**Н. Ю. Смелянова**

ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої
НАМН України», м. Харків

Прояви клітинних аномалій епітелію ясен у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень у поєднанні з ішемічною хворобою серця

Вступ. Один із пріоритетних напрямів сучасної стоматології – вивчення патологічних змін у порожнині рота, що виникають у пацієнтів зі соматичними хворобами, а саме, з хронічним обструктивним захворюванням легень (ХОЗЛ) [4, 8].

Під ХОЗЛ розуміють наростання порушення функції зовнішнього дихання, спричинене запальною реакцією легеневої тканини на подразнення різними патогенними агентами і газами [7]. Велика поширеність і приріст захворюваності на ХОЗЛ, інвалідизація осіб працездатного віку та важкість прогнозу робить цю хворобу однією з актуальних проблем клінічної пульмонології, як у світі, так і в Україні. В останні роки широко обговорюються механізми тісної асоціації ХОЗЛ зі серцево-судинними захворюваннями, а саме, ішемічною хворобою серця (ІХС), поєднання яких трапляється більш ніж у 55,0 % випадків [3].

Як ХОЗЛ, так й ІХС супроводжуються виникненням системної гіпоксії, яка додатково до наявних метаболічних порушень дефіциту кисню в тканинах пародонта пригнічує регенераторні та репаративні процеси [1, 6, 10]. Наростання загальної інтоксикації організму за наявності ХОЗЛ та ІХС, а також патогенетичне лікування, яке призначають хворим, не може не впливати на стан тканин пародонта. Отже, патологічні процеси в порожнині рота й зазначені соматичні хвороби з подібною етіологією можуть мати взаємно обтяжувальний вплив [9].

Для ранньої діагностики уражень тканин порожнини рота дуже часто застосовується експліативна цитологія. Результати клінічних і експериментальних досліджень свідчать, що за допомогою досить простих неінвазивних методів експліативної цитології можна з'ясувати вплив різноманітних системних та зовнішніх чинників на параметри клітин і клітинних структур за наявності різних патологічних станів

у яснах [2, 5]. До найбільш інформативних свідчень, які можуть виявлятися за відсутності видимих клінічних змін слизової оболонки порожнини рота (СОПР), слід віднести різноманітні клітинні аномалії, що виникають унаслідок генетичних або метаболічних (дегенеративних) порушень. Маніфестними проявами клітинних аномалій вважають наявність мікроядер, бінуклеарність, каріорексис, каріолізис, пікноз, конденсацію хроматину, протрузії (ефект «розбитого яйця», пухирець та ін.), вакуолізацію та гало (койлоцитоз).

Незважаючи на значну кількість публікацій, присвячених діагностиці та лікуванню захворювань пародонта у хворих як на ХОЗЛ, так і на ІХС, стан епітелію ясен у них не вивчено. Тому вказані вище типи аномалій клітин стали предметом нашого дослідження.

Мета дослідження. З'ясувати частоту й характер патологічних змін ядра епітеліоцитів ясен у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень у поєднанні з ішемічною хворобою серця.

Матеріали й методи дослідження. З метою визначення стоматологічного статусу оглянуто 239 пацієнтів віком від 45 до 65 років (157 чоловіків і 82 жінки), які перебували на амбулаторному та стаціонарному лікуванні у відділі кардіопульмонології в ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України».

Усіх пацієнтів залежно від основного захворювання поділено на групи: основна група – 130 хворих із діагнозом ХОЗЛ у поєднанні з ІХС, група порівняння № 1 – 38 пацієнтів із діагнозом ХОЗЛ та група порівняння № 2 – 71 пацієнт із діагнозом ІХС. Група контролю була представлена 20 соматично здоровими особами, репрезентативними за статтю і віком (рис. 1).

