

УДК 616.831. – 018 - 053

А. А. Галагдина
С. С. Ткачук

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ КАРОТИДНОЮ ІШЕМІЄЮ- РЕПЕРФУЗІЄЮ

Ключові слова: цукровий діабет, каротидна ішемія-реперфузія, слизова порожнини рота, морфологія.

Резюме. Досліджено гістологічні зміни в слизовій щоки та ясен контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом, які виникають під впливом каротидної ішемії-реперфузії. Встановлено, що цукровий діабет та каротидна ішемія-реперфузія спричиняють реорганізацію епітеліальної пластинки, набрякові явища сполучної тканини власної пластинки слизової, судинні розлади. Найсуттєвіші деструктивні зміни мають місце при моделюванні ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету.

Вступ

Порушення гомеостазу в порожнині рота при цукровому діабеті (ЦД), пов'язане з розвитком мікроангіопатій та підвищеним умістом глюкози в змішаній слині [1-3], призводить до змін морфологічної структури слизової внаслідок зниження її репаративних можливостей [4-8]. Гіперглікемія та нестабільність вмісту глюкози в крові протягом доби спричиняють порушення салівації [1, 3]. Це, у свою чергу, створює сприятливі умови для розвитку дисбактеріозу в порожнині рота з активацією пародонтопатогенної і грибової мікрофлори [8-10], що поглиблює патологічні зміни слизової [7, 8, 11]. Зрозуміло, що будь-який чинник, здатний посилювати розлади мікроциркуляції, притаманні хворим на ЦД, є особливо небезпечним. Тому логічно очікувати, що порушення кровообігу в басейні сонних артерій, які є джерелом кровопостачання тканин ротової порожнини, може поглиблювати патологічні зміни, що мають місце при ЦД, як унаслідок безпосереднього впливу на процеси мікроциркуляції, так і за рахунок впливу на центральні механізми регуляції гемодинаміки унаслідок формування ішемії мозку [13].

Мета дослідження

Вивчити гістологічний стан слизової щоки та ясен щурів із чотиримісячним цукровим діабетом, ускладненим каротидною ішемією-реперфузією.

Матеріал і методи

ЦД моделювали однократним внутрішньочеревним уведенням стрептозоточину (Sigma, США, 60 мг/кг маси тіла) двомісячним щурам [12]. У дослід брали щурів із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л. Тривалість діабету – чотири місяці. У шестимісячних щурів контрольної групи та тварин із ЦД здійснювали 20-хвилинну оклюзію обох

сонних артерій, після чого кровотік відновлювали [13]. Тварин виводили з експерименту на 12 добу постішемічного періоду. Після декапітації під каліпсоловим наркозом забирали ділянки слизової щоки та ясен, фіксували їх в 10% розчині нейтрального формаліну. Після відповідної гістологічної проводки взірці заливали в парафін, робили гістологічні зрізи товщиною 10-15 мкм, зафарбовували їх гематоксиліном і еозином і за допомогою світлооптичного мікроскопа Биолам Ломо С11 вивчали гістологічну будову слизової та компонентів її судинного русла.

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Обговорення результатів дослідження

Гістологічна картина слизової порожнини рота інтактних білих щурів представлена на рис. 1,2. Поверхня слизової оболонки щоки вистелена багат шаровим плоским незроговілим, місцями – зроговілим епітелієм. Епітеліоцити остистого шару мають невеликі вирости, які надають клітинам «шипуватої» форми, клітини зернистого шару розташовані несучільно. В епітеліальній вистилці слизової блискучий шар відсутній. По серединній лінії щоки зроговілі кератиноцити формують інтенсивно оксифільний шар зі специфічними ворсинками слизової у вигляді «перлин» (рис. 1).

Слизова оболонка ясен інтактних щурів вистелена багат шаровим плоским зроговілим епітелієм, що є їх характерною видовою відмінністю. Смушка зроговілого шару місцями витончена,

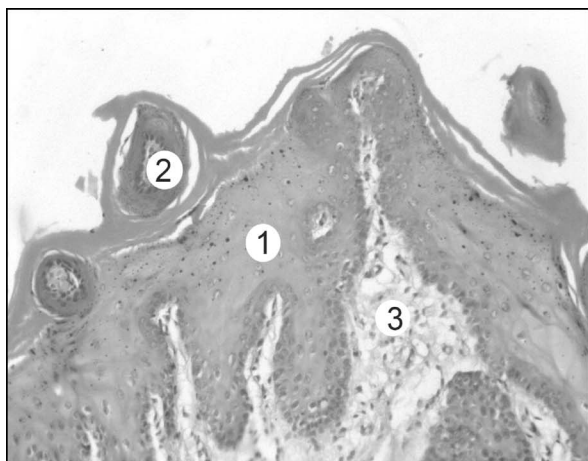


Рис. 1. Гістологічний стан слизової оболонки щоки щура в нормі. Епітелій (1), «перлини» (2), власна пластинка слизової оболонки (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином 3б. 100^x

