

УДК 616.316.5-003.93-02:616.364-003.7]-092.9

© Н. О. ТВЕРДОХЛІБ

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

Морфометрична характеристика слизової оболонки порожнини рота при механічній жовтяниці

N. O. TVERDOKHLIB

SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky"

MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF ORAL CAVITY MUCOSA MEMBRANE IN OBSTRUCTIVE JAUNDICE

У статті наведено дані морфометричних змін структур слизової оболонки губ, щоки та ясен при різних термінах експериментальної механічної жовтяниці. Встановлено, що при довготривалих жовтяницях настають атрофічні зміни слизової оболонки, які найбільш виражені в ділянці ясен.

The article presents the morphometric changes data of the mucous membrane of the lips, cheeks and gums structures at different stages of the experimental obstructive jaundice. The atrophic changes of the mucosa, which are the most pronounced in the area of the gums occur in the long-term jaundice was established.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Слизова оболонка порожнини рота і губ є чутливим індикатором оцінки патологічних процесів шлунково-кишкового тракту, імунного статусу, загального рівня активності та проліферації клітинних систем [2, 8, 9]. Це зумовлено тим, що слизова оболонка порожнини рота суттєво відрізняється від інших слизових оболонок за морфологічними та гістохімічними ознаками [3, 5]. Для її епітелію характерною є провідна роль в реалізації захисних механізмів, до яких відносять високу ферментативну активність, наявність у незроговілому епітелії великої кількості глікогену, високу інтенсивність обмінних процесів і його здатність до швидких перебудов [6]. При патології органів травлення, залежно від глибини ураження того чи іншого органа, настають морфологічні зміни слизової оболонки всіх відділів порожнини рота [7].

Стан слизової оболонки порожнини рота вивчається при патології шлунка, кишки, комбінованих ураженнях. Проте серед захворювань органів травлення велика частка належить хворобам печінки та жовчних шляхів, з яких 80,67 % становить патологія жовчних шляхів та жовчнокам'яна хвороба [4]. Враховуючи високі цифрові величини поширеності та захворюваності жовчних шляхів, які супроводжуються механічною жовтяницею, важливе значення має дослідження морфологічного стану сли-

зової оболонки порожнини рота в динаміці різних термінів механічної жовтяниці в експерименті. Основними патогенетичними ланками поліорганного ураження при холемії, спричиненій обтураційним холестазом, є порушення мікроциркуляції та проникності стінок елементів мікросудин, а також токсичні ендogenous впливи на клітини та їхні біологічні мембрани, спричинені альтеративними впливами порушень вільнорадикальних процесів окиснення. Важливим є і те, що при механічній жовтяниці в комплексі із гідрофільними реакціями відбувається утворення периваскулярних лімфоїдноклітинних інфільтратів, наслідком яких є дегенеративно-дистрофічні і некротичні зміни тканин вогнищового типу, запальні реакції з розвитком продуктивних інтерстиціальних процесів [1, 4].

Мета роботи: встановити морфологічні та морфометричні зміни різних відділів слизової оболонки порожнини рота в динаміці експериментальної механічної жовтяниці.

Матеріали і методи. Експериментальні дослідження проведено на 56 білих щурах-самцях. Контрольну групу склали 12 інтактних тварин. Механічну жовтяницю моделювали шляхом перев'язування та перерізання між двома лігатурами спільної жовчної протоки. Морфометричне дослідження слизової оболонки порожнини рота проводили на 3-тню, 7-му, 14-ту, 28-му добу експериментальної механіч-

ної жовтяниці. Евтаназію щурів здійснювали кровопусканням в умовах тіопенталового наркозу. Усі втручання проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Вирізані шматочки слизової оболонки щоки у верхньощелепній зоні, нижньої губи та альвеолярного відростка верхньої щелепи фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну і після проведення через етилові спирти зростаючих концентрацій поміщали в парафін. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, за ван Гізон, за Вейгертом. Проводили гістологічне та морфометричне дослідження слизової оболонки вказаних відділів порожнини рота. При проведенні світлооптичних досліджень використовували мікроскопи МБД-15, "SEO SCAN" та фотодокументували за допомогою відеокамери "Vision CCD Camera". Морфометрію тканини слизової оболонки проводили на комп'ютерних зображеннях гістологічних мікропрепаратів. При морфометричному дослідженні вимірювали товщину слизової оболонки, товщину епітеліального шару слизової оболонки, товщину власної пластинки та базальної мембрани, визначали питому вагу пошкоджених епітеліоцитів остеоподібного шару, відносний об'єм капілярів. Вміст білірубіну у плазмі крові експериментальних тварин проводили загальними біохімічними методами.