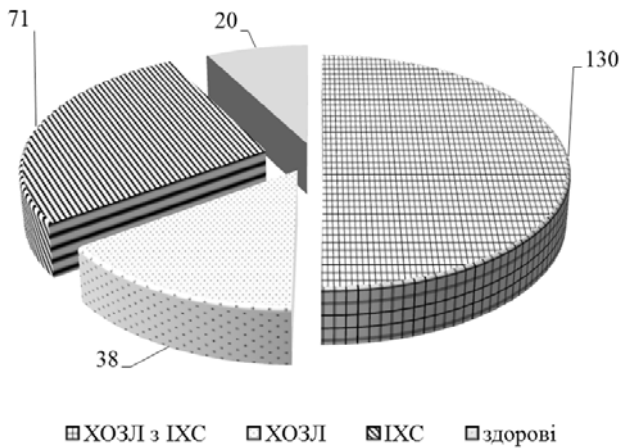


Рис. 1. Поділ обстежених пацієнтів на групи.

Критеріями виключення з дослідження були загострення ХОЗЛ, хронічна серцева недостатність ІV функціонального класу, гостра серцева недостатність, важкі порушення серцевого ритму, гормональні порушення функції щитоподібної залози, туберкульоз у анамнезі, вади розвитку легень, бронхіальна астма, інсулінозалежний цукровий діабет, активні запальні процеси в ротовій порожнині.

Цитологічні й морфометричні дослідження проводили на зскрібках епітелію ясен. Після ополіскування порожнини рота фізіологічним розчином кінчиком стерильного стоматологічного шпателя з легким натисканням зскрібали вміст поверхневого шару епітелію прикріплених ясен та перенесли його на предметне скло. Мазки висушували впродовж 2-3 хвилин за умови відкритого доступу повітря. Цитологічні препарати фарбували за Г. Папаніколау та переглядали на світловому мікроскопі Micgos (Австрія). Для отримання фотографій клітин використовували цифрову відеокамеру САМ 2800 (об'єктив x40, окуляр x10). Частоту клітин із аномаліями визначали в перерахунку на 1000 клітин (рис. 2).

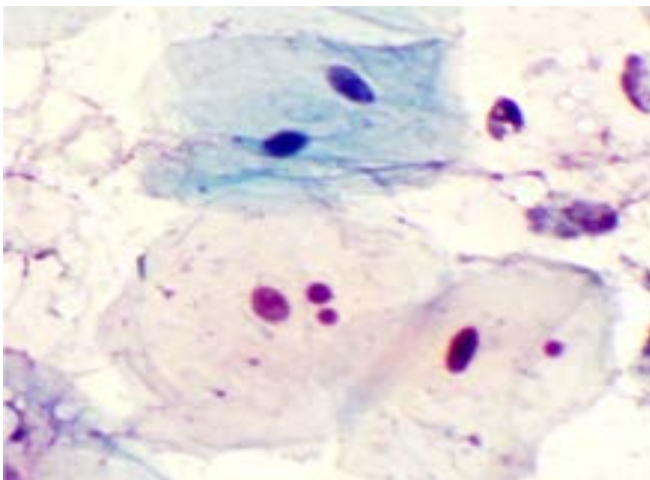


Рис. 2. Мікрофотографія цитограми зі зскрібка епітелію ясен хворого. Визначається епітеліальна клітина з мікроядрами. Забарвлення за Г. Папаніколау. $\times 400$.

Для диференціації та правильного тлумачення ядерних аномалій клітин застосовували ДНК-специфічне фарбування, зокрема акридин. Препарат вважали придатним для вивчення лише в тому випадку, якщо клітини розташовувалися в один шар. Для аналізу мікроядер брали клітини, що були окремими, із безперервним гладеньким краєм ядра. Мікроядерність ідентифікували як хроматинове тіло округлої чи овальної форми з безперервним гладеньким краєм, розміром не більш ніж третина ядра, окремо від ядра, не заломлює світло та має інтенсивність зафарбовування, малюнок хроматину як в основного ядра і міститься з ним в одній площині. Протруїї ядра найчастіше мали вигляд «розбитого яйця» за типом мікроядра, що поєднується з ядром містком із нуклеоплазми.

Статистичне опрацювання проводили за допомогою комп'ютерних програм SPSS-13. Порівняння кількісних показників здійснювали за критерієм Г. Б. Манна – Д. Р. Вітні.