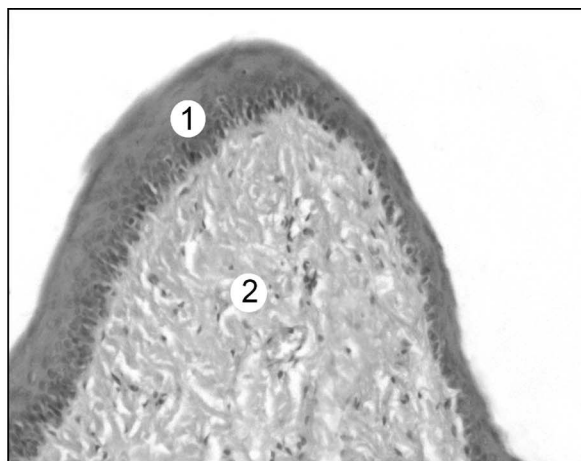


Рис. 2. Гістологічний стан ясен щура в нормі. Епітеліальна пластинка (1) та сполучна тканина (2) слизової оболонки. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 3б. 100^x

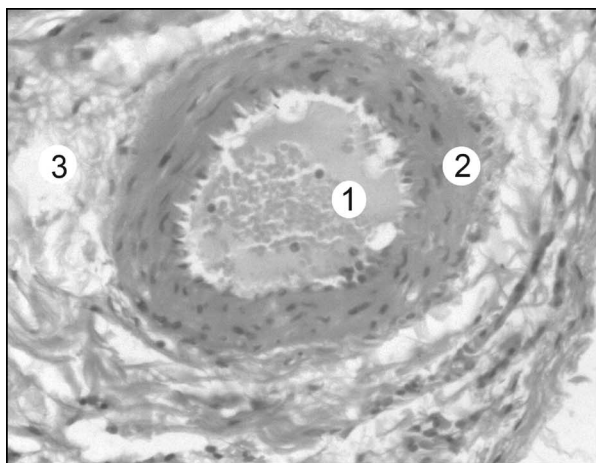


Рис. 3. Гістологічний стан артерії щоки щура в нормі. Просвіт (1), стінка артерії (2), периваскулярна сполучна тканина (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. 3б. 400^x

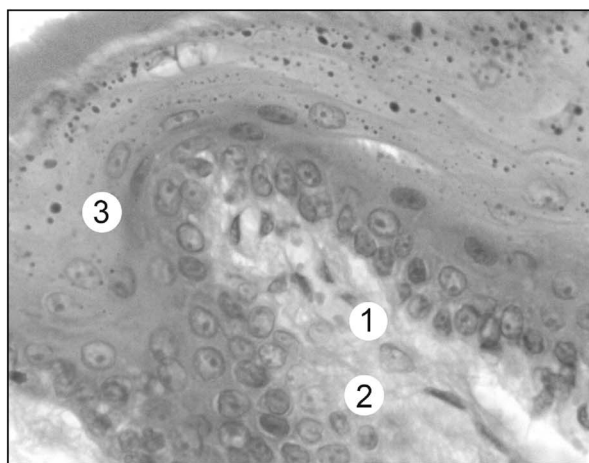


Рис. 4. Гістологічний стан слизової щоки в нормі. Кровоносний капіляр (1) сполучнотканинного сосочка (2) інвагує в епітеліальну пластинку (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. 3б. 800^x

подекуди – відшаровується. Нижче розташовані клітини остистого і базального шарів. Сполучна тканина слизової оболонки ясен складається з пучків оксифільних колагенових волокон, світлих ділянок аморфного компоненту та базофільно зафарбованих сполучнотканинних клітин (рис. 2).