Отримані кількісні величини обробляли статистично за допомогою ліцензованої програми "Statistica 6,0" (StatSoft, США) на персональному комп'ютері IBM. Достовірність різниці між порівнюваними показниками встановлювали за критерієм Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

Комплексним аналізом гістологічних, морфологічних та морфометричних досліджень встановлено особливості будови слизової оболонки порожнини рота в інтактних дослідних білих щурів та в динаміці різних термінів експериментального моделювання обтураційного холестазу. Слизова оболонка порожнини рота у ділянці губ, щоки має типову будову і вкрита багатшаровим плоским незроговілим епітелієм. У ділянці ясен поверхневі епітеліальні клітини проявляють схильність до зроговіння. Слід відмітити, що товщина слизової оболонки у різних відділах не є однаковою. У ділянці щоки її розміри є найбільшими і становлять $(462,35 \pm 6,25)$ мкм, переважаючи на 7,94 % аналогічні параметри у ділянці губи та на 23,20 % товщину слизової оболонки ясен (табл. 1). Основний об'єм слизової оболонки належить епітеліальному шару клітин, який у ділянці щоки займає 67,25 %, губи – 68,46 % та 73,34 % в ділянці ясен.

Функціональний стан епітеліоцитів у різних епітеліальних шарах не однаковий, на що вказують параметри розмірів ядер і цитоплазми у базальних, шипуватих, плоских чи зернистих клітинах.

Таблиця 1. Морфометрична характеристика слизової оболонки різних відділів порожнини рота при механічній жовтяниці

Досліджуваний параметр	Ділянка дослідження	Контроль	Тривалість механічної жовтяниці			
			3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Товщина слизової оболонки, мкм	Губа	428,23±4,62	441,54±3,01 *	387,09±5,72 ***	341,74±5,39 ***	324,57±7,21***
	Щока	462,35±6,25	478,04±5,13	421,45±6,08 ***	365,18±8,72 ***	329,61±6,54***
	Ясна	375,02±3,16	391,20±4,21*	336,02±6,35 ***	302,49±7,39 ***	274,32±8,05***
Товщина епітеліального шару, мкм	Губа	293,14±3,75	296,39±5,49	240,06±4,73 ***	223,72±6,28 ***	212,28±6,51***
	Щока	308,05±4,12	321,63±3,07*	259,71±6,85 ***	236,15±8,53 ***	215,71±7,42***
	Ясна	275,94±3,58	283,58±4,81	227,06±7,29 ***	210,19±6,40 ***	189,38±5,99***
Товщина власної пластинки, мкм	Губа	122,41±2,46	131,95±2,38 *	135,74±2,64 *	108,36±3,27 **	101,09±3,81***
	Щока	139,26±3,65	146,09±2,97	152,83±3,71 *	114,99±3,92 **	103,64±3,75***
	Ясна	91,67±2,41	97,85±2,59	99,03±2,36	84,15±2,17 *	78,05±2,69 **
Товщина базальної мембрани, мкм	Губа	10,27±0,07	10,42±0,08	10,02±0,06 *	9,64±0,07 ***	9,46±0,08 ***
	Щока	10,32±0,08	10,54±0,09	10,08±0,07	9,68±0,06 *	9,39±0,07 ***
	Ясна	8,49±0,06	9,06±0,07 **	8,12±0,06 **	7,73±0,08 ***	7,68±0,11 ***
Питома вага пошкоджених епітеліоцитів остеоподібного шару, %	Губа	6,83±0,12	8,75±0,14 ***	12,34±0,42 ***	18,21±0,73 ***	25,24±1,05 ***
	Щока	5,97±0,16	8,12±0,23 ***	10,52±0,58 ***	17,64±1,15 ***	23,19±1,36 ***
	Ясна	8,41±0,27	11,52±0,48 ***	15,60±1,07 ***	21,32±1,42 ***	29,65±1,89***
Відносний об'єм капілярів, %	Губа	6,22±0,13	5,74±0,12 *	5,02±0,15 ***	4,37±0,14 ***	3,86±0,17 ***
	Щока	5,48±0,14	5,14±0,16	4,89±0,13 ***	4,21±0,16 ***	3,92±0,14 ***
	Ясна	6,84±0,16	5,81±0,17 **	4,76±0,14 ***	4,05±0,21 ***	3,68±0,23 ***

Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з контрольними величинами, отриманими в інтактних тварин.