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз результатів дослідження показав, що у всіх пацієнтів із соматичними хворобами наявні виражені морфологічні зміни епітеліальних клітин, а саме: збільшена кількість клітин, що не мали ядра, та клітин із великими нерівномірно забарвленими ядрами, тоді як ядра клітин епітелію соматично здорових донорів були невеликими і компактними. Середня частота клітин із мікроядрами у зскрібках з епітелію ясен осіб контрольної групи становила 2,00 (1,25, 3,00), що не перевищувало середньопопуляційних значень. Отримані нами середні показники частоти клітин із зазначеними патологічними змінами у соматично здорових осіб збігаються з раніше опублікованими результатами досліджень стосовно рівнів мікроядер у клітинах епітелію (частота епітеліоцитів із мікроядрами для різних популяцій варіює від 0 до 9 на 1000 клітин за відсутності хвороби або впливу низки шкідливих чинників).

У хворих на ХОЗЛ у поєднанні з ІХС (основна група) цей показник зріс найбільше (більш ніж у 1,5 разу порівняно з групою контролю), що, очевидно, зумовлюється не тільки виникненням патологічних процесів, а ще й порушенням апоптозу. Як основні чинники формування мікроядер розглядають зміну мітозного розподілу за несприятливих умов, багатополосний мітоз і втрату частини генетичного матеріалу.

Крім цього, пацієнти основної групи й групи порівняння № 1 (із ХОЗЛ) мали підвищену кількість двоядерних клітин, що більш ніж удвічі перевищувало цей показник не тільки порівняно з контролем, а й із групою № 2 (див. таблицю).

Двоядерність, або бінуклеарність, є поширеною ознакою дегенеративних змін епітелію і характеризується тим, що два ядра містяться в одній окремій клітині за відсутності мікроядер. Ця зміна, очевидно, не зумовлена ушкодженням ядра, а виникає внаслідок ушкодження мембран (пероксидації ліпідів клітинних мембран) і втрати клітинами здатності до цитокінезу, тобто відображає певний енергетичний дефіцит (рис. 3).

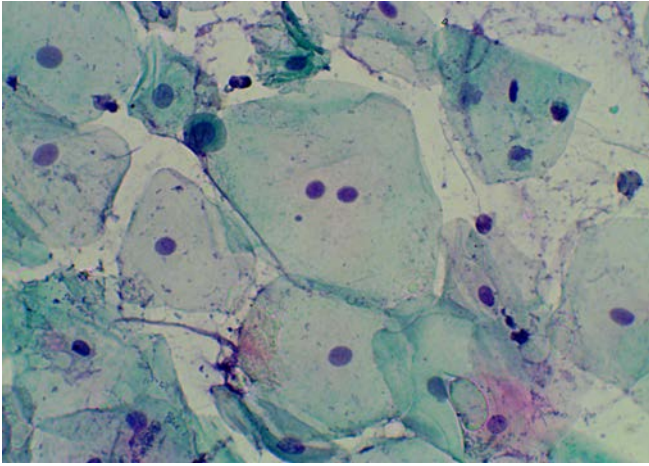


Рис. 3. Мікрофотографія цитограми зі зскрібка епітелію ясен хворого. Визначається двоядерна епітеліальна клітина в проміжному шарі слизової оболонки ясен. Забарвлення за Г. Папаніколау. $\times 400$.

Показником генетичних порушень у інтерфазних ядрах може бути кількість наявних протрузій. Протрузія у вигляді «розбитого яйця» представлена мікроядром, що зв'язане з основним ядром містком із нуклеоплазми. Механізм, що призводить до виникнення порушень за типом «розбите яйце» чи «пухирців», не зовсім з'ясований, але, очевидно, він зумовлений елімінацією ампліфікованої ДНК або її залишків (рис. 4).