Стінка артерій слизової чітко сформована трьома оболонками: внутрішньою, середньою, зовнішньою. Внутрішня представлена суцільним шаром плоских ендотеліальних клітин і вузьким підендотеліальним сполучнотканинним шаром. Ендотеліальна смужка подекуди звивиста і утворює випинання в просвіт артерії. Середня оболонка утворена циркулярно розміщеними гладкими м'язами з подовгуватими ядрами. Зовнішня (адвентиційна) оболонка складається з пухкої сполучної тканини. Просвіт судин помірний, у них наявні еритроцити (рис. 3). Вени мають широкі

кровонаповнені просвіти, їх стінка тонша за рахунок слабо розвиненої середньої оболонки. Кровоносні капіляри з вузькими просвітами, близько розташовані до епітеліальної пластинки, а в слизовій оболонці щік заходять у сосочки. Стінку гемокapілярів складають плоскі ендотеліальні клітини, що лежать на базальній мембрані (рис. 4).

У тварин із ЦД епітеліальна пластинка слизової щоки потовщена, наявні епітеліоцити з набряклою цитоплазмою і пікнотично зміненими базофільними ядрами в базальному і остистому шарах, із просвітленою парануклеарною зоною цитоплазми (рис. 5). Потовщений зроговілий шар суцільним пластом вкриває поверхню слизової оболонки. Ворсинки серединної лінії щоки утворені виростами слизової і заповнені набряклою сполучною тканиною.

Епітеліальна пластинка слизової оболонки вільної поверхні ясен при ЦД утворена багатоша-

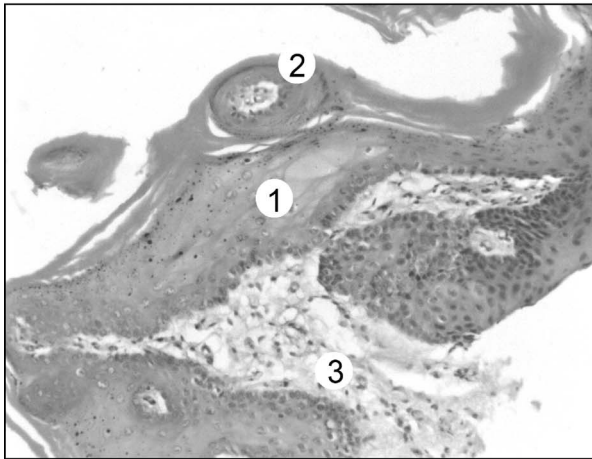


Рис. 5. Гістологічний стан слизової оболонки щоки щура при цукровому діабеті. Потовщений епітелій (1), «перлина» щоки (2), набрякла власна пластинка (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200^x

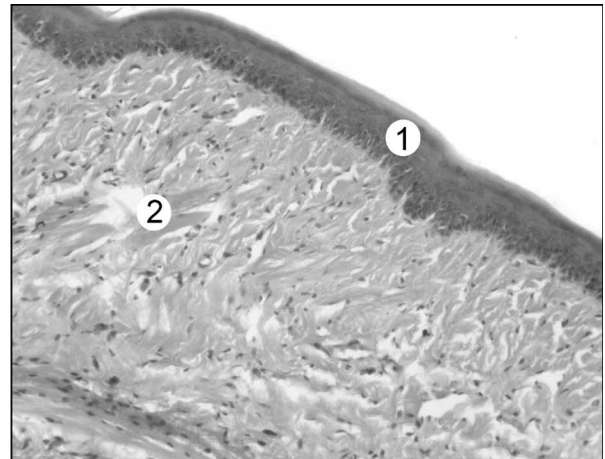


Рис. 6. Гістологічний стан вільної ділянки ясен щура при цукровому діабеті. Епітеліальна пластинка (1), набрякла сполучна тканина (2). Забарвлення гематоксиліном-еозином. Зб. 200^x

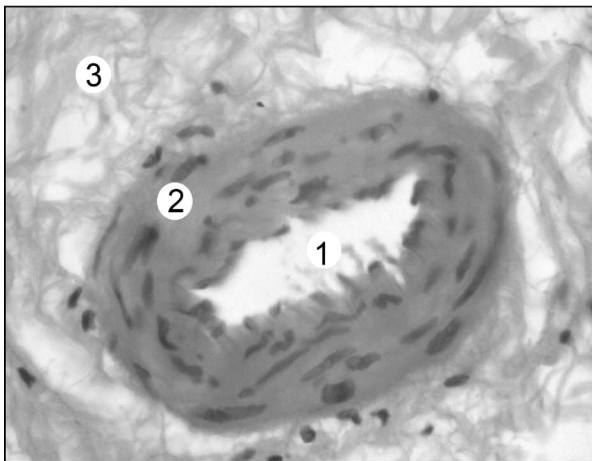


Рис. 7. Артерія слизової оболонки щоки щура при цукровому діабеті. Звужений просвіт (1), перескорочені гладкі міоцити (2), набрякла адвентиція (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 400^x

