факторов. Особая актуальность изучения состояния слизистой оболочки полости рта у курящих людей обусловлена медико-социальной значимостью данной проблемы. В настоящее время курение является массовой социальной и психоэмоциональной проблемой, распространенной как среди мужчин, так и среди женщин. Поэтому во многих странах мира ведется активная борьба с курением в рамках проекта ВОЗ [3].

В настоящее время в литературе подробно описаны изменения твердых тканей зубов, слюнных желез, пародонта при табакокурении [5;8;9]. Однако слизистая оболочка полости рта, в силу своих анатомо-топографических особенностей, первая подвергается воздействию вредной привычки. Различные компоненты, входящие в состав табачного дыма, негативно влияют на ее строение, функции и рассматриваются рядом авторов [1;10;11] как важные этиологические факторы предраковых состояний слизистой оболочки с последующей малигнизацией [4;6;7]. При этом начальные морфофункциональные нарушения, приводящие в дальнейшем к заболеваниям, до настоящего времени не изучены.

В частности, нет данных об особенностях дифференцировки и кератинизации различных типов эпителия слизистой оболочки, его функциональных нарушениях и сути патологического процесса, развивающегося на фоне вредной привычки. Знание вышеуказанных параметров даст возможность оценки ранних изменений, выявления резервных возможностей и компенсаторных механизмов слизистой полости рта к воздействию табакокурения. Это поможет решить задачу первичной профилактики заболеваний данной анатомической локализации, актуальность которой обусловлена чрезвычайно низким процентом лиц, отказывающихся от курения даже после индивидуального информирования о неблагоприятном состоянии слизистой полости рта [1;12].

Целью исследования было определение цитологических критериев, которые дают возмож-

ность прогнозировать возникновение и течение воспалительных процессов слизистой оболочки полости рта и тканей пародонта.

Материалы и методы

Нами проведены цитологические исследования буккального эпителия у лиц молодого возраста, имеющих вредную привычку курения. Материалом для исследования служил буккальный эпителий, забранный у 25 лиц мужского пола молодого возраста. Основным критерием отбора среди данного контингента служило наличие курения, длительность которого не превышала 1 – 3 лет, а также отсутствие сопутствующей соматической патологии. Эпителий забирали шпателем с последующим переносом на предметное стекло и высушиванием на открытом воздухе в течение 3-5 минут. Окраску материала проводили по Гимзе-Романовскому с последующим микроскопическим и морфологическим анализом с учетом процентного соотношения различных форм эпителиоцитов в норме.

Статистические методы исследования выполнены в отделе статистических исследований ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». Параметрические методы применяли для показателей, распределение которых отвечало требованиям нормальности. Для оценки характера распределения определяли коэффициент асимметрии и эксцесс. Проверку нормальности проводили по тесту асимметрии Шапиро-Уилка. Достоверность различий полученных результатов для различных групп определяли при помощи t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при общепринятой в медико-биологических исследованиях вероятности ошибки $p < 0,05$. Вероятность ошибки оценивали по критерию Стьюдента с учетом размера экспериментальных групп. В случаях, когда закон распределения статистически достоверно отличался от нормального, рассчитывали непараметрический критерий (U) Манна-Уитни как непараметрический аналог t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение.

Клеточный состав цитограмм щеки курящих лиц при окраске по Гимзе-Романовскому представлен парабазальными ($2,5 \pm 0,15$), промежуточными ($91,1 \pm 2,13$) и поверхностными клетками

($4,2 \pm 0,22$), а также роговыми чешуйками ($2,2 \pm 0,11$).

Отмечено достоверное уменьшение количества роговых чешуек. Вероятным отличием, в сравнении с цитограммами идентичной анатомической области лиц контрольной группы, является наличие парабазальных эпителиоцитов. Данные клетки в цитограммах лиц обследованного контингента имеют как округлую, так и овальную форму, сравнительно небольшие размеры. Отмечается смещение ядерно-цитоплазматического соотношения в сторону ядра. Цитоплазма клеток характеризуется базофилией и образует удлинненные участки. Ядро везикулярное, с мелко рассеянным хроматином (рис. 1).