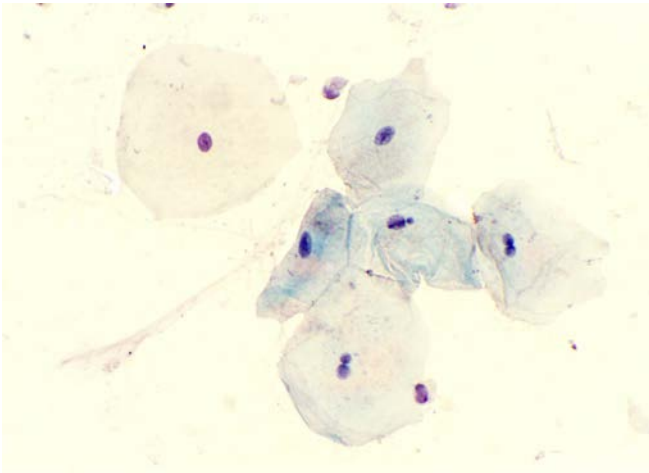


Рис. 4. Мікрофотографія цитограми зі зскрібка епітелію ясен хворого. Визначається епітеліальна клітина з протрузіями за типом «розбите яйце». Забарвлення за Г. Папаніколау. $\times 400$.

Найвищий показник протрузій ядра також був властивий хворим основної групи, частота якого у хворих на ХОЗЛ із ІХС суттєво зростала й перевищувала контрольні показники більш ніж у 9 разів ($p < 0,001$) (див. таблицю).

Крім клітинних аномалій генетичної природи у хворих усіх груп, за винятком групи контролю, в епітелії ясен відзначалися виражені дегенеративні зміни, що виявляються пікнозом ядер, порушенням цілісності ядерної мембрани, каріорексисом і каріолізісом. Зазначені зміни, найімовірніше, спричинені запален-

ням, проте вони можуть бути й наслідком впливу лікарських засобів, які вживають пацієнти з приводу основної хвороби. За наявності ХОЗЛ у поєднанні з ІХС зростає частота таких проявів запально-деструктивного процесу в епітелії, як каріорексис (дезінтеграція ядра, викликана агрегацією хроматину) та каріолізіс (часткове або повне розчинення ядра).

Каріорексис – дегенеративні зміни ядра в клітині, що супроводжуються розпадом його на окремі інтенсивно забарвлені частини з гомогенною структурою, які після лізису каріолеми потрапляють у цитоплазму й піддаються розсмоктуванню. Морфологічно каріорексис є клітиною з декількома великими або численними дрібними пофарбованими фрагментами ядра в цитоплазмі.

Каріолізіс – дегенеративні зміни ядра в клітині, що супроводжуються втратою здатності до фарбування хроматину з подальшим повним його зникненням. Морфологічно – це клітина з гомогенним забарвленням ядра і нечіткою каріолемою, що руйнується (рання стадія каріолізісу) або клітина з повною відсутністю забарвлення ядра, коли на тлі пофарбованої цитоплазми вона має вигляд тіні (повна стадія каріолізісу).

Як бачимо з таблиці, в усіх досліджуваних групах, окрім групи соматично здорових пацієнтів, спостерігалася вірогідне збільшення дегенеративних аномалій ядра.

Частота клітин із аномаліями в епітелії ясен обстежених пацієнтів

Показники	Групи	Частота клітин із аномаліями (в перерахунку на 1 000 клітин); p
1	2	3
Мікроядра	Контроль	2,00 (1,25; 3,00)
	Основна група	3,00 (2,00; 4,00) $p = 0,001$, $p_1 = 0,02$, $p_2 = 0,001$
	Група порівняння 1	3,00 (2,00; 3,75)
	Група порівняння 2	2,00 (2,00; 3,00)
Бінуклеари	Контроль	2,00 (2,00; 3,00)
	Основна група	6,00 (5,00; 7,00) $p = 0,001$, $p_2 = 0,001$
	Група порівняння 1	6,00 (5,00; 7,00) $p = 0,001$
	Група порівняння 2	3,00 (2,00; 3,00)
Протрузії (за типом «розбите яйце», «пухирців»)	Контроль	1,00 (0,00; 1,00)
	Основна група	9,00 (8,00; 11,00) $p = 0,001$, $p_1 = 0,001$, $p_2 = 0,001$
	Група порівняння 1	7,00 (6,00; 8,00) $p = 0,001$
	Група порівняння 2	1,00 (1,00; 2,00)

Закінчення табл.