Епітеліальний пласт клітин розташовується на базальній мембрані, яка чітко візуалізується у всіх відділах і має помірно звивистий хід. Товщина базальної мембрани залежить від топографічної локалізації слизової оболонки порожнини рота і є найтоншою у ділянці ясен. Власна пластинка слизової оболонки представлена сполучнотканинними елементами, серед яких проходять складові гемо- та лімфомікроциркуляторного русла, а також міститься невелика кількість лімфоцитів і гістіоцитів. Найбільшою щільністю капілярного русла характеризується слизова оболонка ясен та губ.

Експериментальне відтворення обтураційного холестазу призвело до швидкого зростання рівня холестерину. Вже на третю добу змодельованої механічної жовтяниці спостерігали підвищення рівня загального білірубину в плазмі крові експериментальних тварин до $(87,05 \pm 1,24)$ мкмоль/л. Першою ланкою слизової оболонки порожнини рота, що зазнавала альтеративного впливу холестерину, було гемомікроциркуляторне русло, яке у артеріальній частині реагувало констрикторними явищами за рахунок складових базального тону та розширення просвіту капілярів і венул. Внаслідок підвищення проникності судинних стінок у власній пластинці та підслизовій основі у ділянці щік та губ розвивалися ознаки набряку та лімфоцитарної інфільтрації (рис. 1). Часто серед клітин інфільтрату зустрічались лейкоцити. Товщина слизової оболонки у ділянці губ збільшувалася на 3,03 %, щік – на 3,46 % та ясен – на 4,26 %. Зміна товщини слизової оболонки відбувалася в основному за рахунок набряку, розширення власної пластинки, як це відмічалось у ділянці губи, де товщина власної пластинки була більшою контролю на 7,37 % ($p < 0,05$), а в ділянці ясен на 6,59 %. І лише у ділянці щоки по-

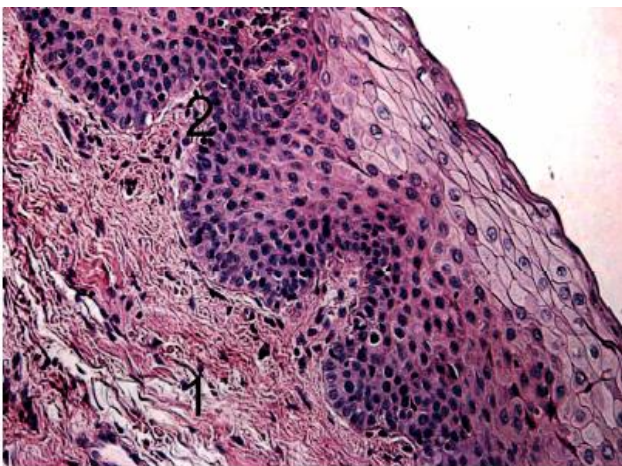


Рис. 1. Слизова оболонка губи на 3-тю добу механічної жовтяниці. 1 – набряк власної пластинки слизової оболонки; 2 – згладження сосочкового виступу власної пластинки. Забарвлення гематоксиліном та еозиним. $\times 400$.

товщення слизової оболонки мало місце за рахунок збільшення товщини епітеліального шару ($p < 0,05$). Базальна мембрана слизової оболонки губ та щоки помірно реагувала на тридобову холемію, і лише у слизовій ясен розширювалася та достовірно переважала контрольні величини ($p < 0,01$). Спричинений жовтяницею токсико-холемічний фактор порушував процеси оновлення епітеліального шару, внаслідок чого в шарі шипуватих клітин кількість ушкоджених епітеліоцитів збільшувалася на 28,11 % у слизовій оболонці губи та у 1,36 раза в слизовій оболонці щоки та ясен. У власній пластинці зменшувалася питома вага кровоносного русла, і найбільше дані процеси були виражені в слизовій оболонці ясен ($p < 0,01$).