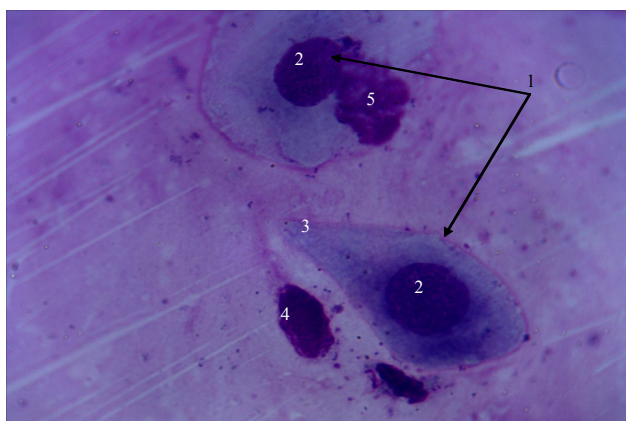


Рис. 1. Цитограмма щеки. Окраска: по Гимзе-Романовскому. Увеличение: $\times 400$.

1 – парабазальные эпителиоциты; 2 – ядра эпителиоцитов; 3 – удлинненные фрагменты цитоплазмы; 4 – голое ядро промежуточной клетки; 5 – лизированный лейкоцит

Для промежуточных клеток характерна стереотипность строения относительно данного класса клеток в норме. Обращает особое внимание повышенная контаминация промежуточных эпителиоцитов микроорганизмами, преимущественно стрептококками и одиночными клетками грибов рода *Candida*. По нашему мнению, это связано с усилением гликолитических процессов в клетках, инициированных воздействием никотина, поскольку результаты исследования, полученные путем цитохимической идентификации, и приведенные в предыдущих работах показывают наличие гликогена в промежуточных эпителиоцитах в норме. Расположение промежуточных эпителиоцитов сгруппированное.

Обращает на себя внимание наличие в цитограммах лейкоцитов. При этом их количественный и качественный состав существенно отличается от идентичного в норме. Визуализируются как нейтрофилы, способные к фагоцитозу, так и лейкоциты с частично или полностью лизированной цитоплазмой. В фагоцитарно-активных нейтрофилах нарушена четкость контуров плазмолеммы, ядра плотные, гиперхромные. Перемычки, дифференцирующие сегменты, не визуализируются. После фагоцитирования чужеродных частиц нейтрофилы погибают, высвобождая при этом большое количество биологически активных веществ, которые повреждают бактерии и грибы,

при этом инициируя воспаление и хемотаксис иммунных клеток на слизистой оболочке полости рта (рис. 2).

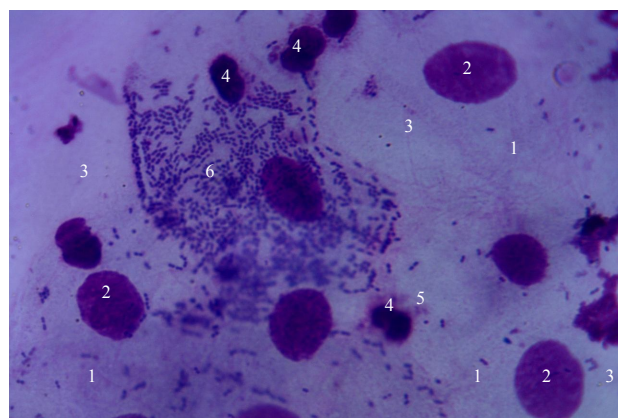


Рис. 2. Цитограмма щеки. Окраска: по Гимзе-Романовскому. Увеличение: $\times 400$.

1 – промежуточные эпителиоциты; 2 – ядра эпителиоцитов; 3 – цитоплазма; 4 – ядра сегментоядерных лейкоцитов; 5 – нарушение контуров плазмолеммы нейтрофилов; 6 – контаминация кокковой флорой эпителиальной клетки

Поверхностные клетки характеризуется большими размерами цитоплазмы на фоне пикнотически измененного мелкого ядра, окруженного светлым перинуклеарным пространством.

Качественные изменения эпителиоцитов проявляются в уменьшении количества эозинофильных гранул и эозинофильных структур в цитоплазме промежуточных и поверхностных клеток. В периепителиальном пространстве определяются сегментоядерные лейкоциты, часть которых имеет четко сегментированные ядра, другие же пребывают в состоянии лизиса (рис. 3).