1	2	3
Каріорексис	Контроль	4,00 (4,00; 5,00)
	Основна група	11,00 (9,75; 12,00) $p = 0,001, p_2 = 0,001$
	Група порівняння 1	11,00 (9,00; 12,00) $p = 0,001$
	Група порівняння 2	6,00 (5,00; 7,00) $p = 0,001$
Каріолізіс	Контроль	20,50 (18,00; 24,00)
	Основна група	33,00 (29,00; 36,00) $p = 0,001$
	Група порівняння 1	32,00 (28,75; 37,00) $p = 0,001$
	Група порівняння 2	33,00 (29,00; 38,00) $p = 0,001$
Вакуолізація	Контроль	9,00 (7,25; 10,75)
	Основна група	26,00 (24,00; 27,00) $p = 0,001, p_1 = 0,02, p_2 = 0,001$
	Група порівняння 1	21,00 (19,00; 23,00) $p = 0,001$
	Група порівняння 2	16,00 (14,00; 19,00) $p = 0,001$

Примітки: p – рівень значущості вірогідної різниці порівняно з контролем; p_1 і p_2 – рівень значущості вірогідної різниці порівняно з групами № 1 і № 2.

За наявності ХОЗЛ, а також ІХС до цього може призвести наявність гіпоксії, порушення мікроциркуляції та проникності судин, посилення пероксидного окиснення ліпідів. Найімовірніше, зазначені вище порушення зумовлюють і зростання в епітелії хворих кількості клітин з посиленою вакуолізацією, що є ознакою ранньої деструкції клітин, зокрема, деструктивних змін клітинних мембран, зниження їх бар'єрної і транспортної функцій (рис. 5).

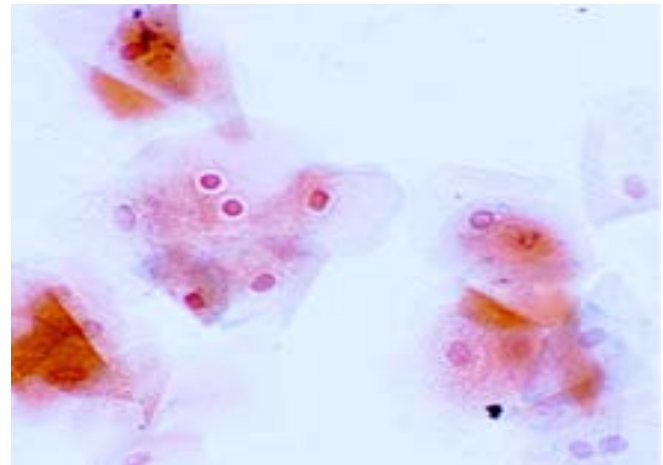


Рис. 5. Мікрофотографія цитограми зі зскрібка епітелію ясен. Визначається скупчення епітеліоцитів поверхневого шару ясен із наявністю перинуклеарного гало та з ознаками вакуолізації. Забарвлення за Г. Папаніколау. $\times 400$.

У разі різко вираженої вакуолізації цитоплазма може зберігатися тільки в периферійних відділах клітини, утворюючи перинуклеарне гало (навколо-ядерна зона просвітлення, сформована за рахунок дегенеративних змін і некрозу зруйнованих цитоплазматичних органел).

Висновки. Результати проведеного дослідження свідчать про те, що найбільш виражені зміни ядра клітин притаманні хворим із поєднаними бронхокардіальними хворобами (або з коморбідними бронхолегеневими ураженнями). Внутрішньоклітинна реорганізація епітелію ясен у обстежених хворих має стереотипні прояви, характерні для хронічного запалення. Таким чином, можна говорити про генотоксичний вплив соматичного захворювання або його лікування на прояви клітинних аномалій епітелію ясен у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень у поєднанні з ішемічною хворобою серця.