У міру збільшення терміну механічної жовтяниці морфологічні та структурні зміни слизової оболонки порожнини рота у всіх ділянках приймали виражений характер і вже на 7-му добу експерименту визначалися стійкими адаптаційно-компенсаторними механізмами. У даний термін холестазу рівень білірубінемії зростав до $(182,23 \pm 2,59)$ мкмоль/л. У власній пластинці та підслизовій основі поряд із ознаками гідратації збільшувалися клітинні інфільтрати, серед яких визначали багато лейкоцитів, а також гістіоцити. Загалом спостерігалися різнонаправлені процеси у складових слизової оболонки, які сприяли зменшенню розмірів її товщини не тільки порівняно з тридобовою механічною жовтяницею, але і з контролем. Товщина власної пластинки збільшувалася із темпом приросту в ділянці губи на 2,87 %, щоки – 4,61 %, ясен – 1,23 %. Товщина епітеліального шару, навпаки, зменшувалася і у всіх досліджуваних ділянках була достовірно меншою від контролю. Аналогічні закономірності виявлялися у базальній мембрані, які найбільше вираженими були у ділянці ясен ($p < 0,01$). Загалом слизова оболонка була тоншою контрольних величин у ділянці губ на 9,58 %, щоки – на 8,89 %, ясен – на 10,41 %. В епітеліальному шарі зростала кількість пошкоджених епітеліоцитів. Серед клітин остеоподібного шару кількість пошкоджених епітеліоцитів у ділянці губи переважала контрольні дані у 1,81 раза, щоки в 1,76 раза, а ясен – в 1,86 раза. На даний термін механічної жовтяниці питома вага щільності капілярного русла у всіх топографічних ділянках слизової оболонки була з високим рівнем значущості меншою від контролю ($p < 0,001$).

Отже, при тижневій механічній жовтяниці у патогенезі морфологічних змін слизової оболонки рота чітко можна виділити гемодинамічний фактор, який супроводжується інфільтративно-набряковими явищами, порушенням кровопостачання, що призводило до зменшення товщини епітеліального шару та слизової оболонки в цілому.

При двотижневій експериментальній механічній жовтяниці на тлі вираженої холемії ступінь морфологічних змін слизової оболонки порожнини рота збільшувався. Морфометричними вимірами встановлено зменшення товщини як епітеліального шару, так і власної пластинки слизової оболонки. Якщо при тижневому холестазі товщина власної пластинки переважала контрольні дані, то при двотижневій жовтяниці вона була меншою контролю у ділянці губи на 12,96 % ($p < 0,01$), щоки – на 21,92 % ($p < 0,01$), ясен – на 8,33 % ($p < 0,05$). Як видно з таблиці 1, інтенсивність стоншення епітеліального шару переважала зменшення товщини власної пластинки у ділянці губ на 18,31 %, щоки – на 8,25 %, ясен – на 22,83 %. На даний термін механічної жовтяниці мало місце достовірне зменшення товщини базальної мембрани у всіх ділянках ($p < 0,001$). Питома вага ушкоджених епітеліоцитів шипуватого шару в ділянці ясен була найбільш вираженою і становила ($21,32 \pm 1,42$) %, що переважало аналогічні параметри в інтактних тварин у 2,53 раза ($p < 0,001$). Відносний об'єм капілярів у ділянці ясен становив ($4,05 \pm 0,21$) % при контролі ($6,84 \pm 0,16$) % ($p < 0,001$) і засвідчував найбільші морфометричні зміни даного параметра порівняно з іншими топографічними ділянками. Слід зауважити, що у тварин даної експериментальної групи встановлено прямий сильний кореляційний зв'язок між товщиною слизової оболонки та епітеліального шару, а також зворотного напрямку середньої сили кореляційний зв'язок між відносним об'ємом капілярів та питомою вагою ушкоджених епітеліоцитів шипуватого шару.

Морфологічно у власній пластинці слизової оболонки, підслизовій основі ділянки губ та щоки встановлено збільшення лімфогістіоцитарної інфільтрації (рис. 2).

Зустрічалися ділянки гіперплазії лімфоїдного апарату з проліферацією лімфоцитів і появою у запальному інфільтраті плазматичних клітин, а також виражені зміни склероатрофічного характеру у вигляді місцевого фіброзу з дрібними зонами гіалінозу.

Отримані результати дають можливість твердити, що при двотижневій механічній жовтяниці виявляються всі складові, які визначають ознаки атрофії слизової оболонки порожнини рота.

Місячна тривалість експериментальної обтураційної жовтяниці сприяла розвитку, поряд із дистрофічними та атрофічними процесами, явищ, які характеризувалися розростанням сполучної тканини, та фіброзних змін. При цьому у власній пластинці слизової оболонки зростала кількість колагенових волокон, відбувалося значне її стоншення. Базальна мембрана зменшувала свою звивистість, вирівнювалася, іноді нечітко контурувалася. Відбувалося згладжування сосочків та спрощення рель-