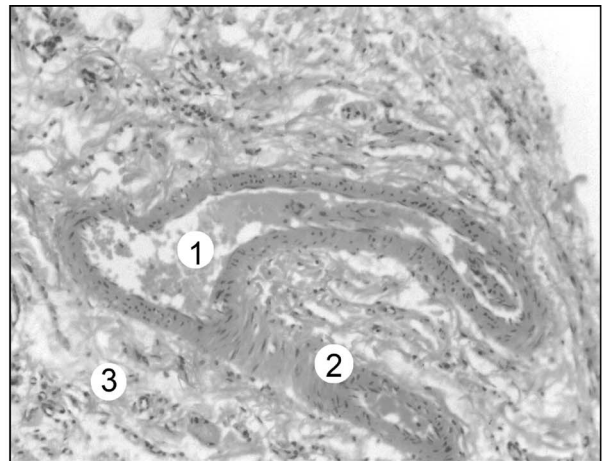


Рис. 8. Гістологічний стан ясен при цукровому діабеті. Просвіт артерії заповнений еритроцитами (1), гладкі міоцити перескорочені (2), набрякла сполучна тканина (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200^x

ровим плоским епітелієм із помірним зроговінням. Між епітеліоцитами – розширені міжклітинні простори. Частина ядер епітеліальних клітин базального і остистого шарів інтенсивно базофільні, пікнотично змінені, з переважанням гетерохроматину. Інтенсивно оксифільно забарвлені колагенові волокна сполучної тканини ущільнені, між їх пучками наявні світлі, неправильної форми ділянки аморфного компоненту, що свідчить про набряк. Спостерігаються базофільно забарвлені сполучнотканинні клітини (рис. 6).

При ЦД просвіти артерій щоки звужені, ясен – нерівномірні, з ділянками розширення і звуження, заповнені аглютинованими форменими елементами крові. Ендотеліоцити мають несучільне хвилясте розташування, окремі – утворюють значні випинання в просвіт артерій. Частина гладких міоцитів середньої оболонки перебувають в перескороченому

стані, їх ядра інтенсивно базофільні. Адвентиційна оболонка і периваскулярна ділянка утворені набряклою сполучною тканиною (рис. 7, 8).

Для вен щоки і ясен при ЦД характерні розширені, кровонаповнені просвіти та витончена стінка, периваскулярний набряк.

Просвіти капілярів слизової оболонки щік і ясен розширені, зі скупченнями еритроцитів. Ендотеліоцити їх стінки переважно подовгуватої форми, з вузькими цитоплазматичними ділянками, частина – з пікнотичними базофільними ядрами та набряклою цитоплазмою.

При каротидній ішемії для багатошарового плоского епітелію слизової оболонки щоки характерні ознаки підвищеної кератинізації. Суцільний зроговілий шар потовщений і щільно прилягає до зернистого шару епітеліальної пластинки. Епідермоцити остистого шару ущільнені, міжклітинний простір розширений. Ядра більшості

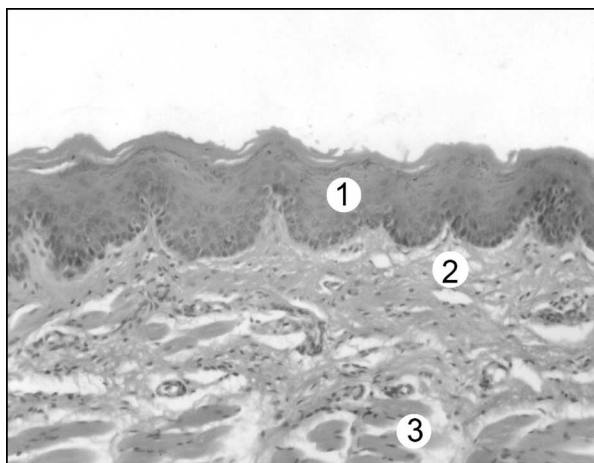


Рис. 9. Мікроскопічні зміни шоки шура при каротидній ішемії. Багатoshаровий епітелій із потовщеним зроговілим шаром (1), набрякла власна пластинка (2), ущільнені м'язові волокна (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200^x
клітин інтенсивно базофільно забарвлені, з переважан-