Список літератури

1. Ван дер Бийль П. Взаимосвязь заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой системы. Проблемы стоматологии. 2014;6:4–8 (Van der Biel P. Interrelation of periodontal diseases and cardiovascular system. Problems of Stomatology. 2014;6:4-8).
2. Григорьян АС, Рабухина НА, Грудянов АИ, Фролова ОА. Проблемы диагностики ранних фаз воспалительных заболеваний пародонта. Новое в стоматологии. 2001;8:3–8 (Grigoryan AS, Rabukhina NA, Grudyanov AI, Frolova OA. Problems of diagnostics of early phases of inflammatory periodontal diseases. New in Dentistry. 2001; 8:3-8).
3. Гуревич МА, Долгова ЕВ, Кузьменко НА. Хронические обструктивные заболевания легких, артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца: особенности патогенеза, клинической картины, терапии. Русский медицинский журнал. 2016;16:1098–1102 (Gurevich MA, Dolgova EV, Kuzmenko NA. Chronic obstructive pulmonary diseases, arterial hypertension and ischemic heart disease: features of pathogenesis, clinical picture, therapy. Russian Medical Journal. 2016;16:1098-1102).
4. Исмоилов АА, Амуров ГГ. Результаты оценки состояния тканей пародонта у больных с общесоматической патологией. Научно-практический журнал ТИППМК. 2012;4:4–12 (Ismoilov AA, Amurov GG. Results of the evaluation of the condition of periodontal tissues in patients with obscheomatic pathology. Scientific and Practical Journal of IPGEMS. 2012;4:4-12).
5. Первов ЮЮ, Гурбанов КР, Болотная ВН, Попова КМ, Игнатъев СА, Погорелый ВВ. Цитологические показатели как оценка состояния тканей пародонта у протезирующихся больных с сахарным диабетом. Фундаментальные исследования. 2007;11:68–69 (Pervov YuYu, Gurbanov KR, Bolotnaya VN, Popova KM, Ignatiev SA, Pogorely VV).

- Cytological indicators as an assessment of the condition of periodontal tissues in prosthetic patients with diabetes mellitus. *Fundamental research*. 2007;11:68-69).
6. Романенко ИГ, Полещук ОЮ, Каладзе КН. Состояние гигиены полости рта и тканей пародонта у детей с хроническим генерализованным катаральным гингивитом на фоне бронхиальной астмы. *Вісник проблем біології та медицини*. 2014;2(2):121–125 (Romanenko IG, Poleshchuk OYu, Kaladze KN. The state of hygiene of the oral cavity and periodontal tissues in children with chronic generalized catarrhal gingivitis on the background of bronchial asthma. *News of problems of biology and medicine*. 2014;2(2):121-125).
 7. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (GOLD): Updated 2016. 80 p.
 8. Shen TC, Chang PY, Lin CL, Chen CH, Tu CY et al. Risk of periodontal diseases in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a nationwide population-based cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(46):e2047. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002047>
 9. Tonetti MS, Van Dyke TE. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol*. 2013;84 (4 Suppl):24-29. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12089>
 10. Zeng XT, Tu ML, Liu DY, Zheng D, Zhang J, Leng W. Periodontal disease and risk of chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis of observational studies. *PLoS One*. 2012;7:46508. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046508>

Стаття надійшла до редакції журналу 12 червня 2017 р.

Прояви клітинних аномалій епітелію ясен у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень у поєднанні з ішемічною хворобою серця

Н. Ю. Ємельянова

Вступ. Один із пріоритетних напрямів сучасної стоматології – вивчення патологічних змін у порожнині рота, що виникають у пацієнтів зі соматичними хворобами, а саме, з хронічним обструктивним захворюванням легень (ХОЗЛ) та ішемічною хворобою серця (ІХС), поєднання яких трапляється більш ніж у 55,0 % випадків.

Мета. Дослідити частоту й характер патологічних змін ядра епітеліоцитів ясен у хворих на ХОЗЛ у поєднанні з ІХС.

Матеріали й методи. Визначення стоматологічного статусу проведено у 239 пацієнтів віком від 45 до 65 років (157 чоловіків і 82 жінки), які хворіли на ХОЗЛ у поєднанні з ІХС, тільки ХОЗЛ чи тільки ІХС і перебували на амбулаторному та стаціонарному лікуванні у відділі кардіопульмонології в ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України». Цитологічні й морфометричні дослідження проводили на зскрібках епітелію ясен.