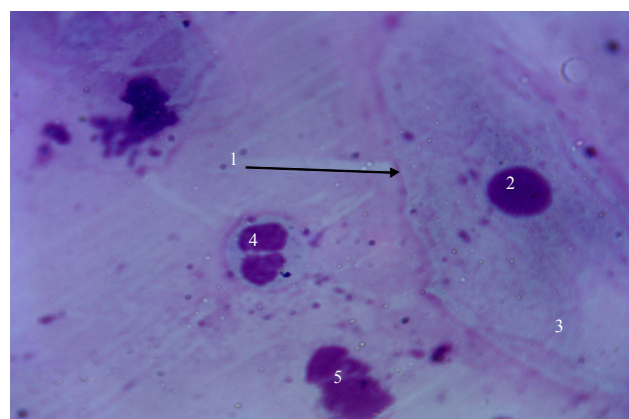


Рис. 3. Цитограмма щеки. Окраска: по Гимзе-Романовскому. Увеличение: $\times 400$.

1 – поверхностный эпителиоцит; 2 – ядро; 3 – цитоплазма; 4 – разграниченные сегменты ядра лейкоцита; 5 – лизированный сегментоядерный лейкоцит

Кроме того, определяются промежуточные клетки плазмолеммы, не имеющие четких контуров, а в цитоплазме видны мелкие многочисленные вакуоли. Максимальное размещение вакуолей перинуклеарно, однако наблюдается тенденция к распространению в направлении полюсов

клетки. Данные цитоспецифические изменения дают возможность утверждать о наличии в клетке дистрофических нарушений в виде вакуольной дистрофии. Клетки с вакуолизированной цитоплазмой окружены сегментоядерными лейкоцитами различного функционального состояния (рис.4).

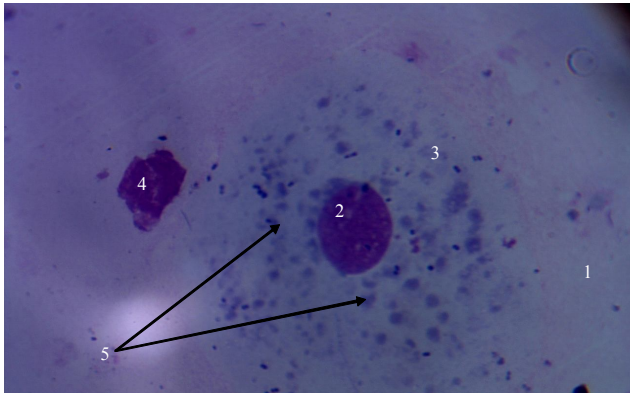


Рис. 4. Цитограмма щеки. Окраска: по Гимзе-Романовскому. Увеличение: $\times 400$.

1 – промежуточный эпителиоцит; 2 – ядро; 3 – цитоплазма;
4 – лизированный сегментоядерный лейкоцит;
5 – многочисленные вакуоли

Роговые чешуйки в цитограммах немногочисленные, с имеющимися элементами цитопатологии, которые проявляются в потере четкости геометрической принадлежности, контуров плазмолеммы и формировании ее многочисленных узур (рис.5).

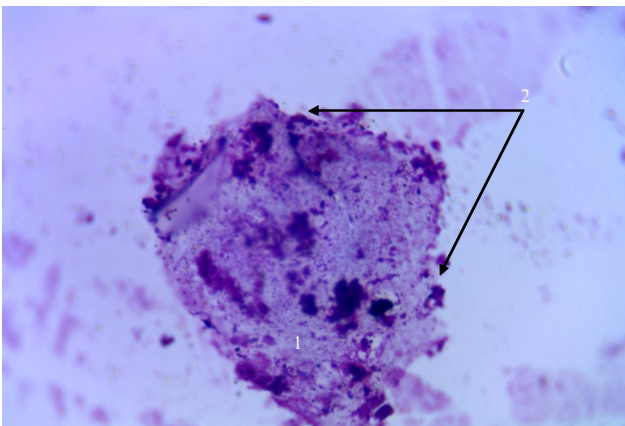


Рис. 5. Цитограмма щеки. Окраска: по Гимзе-Романовскому. Увеличение: $\times 400$.

1 – роговая чешуйка; 2 – узурация контуров роговой чешуйки

В процессе изучения клеточного состава цитограмм нами определено процентное соотношение различных классов эпителиоцитов для лиц обследованного контингента: $2,5 \pm 0,15$; $91,1 \pm 2,13$; $4,2 \pm 0,22$; $2,2 \pm 0,11$.