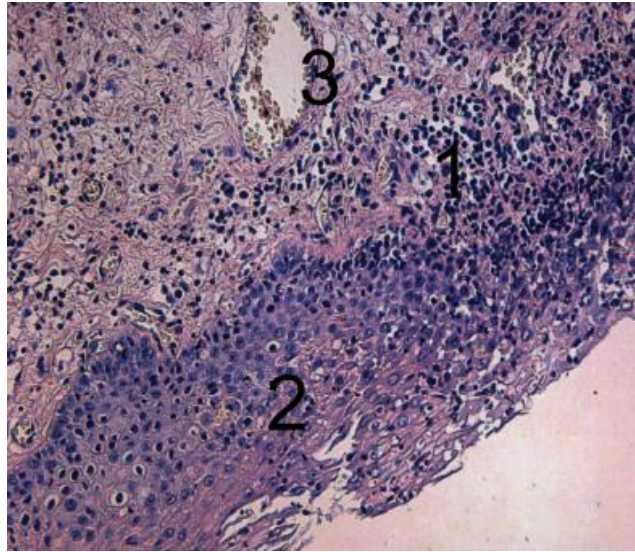


Рис. 2. Слизова оболонка щоки на 14-ту добу механічної жовтяниці. 1 – виражена лімфогістіоцитарна інфільтрація власної пластинки слизової оболонки; 2 – атрофія епітеліального шару; 3 – розширена венула підслизової основи. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 140$.

єфу епітеліально-сполучнотканинного відношення. Товщина слизової оболонки у ділянці щоки та губ вирівнювалася і перебувала в межах ($324,57 \pm 7,21$) – ($329,61 \pm 6,54$) мкм, що було значно менше контрольних величин ($p < 0,001$). Атрофічні зміни слизової оболонки були пов'язані в основному із зменшенням товщини епітеліального шару. Останні характеристики пов'язані із зменшенням кількості рядів клітин остеоподібного та зернистого шарів, а також зростанням кількості ушкоджених шипуватих клітин, внаслідок чого знижувалися їхні камбіальні властивості.

Таким чином, при місячній експериментальній механічній жовтяниці у слизовій оболонці порожнини рота настають атрофічні зміни, які найбільш виражені в ділянці ясен.

Висновки. 1. При механічній жовтяниці у слизовій оболонці порожнини рота розвиваються дистрофічні та деструктивні зміни, які призводять до атрофії слизової оболонки. Найбільш виражені атрофічні зміни настають у слизовій оболонці ясен.

2. При атрофії слизової оболонки внаслідок місячної холемії товщина епітеліального шару в ділянці губ зменшується на 38,21 %, щоки – на 43,25 %, ясен – на 45,51 %.

3. У динаміці механічної жовтяниці в слизовій оболонці порожнини рота відбувається зростання питомої ваги пошкоджених епітеліоцитів остеоподібного шару та зменшення у власній пластинці і підслизовій основі відносного об'єму капілярів.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є проведення експериментальних досліджень щодо розробки способів коригувальних

впливів, які запобігатимуть розвитку атрофічних змін слизової оболонки порожнини рота при холемічних станах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.
2. Быков В. Л. Иммунокомпетентные клетки десны человека в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта / В. Л. Быков // Архив пат. – 2005. – Т. 67, № 2. – С. 51–55.
3. Бородай Н. В. Морфофункціональні особливості слизової оболонки порожнини рота та зміни в ній при різних патологічних процесах / Н. В. Бородай // Лабораторна діагностика. – 2001. – № 1. – С. 49–55.
4. Шульгай А. Г. Морфометричні особливості ремодельовання структур привушної слинної залози при механічній жовтяниці / А. Г. Шульгай, М. О. Левків // Шпитальна хірургія. – 2012. – Т. 57, № 1. – С. 39–43.
5. Шумский А. В. Иммунопатогенетический подход в лечении воспалительных заболеваний полости рта / А. В. Шумский // Пародонтология. – 2005. – Т. 37, № 4. – С. 36–38.
6. Oral infections as predictors of mortality / P. Hamalainen, J. H. Meurman, M. Kauppinen, M. Keskinen // Gerodontology. – 2005. – Vol. 22, № 3. – P. 151–157.
7. Haseus B. Langerhans cells from human oral epithelium are more effective at stimulating allogeneic T cells in vitro than Langerhans cells from skin / B. Haseus, M. Jontell, G. Bergenholz Dahlgren U.I. // Clin. Exp. Immunol. – 2004. – Vol. 136, № 3. – P. 483–489.
8. Periodontal disease in the oldest-old living in Kungsholmen, Sweden: findings from the KEOHSproject / P. Holm-Pedersen, S. L. Russell, K. Avlund [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2006. – Vol. 33, № 6. – P. 376–384.
9. Lombardi T. Langerhans cells: structure, function and role in oral pathological conditions / T. Lombardi, C. Hauser, E. Budtz-Jorgensen // J. Oral. Pathol. Med. – 1993. – Vol. 22, № 5. – P. 193–202.

Отримано 23.07.13