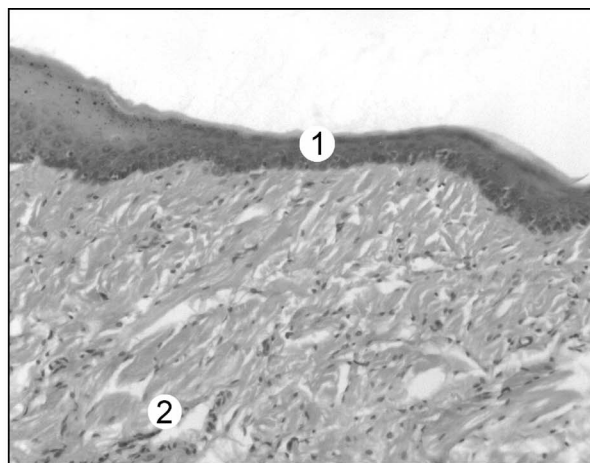


Рис. 10. Гістологічний стан слизової оболонки ясен тварини при каротидній ішемії. Ущільнена ділянка епітеліальної пластинки (1), набрякла сполучна тканина (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200^x

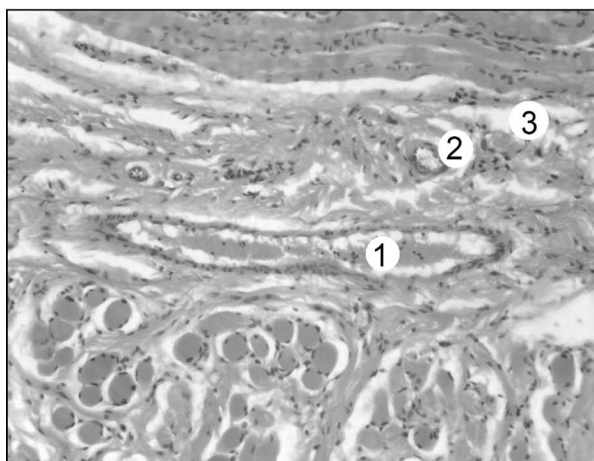


Рис. 11. Гістологічні зміни судин слизової оболонки шоки при каротидній ішемії. Артерія (1), артеріола (2), венула (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200^x

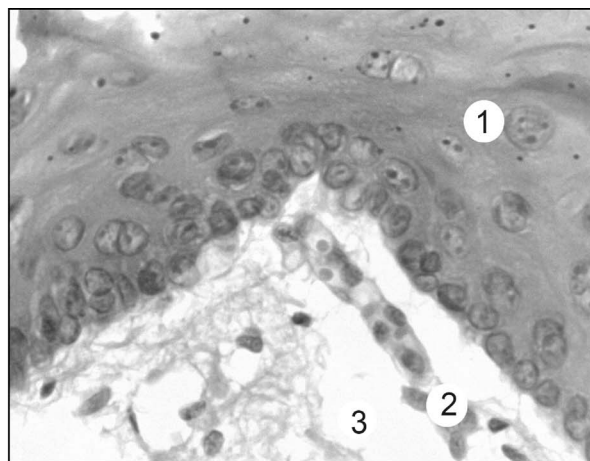


Рис. 12. Гістологічні зміни слизової шоки при каротидній ішемії. Епітеліальна пластинка (1), вузький просвіт капіляра (2), набрякла сполучна тканина (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 800^x

ням гетерохроматину в каріоплазмі. Частина епідермоцитів базального шару також мають подібні зміни (рис. 9). У слизовій ясен тварин даної групи виявлено потовщення зроговілого шару багатoshарового епітелію, зменшення розмірів, ущільнення епідермоцитів зернистого і остистого шарів, їх ядра пікнотичні, інтенсивно базофільні з переважанням гетерохроматину (рис. 10).

Виявлено набряк сполучнотканинної пластинки слизової оболонки та периваскулярний набряк судин власної пластинки слизової оболонки. М'язова оболонка містить ущільнені м'язові волокна, з підвищеною оксифілією саркоплазми, навколо волокон – набрякла сполучна тканина.