Полученные данные не совпадают как с процентным соотношением буккальных эпителиоцитов в норме [2], так и с установленным нами процентным соотношением дифференциации многослойного плоского эпителия щеки у лиц мужского пола молодого возраста в норме.

Описанный нами тип цитограмм соответствует цитоморфологической картине хронического катарального воспаления – типичного патологического процесса, который возникает в случае по-

вреждения буккального эпителия травматическими агентами, в конкретном случае никотин - комплексное термическое и химическое воздействие. В условиях воздействия никотина на буккальные эпителиоциты нам удалось наблюдать как качественные, так и количественные изменения клеточного состава.

Количественные изменения проявляются нарушением процентного соотношения эпителиальных клеток в виде достоверного уменьшения количества роговых чешуек и появления парабазальных эпителиоцитов, в сравнении с контрольной группой. Качественные изменения сопровождаются уменьшением количества эозинофильных гранул и эозинофильных структур в клетках промежуточного и поверхностного слоев, появлением среди эпителиоцитов клеток с вакуолизированной цитоплазмой и узурированными контурами плазмолеммы.

Выводы.

Выявленные нами особенности цитологической перестройки слизистой оболочки полости рта дают возможность изучения их роли в патогенезе воспалительных и предопухолевых процессов данной анатомической локализации и служат теоретическим основанием для оптимизации алгоритмов обследования больных и определения критериев возникновения патологических процессов у здоровых лиц.

Перспективы дальнейших исследований - рассмотреть патогенетические механизмы цитотрансформации эпителия слизистой оболочки полости рта у курящих пациентов.

Литература

1. Ахаладзе Н.Г. Биологический возраст в оценке эффективности оздоровительных мероприятий / Н.Г. Ахаладзе // Проблемы старения и долголетия. – 1999. – № 3. – С. 291-296.
2. Быков В.Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта / В.Л. Быков // Стоматология. – 1997. – № 3. – С. 12 – 17.
3. Вартоян Ф. Е. ВОЗ и борьба с курением в мире: стратегии и тенденции / Ф. Е. Вартоян, К. П. Шаховский // Наркология. – 2003. – № 4. – С. 2-4.
4. Гасюк Н.В. Оптимизация диагностического процесса дерматозов из аутоиммунным компонентом с помощью морфометрических методов исследования : методические рекомендации / Н.В. Гасюк. – К., 2014. – 26с.
5. Латышева С.В. Состояние полости рта у курящих / С.В. Латышева, Н.А. Застенчик, Я.П. Астапенко // Здравоохранение. – 1998. – № 2. – С. 28-29.
6. Bagan J.V. Proliferative verrucous leukoplakia: high incidence of gingival squamous cell carcinoma / J.V. Bagan // Oral Pathol. Med. – 2003. – № 32 (7). – P. 379-382.
7. Bornstein M.M. Oral leukoplakia. A retrospective study of clinical and histological data / M.M. Bornstein // Schweiz Monatsschr Zahnmed. – 2004. – № 114 (7). – P. 680-686.
8. Lova R.M. Morphologic changes in the microcirculation induced by chronic smoking habit: a

- videocapillaroscopic study on the human labial mucosa / R.M. Lova // *Am. Heart. J.* – 2002. – № 143 (4) – P. 658-662 .
9. Mirbod S.M. Tobacco-associated lesions of the oral cavity: Part I. Nonmalignant lesions / S.M. Mirbod, S.I. Ahing // *Can. Dent. Assoc.* – 2000. – № 66 (5). – P. 58-62.
10. Schwartz J.L. Oral cytology assessment by flow cytometry of DNA adducts, aneuploidy, proliferation and apoptosis shows differences between smokers and non-smokers / J.L. Schwartz // *Oral Oncol.* – 2003. – № 39 (8). – P. 842-854.
11. Sethi P. Oral exfoliative cytology of smokers at discrete clinical stages using AgNOR staining / P. Sethi, P.M. Shah // *Mutat. Res.* – 2004. – № 11. – P. 15-21.
12. Tai Y.S. Oral administration of milk from cows immunized with human intestinal bacteria leads to significant improvements of symptoms and signs in patients with oral submucous fibrosis / Y.S. Tai // *Oral Pathol. Med.* – 2001. – № 30 (10). – P. 618-25.