Результати. З'ясовано, що у всіх пацієнтів відзначалася підвищена кількість клітин, які не мали ядра, і клітин з великими нерівномірно забарвленими ядрами. Доведено, що найбільш виражені маніфестні прояви клітинних аномалій (мікроядра, бінуклеарність, каріорексис, каріолізис, протрузії та вакуолізація) властиві саме для групи з коморбідними бронхо-кардіальними ураженнями (ХОЗЛ у поєднанні з ІХС).

Висновки. Внутрішньоклітинна реорганізація епітелію ясен у хворих на ХОЗЛ у поєднанні з ІХС має стереотипні прояви, характерні для хронічного запалення.

Ключові слова: хронічне обструктивне захворювання легень, ішемічна хвороба серця, пародонт, слизова оболонка порожнини рота, епітеліоцит.

Manifestations of Cellular Anomalies of Gingival Epithelium in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Diseases Combined with Coronary Heart Disease

N. Emelyanova

Introduction. The priority of modern dentistry is a constant research of pathological changes in oral cavity occurring in patients with (COPD). Today under COPD we understand the growing abuse of lung function that caused lung tissue inflammatory response to stimulation by various agents. We know that more than 55.0 % of COPD cases are comorbid with coronary heart disease (CHD). COPD and CHD are accompanied by the emergence of systemic hypoxia, which in addition to the existing metabolic disorders of oxygen deficiency in periodontal tissues depresses regeneration and reparative processes. Results of clinical studies suggest that fairly simple methods of

non-invasive exfoliative cytology allow us to determine the impact of various systems and external factors on the parameters of cells and cellular structures in the presence of various states of gums pathology. Both diseases have direct effect on periodontal tissue manifesting in cell anomalies such as micronucleus, binuclear cells, karioreksis, kariolisis, protrusion, vacuolization, and halo (coylocytosis).

Aim. To find out the frequency and nature of epithelial cell nucleus in patients with COPD comorbid with CHD.

Materials and methods. We examined 239 patients aged 45 to 65 years (157 men and 82 women) with verified diagnosis of COPD and CHD. They were divided into groups depending on the underlying disease: the main group - 130 patients with COPD comorbid with CHD, comparison group N 1 - 38 patients with COPD, and comparison group N 2 - 71 patients diagnosed with CHD. Cytology was performed on the gingival epithelium scrapes using light microscope. Also we used digital videocamera CAM 2800 with light microscopy to take photos of cells. Abnormal cells rate was determined in 1/1000 terms. Statistical analysis was performed with "SPSS 13" computer.

Results. All patients with somatic disorders have significant morphological changes of epithelial cells, increased number of non-nuclear cells, and cells with large nuclei evenly colored. At the same time the nucleus of epithelial cells from healthy donors were small and compact. Patients of the main group showed the highest level with micronuclei cells determined pathological processes and violation of apoptosis. In addition, patients of the main group and the comparison group number 1 had more than 2 times higher rate of binuclear cells in comparison with the control group, and also with group of patients with coronary artery disease. The highest rate of core protrusions was also inherent in the study group, which frequency in patients with COPD increased significantly and exceeded targets by more than 9 times. COPD and CHD may contribute to the presence of hypoxia, microcirculatory disorders and vascular permeability, increased lipid peroxidation. Most likely is the probability of rise above violations and growth in the epithelium of patients with increased number of cells vacuolization, which is a sign of an early destruction of cells, including destructive changes of cell membranes, reducing their barrier and transport functions.

Conclusions. Results of the study indicate that the most significant changes of cells nucleus were found in patients with comorbid broncho-cardiac pathology and display stereotypical features of chronic inflammation. Thus, we can draw a conclusion about genotoxic impact of physical illness or its treatment of the manifestations of epithelial cell abnormalities on the patients with COPD comorbid with coronary artery disease.

Keywords: Chronic obstructive pulmonary disease, coronary heart disease, periodontal, oral mucosa, epithelial cells.