Просвіт артеріол звужений, заповнений форменими елементами крові і фіброзними структурами. Ендотеліоцити формують хвилясту суціль-

ну смужку, а місцями утворюють специфічні скупчення. Зменшення розмірів гладких міоцитів з округлими ядрами середньої оболонки зумовлене перескороченням їх міофібрил. Найвний периваскулярний набряк (рис. 11). Просвіти артерій і артеріол кровонаповнені, з ділянками розширення і звуження, наявні аглютиновані формени елементи крові. Ендотеліоцити місцями пошкоджені і мають хвилясте розташування. Набряклі клітини формують значні вип'ячування в просвіт судини, містять пікнотично змінені інтенсивно базофільні ядра. У середній оболонці розташовані перескорочені гладкі міоцити з інтенсивно оксифільною цитоплазмою та пікнотичними, базофільними ядрами. Потовщена адвентиційна оболонка зливається з периваскулярною сполучнотканинною ділян-

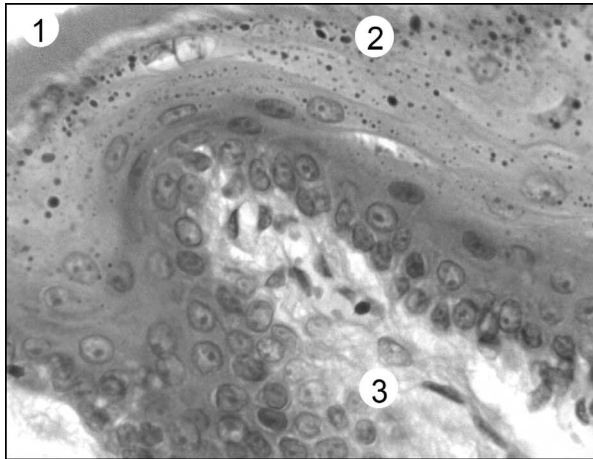


Рис. 13. Гістологічні зміни слизової оболонки щоки при цукровому діабеті та каротидній ішемії. Роговий шар (1), базофільні гранули кератогіаліну (2), сосочок власної пластинки (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 800^x

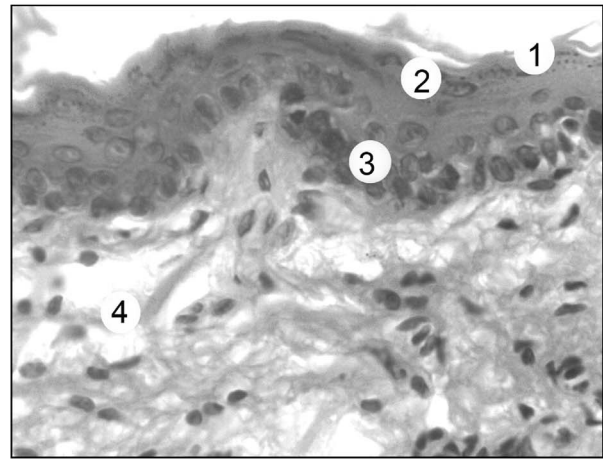


Рис. 14. Гістологічні зміни ясен при цукровому діабеті та каротидній ішемії. Роговий шар (1), епітеліоцити рогового (2) і базального (3) шарів, набрякла сполучна тканина (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 400^x

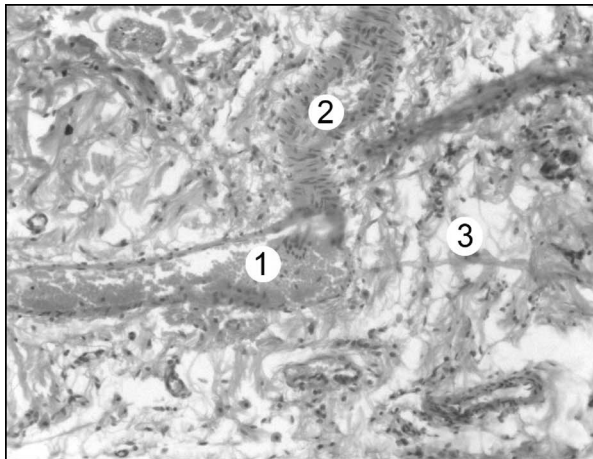


Рис. 15. Гістологічні зміни слизової оболонки щоки при ускладненні цукрового діабету каротидною ішемією. Просвіт артерії з форменими елементами (1), перескорочені гладкі міоцити середньої оболонки (2), артеріола (3), набряк сполучної тканини (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 200^x