**Стаття надійшла
1.02.2016 р.**

Резюме

Приведены результаты комплексного цитологического исследования, касающиеся количественных и качественных изменений буккального эпителия в условиях никотиновой интоксикации. Полученные результаты касательно цитоспецифичности количественных характеристик дают возможность определить изменения процентного соотношения эпителиальных клеток в виде достоверного уменьшения количества роговых чешуек и появления парабазальных эпителиоцитов, в сравнении с контрольной группой. Качественные изменения характеризуются уменьшением количества эозинофильных гранул и эозинофильных структур в клетках промежуточного и поверхностного слоев, появлением среди эпителиоцитов клеток с вакуолизированной цитоплазмой и узурированными контурами плазмолеммы.

Ключевые слова: эпителий, клетки, ядро, ороговение, цитоплазма.

Резюме

Наведені результати комплексного цитологічного дослідження, що стосуються кількісних і якісних змін буккального епітелію в умовах нікотинної інтоксикації. Отримані результати щодо цитоспецифічності кількісних характеристик дають можливість визначити зміни процентного співвідношення епітеліальних клітин у вигляді достовірного зменшення кількості рогових лусочок і появи парабазальних епітеліоцитів, у порівнянні з контрольною групою. Якісні зміни характеризуються зменшенням кількості еозинофільних гранул і еозинофільних структур у клітинах проміжного і поверхневого шарів, появою серед епітеліоцитів клітин із вакуолізованою цитоплазмою й узурованими контурами плазмолемми.

Ключові слова: епітелій, клітини, ядро, зроговіння, цитоплазма.

UDC 616.311.2 – 002.2

THE FEATURES OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE RECONSTRUCTION OF BUCCAL EPITHELIUM CELLULAR COMPOSITION IN A NICOTINE INTOXICATION

N.V. Gasiuk, T.N. Moshel', I.Yu. Popovich

"I. Horbachevsky Ternopil State Medical University", Ternopil

HSEE Ukraine "Ukrainian medical stomatological academy", Poltava

Summary

To determine the cytological criteria that allow prediction of occurrence and course of inflammation of the oral mucosa and periodontal tissues, we performed cytological study of buccal epithelium of young people who have the habit - smoking.

Material for the study was buccal epithelium taken from 25 young men. The main criterion for selection among this group has served the presence of adverse habits - smoking, duration of which does not exceed the period of 1 - 3 years, and the absence of concomitant somatic pathology.

The epithelium was taken with a spatula and then transferred to a glass slide with subsequent drying in the open access of air for 3-5 minutes. Colouring of the material was carried out by Romanovskii- Himza, followed by microscopic and morphological analysis, taking into account the percentage of various forms of normal epithelial cells.

In exploring the cellular composition of cytogram, we defined the following percentage of epithelial cells for different classes of persons of surveyed contingent, and it is - 2,5 ± 0,15; 91,1 ± 2,13; 4,2 ± 0,22; 2,2 ± 0,11.

These data significantly differ from that of the percentage of normal buccal epithelium [2] and from the values we specified regarding value of epithelial cells of cheek in young men in normal condition.

Described by us type of cytogram corresponds to cyto-morphological picture of chronic catarrhal inflammation - typical pathological process that occurs due to injure of the buccal epithelium by traumatic agents in case of nicotine - complex thermal and chemical effects. In terms of the impact of nicotine on the buccal epithelial cells, we were able to observe both qualitative and quantitative changes in the cell structure.

Quantitative changes occur as a violation of the percentage of epithelial cells with a significant reduction in

the number of horny scales compared with the control group, and the emergence of parabasal epithelial cells. Qualitative changes are accompanied by a reduction of eosinophilic granules and eosinophilic structures in the cells of the intermediate and surface layers, emergence of epithelial cells with vacuolated cytoplasm and irregular contours of plasmolemma.

The obtained results regarding the cyto-specificity of quantitative characteristics make it possible to determine the percentage changes in epithelial cells as a significant reduction in the number of horny scales compared with the control group, and the emergence of parabasal epithelial cells. Qualitative changes have a reduced number of eosinophilic granules and eosinophilic structures in the cells of the intermediate and surface layers, the appearance of epithelial cells with vacuolised cytoplasm and irregular plasmolemma contours.

In the result, the features of reconstruction of the cellular composition of the oral mucosa were received. Study of pathogenic mechanisms of inflammatory and precancerous processes in specified anatomical localization and serve as the theoretical basis for optimization of patient's examination algorithms and determining the criteria of pathological processes emergence in healthy individuals were made.

Key words: epithelium cells, the nucleus, keratinization, cytoplasm.