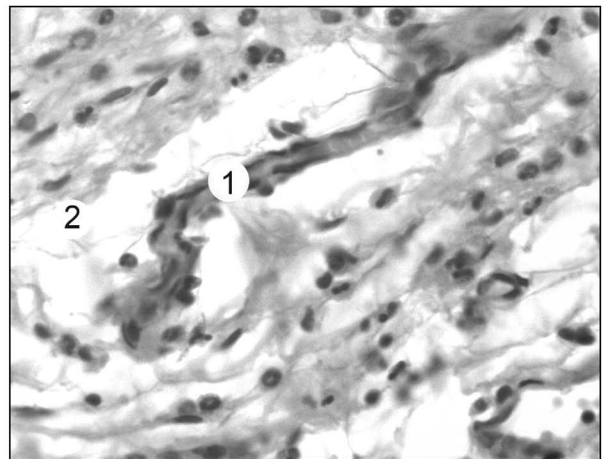


Рис. 16. Гістологічні зміни слизової оболонки щоки при ускладненні цукрового діабету каротидною ішемією. Вузький просвіт гемокапіляра (1), набрякла сполучна тканина (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. 400^x

кою, утвореною набряклом міжклітинною речовиною і лізованими волокнистими структурами. Вени і венули мають широкі кровонаповнені просвіти, тонку стінку, вистелену плоскими ендотеліоцитами, частина з них має набряклу цитоплазму та пікнотичні ядра. Просвіти кровонесних капілярів також нерівномірні. Розширені, кровонаповнені ділянки мають тонку стінку, в місцях звуження гемокапілярів ендотеліоцити збільшені, з набряклом цитоплазмою (рис. 12).

У шурів після моделювання каротидної ішемії на тлі ЦД багат шаровий епітелій слизової оболонки щоки з ознаками підвищеного зроговіння (рис. 13). На окремих ділянках епітеліальної пластинки суттєво пошкодження епітеліоцитів. Клітини остистого

шару мають пікнотичні ядра, набряклу світлу цитоплазму. У базальному шарі наявні групи епідермоцитів із базофільними, пікнотичними ядрами. Сполучна тканина слизової утворена оксифільними колагеновими волокнами зі значними прошарками аморфного компонента міжклітинної речовини. Місцями спостерігається лімфоцитарна інфільтрація.

За умов даного експерименту суттєві деструктивні зміни виявлено також в яснах тварин. Епітеліальна пластинка слизової оболонки, особливо на вільній поверхні ясен, місцями ущільнена, на зубній поверхні – витончена (рис. 14). Роговий шар епітеліальної пластинки потовщений. Епітеліоцити остистого і, особливо, базального шарів зменшені, мають базофільні округлі і пікнотичні

ядра. Сполучна тканина включає ущільнені, оксифільні пучки колагенових волокон, між якими розташовані світлі ділянки аморфного компоненту.

Просвіти артерій та артеріол слизової оболонки широкі або вузькі, заповнені аглютинованими форменими елементами крові. Ендотеліальна вистилка внутрішньої оболонки судин несущільна, місцями пошкоджена. Окремі ендотеліоцити утворюють значні випинання в просвіт артерій, надаючи поверхні хвилястого вигляду. У середній оболонці (переважно артерій) спостерігається перекорочення гладких міоцитів, що потовщує стінку таких судин. Зовнішня оболонка також потовщена за рахунок набряку пухкої сполучної тканини, що її утворює (рис. 15). Для кровоносних капілярів характерні також вагомні зміни їх будови (рис. 16).

Кронаповнений просвіт заповнений форменими елементами крові. Смушка ендотеліоцитів несущільна, місцями пошкоджена. Їх набрякла цитоплазма містить інтенсивно базофільні ядра з переважанням гетеро хроматину. Для вен і венул характерні розширені кровонаповнені просвіти та витончена стінка. В її складі внутрішня оболонка включає пошкоджені ендотеліоцити з пікнотичними ядрами. Відмічається суттєвий набряк сполучної тканини зовнішньої оболонки.

Висновки

Як цукровий діабет, так і каротидна ішемія-реперфузія спричиняють глибокі зміни структурних компонентів слизової оболонки ротової порожнини з реорганізацією епітеліальної пластинки, судинними розладами, набряковими явищами сполучної тканини власної пластинки слизової. Каротидна ішемія-реперфузія у тварин із чотиримісячним цукровим діабетом поглиблює структурні зміни слизової та її кровоносного русла.

Перспективи подальших досліджень

Планується провести електронномікроскопічний аналіз змін структурних компонентів слизової оболонки ротової порожнини щурів за умов ЦД, ішемії-реперфузії головного мозку та поєднання цих експериментальних моделей.

Література. 1. Diabetes mellitus and oral mucosa alterations: prevalence and risk factors / A.S. Bastos, A.R. Leite, R. Spin-Neto, P.O. Nassar [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2011. – Vol.92, №1. – P. 100-105. 2. Изменение кислотно-основного равновесия в полости рта под влиянием местного лечения у больных пародонтитом и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа / Е. В. Битюкова, В.А. Румянцев, К.А. Коротеєв, Л.К. Есаян [и др.] // Стоматология для всех. – 2008. – № 3. – С. 10-14. 3. Морфофункціональні зміни стінок судин гемомікроциркуляторного русла на фоні діабетичних пародонтопатій (Огляд літератури) / Є.В.Пальтов, Ю.Я.Кривко, В.Б.Фік [та ін.] // Есперим. та клін. фізіол. та біохім. – 2008. – №2(42) – С.81-87. 4. Taylor G.W. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. Special Review in Periodontal Medicine / G.W. Taylor, W.S. Borgnakke // Oral Dis. – 2008. – Vol.14. – P.191-203. 5. Пальтов Є.В. Ультраструктурна організація м'яких тканин пародонту у білих щурів в нормі та динаміка їх змін

протягом перебігу стрептозоточиніндукованого експериментального цукрового діабету / Є.В. Пальтов, Ю.Я. Кривко // Світ мед. та біол. – 2006. – №3. – С. 35-44. 6. Стан мікроструктурної організації м'яких тканин пародонту у білих щурів в нормі та їх зміна на різних етапах перебігу експериментального стрептозоточинного цукрового діабету / Є.В. Пальтов, Ю.Я.Кривко, С.А.Ромашова [та ін.] // Вісник Сумського державного університету. – 2006. – №2 (86). – С. 36 – 43. 7. Jajam H.H. Evaluation of oral mucosa epithelium in type II diabetic patients by an exfoliative cytology method / H.H. Jajam, N. Mohtasham, A. Rangiani // J. Oral. Science. – 2008. – Vol.50, №3. – P. 335-340. 8. Shareef B.T. Qualitative and quantitative exfoliative cytology of normal oral mucosa in type 2 diabetic patients / B.T. Shareef, K.T. Ang, V.R. Naik // Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. – 2008. – Vol.13, №11. – P.693-696. 9. Ashraf F. F. Diabetes mellitus as a modulating factor of endodontic infections / F.F. Ashraf // J. Dental Educ. – 2003. – Vol.67, № 4. – 459-467. 10. Hydrolytic enzyme production is associated with *Candida albicans* biofilm formation from patients with type 1 diabetes / R.Rajendran, D.P.Robertson, P.J.Hodge, D.F.Lappin // Mycopathologia. – 2010. – Vol.170. – P.229-235. 11. Morphometric analysis and ultrastructure of the epithelium of the oral mucosa in diabetic autoimmune NOD mice / E.J. Caldeira, P.J. Garcia, E. Minatell, J.A. Camilli [et al.] // Braz. J. Morphol. Sci. – 2004; – Vol.21, №4. – P.197-205. 12. Ткачук С.С. Експресія білків Hif-1 α , p53 та Bcl-2 в головному мозку за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету в самців-щурів / С.С. Ткачук, О.М. Леньков // Клініч. та експерим. патол. – 2010. – Т. IX, №2(32). – С.111-113. 13. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н. Скибо // Патология. – 2004. – Т. I, №1. – С. 22-30.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРФУЗИЕЙ

А.А.Галагдина, С.С.Ткачук

Резюме. Исследованы гистологические изменения в слизистой оболочке щеки и десны контрольных крыс и крыс с сахарным диабетом, возникающие под влиянием каротидной ишемии-реперфузии. Показано, что сахарный диабет и каротидная ишемия-реперфузия приводят к структурной реорганизации эпителиальной пластинки, отеку соединительной ткани собственной пластинки слизистой, сосудистым расстройствам. Наиболее существенные деструктивные изменения имеют место при моделировании ишемии-реперфузии на фоне сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, слизистая оболочка рта, морфология.

HISTOLOGICAL CHANGES OF ORAL MUCOSA IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS COMPLICATED WITH CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION

А.А.Галагдина, С.С.Ткачук

Abstract. The histological changes in the cheeks and gums mucosa in control rats and animals with streptozotocin-induced diabetes mellitus, occurring under the influence of carotid ischemia-reperfusion have been investigated. It has been shown that diabetes mellitus and carotid ischemia-reperfusion lead to the restructuring of the epithelial plate, edema of the connective tissue of lamina propria and vascular disorders. The most significant destructive changes occur in the simulation of ischemia-reperfusion in diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, oral mucosa, morphology.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №1 (43). - P.55-60.

Надійшла до редакції 07.02.2013

Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький

© А.А. Галагдина, С.С.Ткачук, 2013